

## عنوان مقالات

- ۱۹۷ ..... بررسی پیش تیمارهای اتیل اولئات، کلرید سدیم و آنزیم پری بر خشک شدن تحت خلاء فلفل دلمه‌ای  
نسبیه علیرضالو - نارملا آصفی - پویا بارمان ویسی - هاله ثریای ظفر
- ۲۱۹ ..... اثر پلاسما ی غیر حرارتی بر بهبود ویژگی‌های عملکردی نشاسته سورگوم  
فاطمه شکرالهی - فخری شهیدی - محمدجواد وریدی - آرش کوچکی - فرشاد صحبت‌زاده
- ۲۳۳ ..... تهیه نانوذرات لیپوزومی حاوی اسانس کاکوتی و ارزیابی فعالیت ضد میکروبی آن  
نگین جعفریان - افشین آخوندزاده بستی - حمیده امتیازی
- ۲۴۹ ..... استفاده از فیبر بدست آمده از قفاله مالت جو به عنوان جایگزین چربی در تولید سس مایونز کم چرب  
امیر منصوری یاراحمدی - پیمان رجایی - سارا موحد
- شناسایی ترکیبات زیست فعال موجود در عصاره جلبک‌های قهوه‌ای سارگاسوم (*Sargassum angustifolium*)  
و پادینا (*Padina distromatic*) و بررسی اثرات ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و خواص آنزیمی آن‌ها  
خدیجه شیرانی بیدآبادی - شیلا صفاییان - رضوان موسوی ندوشن - ناهید رحیمی فرد
- ۲۸۱ ..... بررسی تأثیر دمای برشته کردن و زمان نگهداری دانه فندق بر رنگ و کیفیت خمیر آن  
سید حسین سید قوامی - آذین نصرالله زاده
- ۲۹۳ ..... اثر صمغ کتیرا و نشاسته گندم به عنوان جایگزین ژلاتین بر خصوصیات رئولوژیکی، فیزیکی و حسی دسر لبنی  
فاطمه یوسف‌زاده - مسعود تقی‌زاده
- جداسازی و تعیین ویژگی باکتریوسین حاصل از باکتری لاکتی پلانته باسیلوس پلانتاروم جدا شده از  
فراورده‌های تخمیری بر پایه میوه و مقایسه با نایسین تجاری  
۳۱۳ ..... مهسا نکته سنج اول - مرضیه حسینی نژاد - ابوالفضل پهلوانلو - حمید بهادر قدوسی
- ۳۳۵ ..... ارزیابی تأثیر تخمیر جوانه گندم با استفاده از مخمر و باکتری‌های اسید لاکتیک بر میزان ترکیبات زیست‌فعال  
الناز بیات اصل - مرضیه موسوی نسب - محبوبه فضایی
- بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی گوشت مرغ مزه‌دار شده با استفاده از روش‌های  
چندمتغیره متقارن و نامتقارن  
۳۵۱ ..... سیامک غیبی - امیر پورفرزاد - احد راستکار الهوردی زاده
- ۳۶۷ ..... بررسی تأثیر امواج فراصوت بر ویژگی‌های ساختاری، عملکردی و رئولوژیکی صمغ دانه خرنوب  
سمیرا فریزاده - هاجر عباسی
- ۳۸۵ ..... بررسی تأثیر اسید گالیک، متیل گالات و ترکیب آنها بر پایداری اکسایشی روغن طی فرآیند سرخ کردن  
مانده حسین‌خانی آبادچی - رضا فرهوش

# نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران

با شماره پروانه ۱۲۴/۸۴۷ و درجه علمی - پژوهشی شماره ۳/۱۱/۸۱۰ از وزارت علوم، تحقیقات و فناوری  
۸۸/۵/۱۰

خرداد - تیر ۱۴۰۲

شماره ۲

جلد ۱۹

درجه علمی - پژوهشی این نشریه طی نامه ۳/۱۱/۴۷۶۷۳ از وزارت علوم، تحقیقات و فناوری تا سال ۱۳۹۳ تمدید شده است.

۹۰/۴/۱۴

صاحب امتیاز:

دانشگاه فردوسی مشهد

مدیر مسئول:

دکتر ناصر شاهنوشی

سردبیر:

دکتر فریده طباطبایی

اعضای هیئت تحریریه:

دکتر سید علی مرتضوی

استاد، میکروبیولوژی و بیوتکنولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد

دکتر فخری شهیدی

استاد، میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

دکتر محمدباقر حبیبی نجفی

استاد، میکروبیولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد

دکتر مرتضی خمیری

دانشیار، میکروبیولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

دکتر سید محمد علی رضوی

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

دکتر رضا فرهوش

استاد، شیمی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

دکتر بی بی صدیقه فضلی بزاز

استاد، میکروبیولوژی، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

دکتر مهدی کاشانی نژاد

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

دکتر آرش کوچکی

استاد، تکنولوژی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

دکتر محبت محبی

استاد، مهندسی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد

دکتر بابک قنبرزاده

استاد، مهندسی مواد غذایی، دانشگاه تبریز

دکتر ایران عالمزاده

استاد، بیوتکنولوژی مواد غذایی، دانشگاه صنعتی شریف

دکتر قدیر رجبزاده اوغاز

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

دکتر مهیار حیدرپور

دانشیار، زیست مولکولی، دانشکده پزشکی هاروارد

دکتر حمید بهادر قدوسی

دانشیار، میکروبیولوژی غذایی، دانشگاه متروپولیتن لندن

دکتر کیانوش خسروی

استاد، بیوتکنولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

دکتر مرتضی عباسزادگان

استاد، ویروس شناسی، دانشگاه آریزونا

دکتر محمدامین محمدیفر

استاد، مهندسی مواد غذایی، دانشگاه دانمارک

دکتر منوچهر وثوقی

استاد، بیوتکنولوژی مواد غذایی، دانشگاه صنعتی شریف

دکتر هادی الماسی

دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

دکتر میلاد فتحی

دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه صنعتی اصفهان

دکتر سلیمان عباسی

استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تربیت مدرس

دکتر نونو بورخس

استاد، گروه علوم تغذیه و مواد غذایی، دانشگاه پورتو، پرتغال

ناشر: دانشگاه فردوسی مشهد

چاپ: چاپخانه دانشگاه فردوسی مشهد

نشانی: مشهد - کد پستی ۹۱۷۷۵ صندوق پستی ۱۱۶۳، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی - گروه علوم و صنایع غذایی - دفتر نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران. تلفن: ۲۰-۸۷۹۵۶۱۸ داخلی ۳۲۱ نمابر: ۸۷۸۷۴۳۰

این نشریه در پایگاههای زیر نمایه شده است:

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

ifstrj@um.ac.ir

پست الکترونیکی:

# بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

## مندرجات

- ۱۹۷ بررسی پیش تیمارهای اتیل اولئات، کلرید سدیم و آنزیم بری بر خشک شدن تحت خلاء فلفل دلمه‌ای  
نسبیه علیرضالو - نارملا آصفی - پویا بارمان ویسی - هاله ثریای ظفر
- ۲۱۹ اثر پلاسمای غیرحرارتی بر بهبود ویژگی‌های عملکردی نشاسته سورگوم  
فاطمه شکرالهی - فخری شهیدی - محمدجواد وریدی - آرش کوچکی - فرشاد صحبت‌زاده
- ۲۳۳ تهیه نانوذرات لیپوزومی حاوی اسانس کاکوتی و ارزیابی فعالیت ضد میکروبی آن  
نگین جعفریان - افشین آخوندزاده بستی - حمیده امتیازی
- ۲۴۹ استفاده از فیبر بدست آمده از تفاله مالت جو به عنوان جایگزین چربی در تولید سس مایونز کم چرب  
امیر منصوری یاراحمدی - پیمان رجایی - سارا موحد
- ۲۶۱ شناسایی ترکیبات زیست فعال موجود در عصاره جلبک‌های قهوه‌ای سارگاسوم (*Sargassum angustifolium*) و پادینا  
(*Padina distromatic*) و بررسی اثرات ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و خواص آنزیمی آن‌ها  
خدیدجه شیرانی بیدآبادی - شیدا صفاییان - رضوان موسوی ندوشن - ناهید رحیمی فرد
- ۲۸۱ بررسی تاثیر دمای برشته کردن و زمان نگهداری دانه فندق بر رنگ و کیفیت خمیر آن  
سید حسین سید قوامی - آذین نصرالله زاده
- ۲۹۳ اثر صمغ کتیرا و نشاسته گندم به عنوان جایگزین ژلاتین بر خصوصیات رئولوژیکی، فیزیکی و حسی دسر لبنی  
فاطمه یوسف‌زاده - مسعود تقی‌زاده
- ۳۱۳ جداسازی و تعیین ویژگی باکتریوسین حاصل از باکتری لاکتی پلانتی باسیلوس پلانتاروم جدا شده از فراورده‌های تخمیری بر پایه  
میوه و مقایسه با نایسین تجاری  
مهسا نکته سنج اول - مرضیه حسینی نژاد - ابوالفضل پهلوانلو - حمید بهادر قدوسی
- ۳۳۵ ارزیابی تأثیر تخمیر جوانه گندم با استفاده از مخمر و باکتری‌های اسید لاکتیک بر میزان ترکیبات زیست فعال  
الناز بیات اصل - مرضیه موسوی نسب - محبوبه فضایی
- ۳۵۱ بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی گوشت مرغ مزه‌دار شده با استفاده از روش‌های چندمتغیره متقارن و نامتقارن  
سیامک غیبی - امیر پورفرزاد - احد راستکار الهوردی زاده
- ۳۶۷ بررسی تأثیر امواج فراصوت بر ویژگی‌های ساختاری، عملکردی و رئولوژیکی صمغ دانه خرنوب  
سمیرا فریزاده - هاجر عباسی
- ۳۸۵ بررسی تأثیر اسید گالیک، متیل گالات و ترکیب آنها بر پایداری اکسایشی روغن طی فرآیند سرخ کردن  
مائه حسینیخانی آبادچی - رضا فروش



## Evaluation of Ethyl Oleate, Sodium Chloride and Blanching Pretreatments on Vacuum Drying of Sweet Pepper (*Capsicum annum*)

N. Alirezaloo<sup>1</sup>, N. Asefi<sup>2\*</sup>, P. Barman Veisi<sup>3</sup>, H. Soraiyay Zafar<sup>4</sup>

Received: 2021-05-02

Revised: 2021-06-07

Accepted: 2021-07-17

Available Online: 2021-09-15

### How to cite this article:

Alirezaloo, N., Asefi, N., Barman Veisi, P., & Soraiyay Zafar, H. (2023). Evaluation of ethyl oleate, sodium chloride and blanching pretreatments on vacuum drying of sweet pepper (*Capsicum annum*). *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 19(2), 195-216. (In Persian with English abstract).  
<http://doi.org/10.22067/ifstrj.2021.70205.1040>

### Introduction

Sweet Pepper (*Capsicum annum*) has a very important place among the vegetables produced in the world. Therefore, it is necessary to apply practical solutions to increase their sustainability to develop and improve production. The growing consumer rejection of chemical additives and the demand for more natural products have increased attention to some methods, including the drying method. One of the physical changes that occur during the drying of food is its reduction in volume. Vacuum drying is a method in which water and other solvents that have been absorbed into the volume or surface of the material are removed. Combining vacuum with heating can be an effective way to dry; because in this case, a high level of dryness can be achieved without the need for a large increase in temperature. A thermal process that is applied to vegetables and fruits as a pre-process step for freezing, drying and canning to inactivating enzymes, modifying texture, preserving flavor and nutrients, and extracting Interstitial air.

### Materials and Methods

This study aimed to investigate the impact of various factors ethyl oleate (concentrations 0,2,4%), sodium chloride (concentrations 0,2,4%) and blanching on the drying kinetics, physical properties, chemical composition and nutrients of green bell pepper, dried under vacuum at 60°C and pressure of 10 kpa using the response surface methodology. At the end of the drying time, 10 g of the treated samples were weighted to investigate the drying kinetics and the rest of the samples were kept for analysis. To achieve the drying kinetics, the samples were taken out of the oven (Behdad Company, model 3494, made in Iran) at 30 minute intervals and weighed by a digital scale, and dried down to moisture content of 12% ., and then for relevant analyzes on dried samples, the samples were stored in plastic packages until the day of experiments. Investigation of independent and interaction effects of immersion in different concentrations of sodium chloride and ethyl oleate solution on the kinetics and drying time separately in blanching and non-blanching samples on the parameters of color, chlorophyll content, phenolic substances and vitamin C remaining in dried Sweet peppers were evaluated using minitab16 software and response level method (RSM).

### Results and Discussion

The results showed that the drying process occur in the range of falling rate and also effect blanching in boiling water for 3 minutes and immersed in an alkaline solution of ethyl oleate and sodium chloride with concentrations of 2 and 4% for 1 minute, significantly increase the drying rate. In blanching and treated samples with 4% ethyl oleate and sodium chloride, the drying time was about 3.5 hours, while the control sample was dried under the same conditions for 7.5 hours.

1, 2, 3 and 4- M.Sc., Associate Professor and Ph.D. Students, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Tabriz branch, Tabriz, Iran, respectively.

(\*- Corresponding Author Email: [n.asefi@iaut.ac.ir](mailto:n.asefi@iaut.ac.ir))

DOI: [10.22067/ifstrj.2021.70205.1040](http://doi.org/10.22067/ifstrj.2021.70205.1040)



Pretreatment of samples, showed the chlorophyll content, phenolic compounds and vitamin C were higher than the control sample. Due to the effectiveness of ethyloleate in the protection of ascorbic acid, phenolic compounds and residual chlorophyll, the highest amount of ascorbic acid with a value of 39.77 was related to the samples treated in ethyloleate solution with a concentration of 4% and 4% NaCl and the minimum value of 17.98 was related to the control treatment. The highest amount of residual chlorophyll was 23.6 in the pretreated samples with a concentration of 4% ethyloleate and 4% NaCl and the lowest amount was related to the control sample with a concentration of 12.9%. The color of the dried samples showed that the lowest amount of color changes was related to the non-blanching sample with 4% ethyloleate and 4% NaCl with a value of 4.94. While the blanching and ethyloleate solution had no positive effect on the color of pepper and dried samples were dark. Comparison of blanching with non-blanching shows that blanching samples cause darkening of the primary color of the samples. The best sample in terms of quality and speed of drying, was belonged to the samples which blanched, treated with 4% solution of ethyloleate and sodium chloride.

## Conclusion

In order to achieve the best quality in vacuum drying of pepper samples, pretreatments of blanching and using a concentration of 4% solution of ethyloleate and sodium chloride showed the most desirable quality. The best quality of dried samples were obtained when subjected to constant temperature and pressure during drying conditions. The benefits obtained using the pretreatment of ethyloleate and sodium chloride as an appropriate method of drying include increasing the absorption of water, keeping the chlorophyll, phenolic compounds and vitamin C content with time-saving in drying.

**Keywords:** Blanching, Ethyl oleate, Response surface methodology, Sodium chloride, Sweet pepper (*Capsicum annum*), Vacuum drying

## مقاله پژوهشی

# بررسی پیش تیمارهای اتیل اولئات، کلرید سدیم و آنزیم‌بری بر خشک شدن خلاء فلفل دلمه‌ای

نسبیه علیرضالو<sup>۱</sup> - نارملا آصفی<sup>۲\*</sup> - پویا بارمان ویسی<sup>۳</sup> - هاله ثریای ظفر<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۱۲

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۳/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۲۶

## چکیده

فلفل دلمه‌ای جایگاه بسیار مهمی را در میان صیفی‌جات تولیدی در جهان به خود اختصاص داده است. بنابراین به کارگیری راهکارهای عملی برای افزایش ماندگاری آنها برای توسعه و بهبود تولید، ضروری به نظر می‌رسد. عدم‌پذیرش افزودنی‌های شیمیایی و تقاضا برای محصولات طبیعی‌تر، توجه به برخی روش‌ها از جمله روش خشک کردن را افزایش داده است. هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر فاکتورهای مختلف به عنوان پیش تیمار شامل آنزیم‌بری با سه روش، آب  $100^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳ دقیقه، اتیل اولئات (با غلظت‌های ۰، ۲ و ۴ درصد) به مدت ۳ دقیقه و عدم انجام آنزیم‌بری بر سینتیک خشک شدن، خواص فیزیکی، ترکیبات شیمیایی و مواد مغذی فلفل دلمه‌ای سبز، تحت خشک کردن در خلاء در دمای  $60^{\circ}\text{C}$  و فشار ۱۰ kpa با استفاده از روش سطح پاسخ است. نتایج نشان داد که کل فرآیند خشک شدن فلفل دلمه‌ای در محدوده سرعت نزولی بوده و همچنین اثر پیش تیمارهای آنزیم‌بری در آب  $100^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳ دقیقه و غوطه‌وری در محلول قلیایی اتیل اولئات و کلرید سدیم با غلظت‌های ۲ و ۴ درصد به مدت ۱ دقیقه، بطور قابل توجهی موجب افزایش سرعت خشک شدن شدند. نمونه‌های پیش تیمار شده، میزان کلروفیل، ترکیبات فنولی و ویتامین ث بیشتری را نسبت به نمونه کنترل نشان دادند. در حالیکه فرآیند آنزیم‌بری و محلول اتیل اولئات تأثیر مثبتی بر رنگ نمونه‌ها نداشته و موجب تیرگی نمونه‌های فلفل خشک شده گردیدند. مطلوب‌ترین نمونه از لحاظ حفظ کیفیت شامل بیشترین میزان کلروفیل، ترکیبات فنولی و ویتامین ث، مربوط به نمونه آنزیم‌بری شده، تیمار شده با غلظت ۴ درصد محلول اتیل اولئات و کلرید سدیم بود. بهره‌گیری از پیش تیمارهای اتیل اولئات و کلرید سدیم را به عنوان روشی مناسب قبل از عمل خشک کردن با مزایایی از جمله حفظ میزان کلروفیل، ترکیبات فنولی و ویتامین ث با صرفه‌جویی در زمان خشک کردن را به اثبات می‌رساند.

**واژه‌های کلیدی:** آنزیم‌بری، اتیل اولئات، خشک کردن تحت خلاء، روش سطح پاسخ، فلفل دلمه‌ای، کلرید سدیم

## مقدمه

(Perucka, 2005). فلفل دلمه‌ای همچنین گیاهی سرشار از فیبر، پروتئین و آهن می‌باشد. فیبر در غذاهای گیاهی مانند میوه‌ها، سبزی‌ها، غلات کامل و حبوبات یافت می‌شود و بدن برخلاف پروتئین، کربوهیدرات و چربی نمی‌تواند آن را هضم کند و در دستگاه گوارش با اتصال به چربی‌ها و افزایش دفع آن‌ها، موجب کاهش فشارخون و کلسترول خون می‌گردد (Materska and Perucka, 2005). فلفل

فلفل دلمه‌ای گیاهی است از خانواده Solanaseae با نام علمی *Capsicum annum* که از صیفی‌جات فصل گرم می‌باشد. فلفل دلمه‌ای سرشار از ویتامین‌های گروه ب مانند تیامین، ریبوفلاوین و ب۶ و ویتامین C و E، پروویتامین A و کارتنوئیدها است که ویتامین‌های مؤثر در تبدیل مواد غذایی به انرژی می‌باشند (Materska and

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار و دانشجویان دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران

(\*) - نویسنده مسئول (Email: n.asefi@iaut.ac.ir)

آید که انقباض شبکه، چروکیدگی، تغییر شکل و گاهی ترک‌هایی را در سطح محصول همراه دارد. به همین دلیل خشک کردن تحت خلاء، چروکیدگی کمتری را باعث می‌شود (Lee and Kim, 2009).

خشک کردن در خلاء روشی است که در آن آب و دیگر حلال‌هایی که درون حجم یا سطح ماده جذب شده‌اند، زدوده می‌شوند. مایعی که قرار است حذف شود می‌تواند بخشی از طبیعت خود ماده باشد، از عملیات قبلی در آن باقی مانده باشد، یا در زمان حل کردن، ترکیب کردن و یا وارد کردن یک ماده شیمیایی در بخشی از فرآیند کلی وارد قطعه مورد نظر شده باشد (Arévalo-Pinedo and Xidieh Murr, 2007). فرآیند خشک کردن تحت خلاء اغلب دارای چندین مرحله اعمال گرمایش یا خلاء می‌باشد. کاهش فشار (اعمال خلاء) در سطح یک مایع مانند آب، امکان تبخیر مایع را بدون بالا بردن دما می‌دهد، تبخیر مایع تا جایی ادامه می‌یابد که قطعه کاملاً خشک شود یا گرمای کافی در طول تبخیر زدوده شود تا مایع باقی‌مانده منجمد شود؛ در این نقطه، فرآیند خشک کردن به شکل تصعید ادامه می‌یابد (Lee and Kim, 2009). اغلب از خلاء به عنوان فرآیندی برای حذف بخارات آب و دیگر حلال‌هایی که جذب سطح و حجم ماده شده است، استفاده می‌شود. خلاء به همراه گرمایش می‌تواند روش مؤثری برای خشک کردن باشد؛ زیرا در این حالت سطح بالایی از خشکی بدون نیاز به افزایش زیاد دما قابل دستیابی خواهد بود. به این ترتیب می‌توان مواد حساس به دماهای بالا را در مدت زمان کوتاهی به خوبی خشک کرد (Balzarini et al., 2018). خشک کردن تحت خلاء می‌تواند مانع از اکسید شدن مواد حساسی شود که در معرض هوا امکان اکسید شدن آنها وجود دارد. خشک کردن تحت خلاء هم چنین می‌تواند حلال‌هایی را که از ماده زدوده شده است را در صورت لزوم بازیابی کند (Demiray and Çalışkan Koç, 2021).

یکی از روش‌های آنزیم‌بری روش حرارتی است که بر روی سبزیجات و میوه‌ها به عنوان یک پیش فرایند قبل از انجماد، خشک کردن و کنسرو کردن با اهداف غیرفعال‌سازی آنزیم‌ها، اصلاح بافت، حفظ رنگ طعم و مواد مغذی و خارج ساختن هوای میان بافتی اعمال می‌شود. در این عمل علاوه بر آنزیم‌ها تعدادی زیادی از میکروارگانیسم‌های سطحی نیز از بین می‌روند. مارزوک و همکاران (Marzuki et al., 2021). سینتیک خشک کردن و کیفیت گوشت سیب‌زمینی شیرین بنفش (PFSP) در معرض خشک کردن با میکروویو تحت خلاء (سطوح مختلف توان، ۴۵۰، ۶۰۰ و ۸۵۰ وات) را مورد بررسی قرار دادند، آنها اثرات پیش‌تیمار آب داغ و بخار را بر ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی محصولات خشک شده نیز در نظر گرفتند و همچنین برای مقایسه از خشک کردن با هوای گرم با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد را انجام دادند، نتایج نشان داد که زمان خشک شدن PFSP

دلماه‌ای قرمز ۵۵ تا ۷۵ درصد نیاز روزانه بدن به مواد مغذی مورد نیاز در سلامت استخوان را تأمین می‌نماید. این مسئله به دلیل دارا بودن مقادیر فراوانی از ریزمغذی‌هایی چون: کلسیم، آهن، منیزیم، فسفر، پتاسیم و روی می‌باشد که همگی، از مواد مغذی مورد نیاز در استحکام و حفظ بافت استخوانی می‌باشند (Orikasa et al., 2018). از آنجا که بیشتر محصولات کشاورزی زمان رسیدگی و برداشت مشخص و ماندگاری محدودی دارند، و بعد از برداشت در اثر فعالیت میکروبی و واکنش‌های بیوشیمیایی به سرعت فاسد می‌شوند، بنابراین بایستی پس از برداشت تدبیری برای افزایش عمر انبارمانی یافته شود. کنسرو کردن، انجماد و خشک کردن از جمله روش‌های پرکاربردی هستند، که در مقیاس وسیع صنعتی بکار می‌روند. عدم پذیرش افزودنی‌های شیمیایی و تقاضا برای محصولات طبیعی‌تر، توجه به برخی از روش‌ها از جمله روش خشک کردن را افزایش داده است.

خشک کردن به روش جریان هوای گرم متداول‌ترین روشی است که در سطح تجاری و بصورت گسترده برای انواع سبزیجات و میوه‌ها بکار می‌رود، در طول خشک کردن با هوای داغ مقدار فروپاشی سلولی با مقدار افت رطوبت در طول فرآیند متناسب است، از این رو پارامترهای کیفی مانند طعم، رنگ، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و سرعت باز جذب آب تحت تأثیر قرار گرفته و کاهش می‌یابند. همچنین به دلیل اتلاف زیاد انرژی حرارتی، بالا بودن مدت زمان عملیات با هوای گرم، روش‌هایی که با حداقل هزینه حداکثر کیفیت محصول را نگهداری کنند، حائز اهمیت می‌باشند. از جمله این روش‌ها می‌توان به خشک کردن تحت خلاء اشاره کرد. خشک کردن خلاء روشی جایگزین برای روش خشک کردن مرسوم اتمسفری است. در این روش خارج شدن رطوبت از محصول در فشارهای پایین انجام گرفته و واکنش‌های اکسیداسیون به دلیل عدم وجود هوا به حداقل رسیده و رنگ، طعم و بافت محصولات خشک شده تا حدی حفظ می‌شود (Arévalo-Pinedo and Murr, 2006).

از جمله تغییرات فیزیکی که حین خشک کردن ماده غذایی رخ می‌دهد، کاهش حجم آن است. از دست دادن آب و گرم شدن باعث ایجاد تنش در ساختار سلولی ماده غذایی می‌گردد که نتیجه این حالت تغییر شکل و ابعاد آن است (Daood et al., 2006). چروکیدگی محصول در بیشتر موارد یک ویژگی منفی از نظر مصرف کننده است. پدیده چروکیدگی اثر منفی بر میزان جذب آب مجدد محصول خشک شده می‌گذارد. اکثر مواد غذایی جامد و نیمه جامد از مواد غیرهمگن تشکیل شده است که به صورت یک شبکه مقدار زیادی از فاز مایع را در خود نگه می‌دارد. ساختار خاص مواد و ویژگی‌های مکانیکی اجزا آن، حجم نمونه، اندازه و شکل آن را تعیین می‌کند. موقعی که آب از شبکه مواد خارج می‌شود، فشار نامتعادلی بین داخل و خارج شبکه بوجود می‌

مطلوب‌ترین شرایط با حفظ جنبه‌های کیفی محصول، شناسایی و تعیین شده است.

## مواد و روش‌ها

### مواد

جهت انجام این مطالعه فلفل دلمه‌ای سبز رقم RS-ANIBAL F1 با توصیه مرکز تحقیقات کشاورزی از یکی از گلخانه‌های شهر تبریز تهیه گردید و تا زمان انجام آزمایشات در سردخانه بالای صفر نگهداری گردید. همچنین کلرید سدیم به صورت نمک تصفیه شده با نام تجاری گل‌ها استفاده شد. اتیل اولئات ساخت شرکت Sigma آمریکا مورد استفاده قرار گرفت. دیگر مواد شیمیایی مورد استفاده از جمله تولوئن، یدات پتاسیم، یدید پتاسیم، کربنات سدیم، اسید کلریدریک و معرف فولین ساخت شرکت Merck آلمان استفاده گردید.

## روش کار

### آماده‌سازی نمونه‌ها

نمونه‌ها در آزمایشگاه صنایع غذایی به مدت ۱ ساعت تا رسیدن به دمای آزمایشگاه در محیط نگهداری شد؛ سپس شسته شده قسمت سر و دانه‌های آن جدا شدند و سپس توسط یک کاتر دستی مربعی شکل (قالب آلومینیومی) به قطعاتی به طول و عرض ۲ سانتی‌متر و ضخامت ۴ میلی‌متر برش داده شدند. لازم به ذکر است که ضخامت برش‌ها توسط کولیس کنترل شده و برای انجام هر پیش تیمار مطابق جدول ۱ مقدار ۳۰۰ گرم از نمونه‌ها جدا گردید.

### روش‌های پیش تیمار نمونه‌ها

#### آنزیم‌بری

جهت تعیین اثرات پیش تیمار آنزیم‌بری، نمونه‌ها در آب  $100^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳ دقیقه غوطه‌ور شدند. در تمامی موارد پس از اعمال آنزیم‌بری جهت جلوگیری از حرارت بیشتر نمونه‌ها بلافاصله با آب سرد شسته شده و آب سطحی آنها با کاغذ صافی گرفته شد (Tunde-Akintunde, 2010).

#### غوطه‌وری در محلول کلرید سدیم

در این مطالعه از محلول کلرید سدیم به غلظت‌های ۲ و ۴ درصد (وزنی-وزنی) جهت غوطه‌وری نمونه‌ها به مدت ۳ دقیقه استفاده گردید. نسبت نمونه به محلول در همه غلظت‌ها ۱ به ۵ در نظر گرفته شد. در تمامی موارد جهت یکنواختی شرایط بعد از خروج قطعات از محلول آب‌نمک، رطوبت سطحی آنها توسط کاغذ جاذب حذف گردید (Tunde-Akintunde, 2010).

در شرایط میکروویو تحت خلاء در بازه زمانی ۶ تا ۱۲ دقیقه است، در مقایسه با خشک شدن هوای گرم (۶۰۰ دقیقه) بطور قابل توجهی کاهش می‌یابد. همچنین PFSP در شرایط میکروویو تحت خلاء خشک شده نسبت به خشک کردن هوای گرم دارای شاخص جذب آب و ظرفیت تورم کمتری بود و رنگ، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنلی کل PFSP خشک شده نیز تحت خشک شدن در میکروویو تحت خلاء بهبود یافت (Marzuki et al., 2021).

آبگیری اسمزی به عنوان پیش‌فرآیند برخی از روش‌های نگهداری مانند: خشک کردن با هوای گرم، خشک کردن در خلاء، کنسرو کردن، انجماد و سرخ کردن بکار می‌رود. استفاده از آبگیری اسمزی قبل از فرآیند خشک کردن به دلیل انتقال آب به خارج از بافت ماده غذایی حداکثر کیفیت لازم را به فرآورده می‌دهد. در این روش افزایش ماده جامد محصول در حضور محلول‌های غلیظ (کلرید سدیم، سوربیتول، ساکاریدها و ...) صورت می‌گیرد. هدف اصلی از آبگیری اسمزی به حداقل رساندن صدمه به بافت سلولی و انتقال آب به بیرون از بافت در یک مدت کوتاه، در مقایسه با سایر روش‌های خشک کردن است. طی آبگیری اسمزی چند جریان جرمی اتفاق می‌افتد؛ که مهمترین آن انتقال آب از داخل فرآورده به داخل محلول اسمزی و در جهت مخالف انتشار آب، جریان ماده حل شده از محلول اسمزی به داخل بافت ماده غذایی می‌باشد (Cichowska et al., 2018). در سال‌های اخیر فعالیت‌های زیادی در راستای استفاده از آبگیری اسمزی به عنوان فرآیند یا پیش فرآیند خشک کردن صورت گرفته است چرا که این فرآیند باعث بهبود خواص کیفی، عطر و طعم و بافت محصول می‌شود. در این راستا استفاده از محلول قلیایی اتیل اولئات تا حد زیادی زمان خشک کردن را کاهش می‌دهد. اتیل اولئات با فرمول مولکولی ( $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{O}_2$ ) استر اسید چرب تشکیل شده از طریق کندانسیون اسیداولئیک و اتانول می‌باشد که یک محلول قلیایی نامحلول در آب بوده و به عنوان امولسیفایر استفاده می‌شود. فرو بردن میوه‌های واکسی برای چند ثانیه در محلول اتیل اولئات تا حد زیادی زمان خشک کردن را کاهش می‌دهد. پوشش واکسی (مومی) در بعضی از میوه‌جات و سبزیجات به عنوان یک لایه محافظ در برابر عوامل محیطی و خارجی عمل می‌کند همچنین این لایه مومی به جریان رطوبت از داخل میوه به سطح آن تأثیر می‌گذارد که یک فرآیند مهم در خشک کردن می‌باشد (Doymaz, 2004). به دلیل ضرورت اقدامات اساسی به لحاظ جنبه‌های اقتصادی در راستای افزایش ماندگاری و کیفیت محصولات کشاورزی پرارزش در پژوهش حاضر با اعمال پیش تیمار محلول اتیل اولئات قلیایی و کلرید سدیم و مقایسه اثر فرآیند آنزیم‌بری و عدم آنزیم‌بری بر روی فلفل دلمه‌ای و سپس خشک کردن در خشک‌کن تحت خلأ با روش سطح پاسخ،

جدول ۱- طرح آماری مرکب ارائه شده توسط نرم افزار Minitab نسخه ۱۶

Table 1- Composite statistical design presented by Minitab software version 16

| Sample | Blanching | Treatment with % sodium chloride solution | Treatment with ethyl-oleate solution |
|--------|-----------|-------------------------------------------|--------------------------------------|
| نمونه  | آنزیم‌بری | تیمار با محلول کلرید سدیم %               | تیمار با محلول اتیل‌اولئات           |
| 1      | -         | 0                                         | 2                                    |
| 2      | -         | 0                                         | 0                                    |
| 3      | +         | 2                                         | 2                                    |
| 4      | +         | 2                                         | 2                                    |
| 5      | +         | 2                                         | 2                                    |
| 6      | +         | 2                                         | 2                                    |
| 7      | +         | 0                                         | 2                                    |
| 8      | +         | 2                                         | 4                                    |
| 9      | -         | 0                                         | 4                                    |
| 10     | -         | 2                                         | 2                                    |
| 11     | -         | 2                                         | 2                                    |
| 12     | -         | 2                                         | 4                                    |
| 13     | +         | 2                                         | 2                                    |
| 14     | +         | 0                                         | 0                                    |
| 15     | -         | 2                                         | 0                                    |
| 16     | -         | 2                                         | 2                                    |
| 17     | -         | 4                                         | 4                                    |
| 18     | +         | 4                                         | 2                                    |
| 19     | +         | 4                                         | 4                                    |
| 20     | -         | 4                                         | 0                                    |
| 21     | -         | 2                                         | 2                                    |
| 22     | -         | 2                                         | 2                                    |
| 23     | +         | 2                                         | 0                                    |
| 24     | -         | 4                                         | 2                                    |
| 25     | +         | 4                                         | 0                                    |
| 26     | +         | 0                                         | 4                                    |

#### غوطه‌وری در محلول اتیل اولئات

محلول اتیل اولئات با غلظت‌های ۲ و ۴ درصد (وزنی - وزنی) تهیه گردید و نمونه‌ها به مدت ۱ دقیقه در محلول غوطه‌ور گردیدند و سطح مرطوب نمونه‌ها پس از خروج از محلول روغنی اتیل اولئات توسط کاغذ جاذب حذف گردید (Doymaz and Ismail, 2010).

#### خشک کردن نمونه‌های پیش تیمار شده

جهت خشک کردن، نمونه‌های پیش تیمار شده در خشک کن تحت خلاء آزمایشگاهی (شرکت Memmert، مدل V0400، ساخت کشور آلمان) با دمای  $60^{\circ}\text{C}$  و فشار ۱۰ کیلوپاسکال با فاصله معین بر روی طبقات آون چیده شدند (شکل ۱). پس از اتمام زمان خشک شدن ۱۰ گرم از نمونه‌های تیمار شده توسط ترازو (شرکت Mettler Toledo، مدل ME303، ساخت کشور سوئیس) جهت بررسی سینتیک خشک شدن و مابقی نمونه‌ها جهت انجام آنالیزهای مورد نظر جدا گردیدند. به منظور دستیابی به سینتیک خشک شدن، نمونه‌ها در فواصل زمانی ۳۰ دقیقه‌ای از آون (شرکت بهداد، مدل ۳۴۹۴، ساخت کشور ایران) خارج شده و توسط ترازوی دیجیتال وزن گردید و خشک کردن تا رسیدن به محتوای رطوبت ۱۲ درصد بر پایه مرطوب ادامه یافت سپس جهت

انجام آنالیزهای مربوطه بر روی نمونه‌های خشک شده نمونه‌ها در بسته‌بندی‌های پلاستیکی تا انجام آزمایشات نگهداری گردیدند. تمامی آزمایشات با ۲ تکرار انجام شد و داده‌های گزارش شده میانگین داده‌های آزمایشی هستند.

#### بررسی ویژگی‌های کیفی نمونه‌های خشک شده

##### محتوای رطوبت

میزان رطوبت نمونه تازه از طریق خشک کردن ۵ گرم نمونه خرد شده در آون کنوکسیون در دمای  $105 \pm 1^{\circ}\text{C}$  درجه سلسیوس، تا رسیدن به وزن ثابت انجام شد (A Chemists, 1990). در نهایت بر حسب گرم رطوبت به گرم ماده خشک گزارش گردید. محتوای رطوبت نمونه‌های خشک شده طبق رابطه (۱) محاسبه شد و منحنی‌های خشک کردن مربوطه رسم گردید.

$$MC = \frac{W_0 - W}{W_0} \times 100 \quad (\text{رابطه ۱})$$

که در این رابطه:



شکل ۱- نمونه‌های برش داده و تیمار شده (عکس از نویسنده)  
Fig. 1- Cut and treated samples (photo by the author)

رسم و معادله آن به دست آمد. سپس اعداد میانگین نمونه‌های فلفل دلمه‌ای در معادله خط استاندارد قرار داده شد تا اعداد واقعی به دست آید. همچنین شاخص میزان تغییرات رنگ نسبت به رنگ شاهد با رابطه (۶) محاسبه شد.

$$\Delta E = \sqrt{(L_0^* - L_i^*)^2 + (a_0^* - a_i^*)^2 + (b_0^* - b_i^*)^2} \quad (\text{رابطه ۶})$$

$L_0^*$ : میزان روشنایی در نمونه شاهد

$L_i^*$ : میزان روشنایی در نمونه خشک شده

$a_0^*$ : میزان رنگ سبز تا قرمز در نمونه شاهد

$a_i^*$ : میزان رنگ سبز تا قرمز در نمونه خشک شده

$b_0^*$ : میزان آبی تا زرد در نمونه شاهد

$b_i^*$ : میزان آبی تا زرد در نمونه خشک شده

### تعیین میزان کلروفیل

میزان کلروفیل نمونه‌های تازه و خشک شده با استفاده از دستگاه کلروفیل سنس (شرکت Opti sciences، مدل CC 202plus، ساخت کشور آمریکا) ارزیابی گردید.

### اسید آسکوربیک

۱۰۰ گرم از نمونه تازه را بسیار ریز خرد کرده ۵۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه کرده و با استفاده از هاون له کرده و مخلوط حاصل با

MC: محتوای رطوبت

$W_0$ : وزن نمونه اولیه

W: وزن نمونه بعد از آون گذاری می‌باشند.

همچنین برای رسم نمودارهای کاهش رطوبت، نسبت رطوبت از

رابطه (۲) محاسبه گردید.

$$MR = \frac{M_t - M_e}{M_0 - M_e} \quad (\text{رابطه ۲})$$

که در این معادله:

MR: نسبت رطوبت (بدون بعد)

$M_t$ : رطوبت نمونه در زمان t

$M_0$ : رطوبت اولیه نمونه‌ها

$M_e$ : مقدار رطوبت تعادلی می‌باشند.

### رنگ

مقایسه رنگ نمونه‌های خشک شده فلفل دلمه‌ای با استفاده از روش یام و پاپاداکیس (Yam and Papadakis, 2004) انجام گرفت. ابتدا تصاویر دیجیتالی نمونه‌ها در داخل محفظه معین با شدت نور و فاصله لنز ثابت، تا نمونه گرفته شد. زاویه بین محور لنز دوربین و منبع نور ثابت و حدود ۴۵ درجه گرفته شد. نور داخل محفظه دارای قدرت مشابه نور روز  $D_{65}$  بود. تعیین فاکتورهای  $L$ ،  $a$  و  $b$  در ۵ نقطه از نمونه توسط نرم افزار فتوشاپ انجام گرفت. همچنین عکسبرداری از رنگ‌های استاندارد (Ral) در همان محفظه با شرایط مشابه انجام پذیرفت و فاکتورهای  $L$ ،  $a$  و  $b$  همانند قبل تعیین گشت. با توجه به فاکتورهای  $L$ ،  $a$  و  $b$  استانداردهای Ral و استانداردهای واقعی، منحنی استاندارد



### ب) تهیه عصاره و اندازه‌گیری ترکیبات فنلی نمونه‌ها

جهت استخراج عصاره از حلال متانول-آب (متانول ۸۰٪) استفاده شد. برای این کار ۵ گرم از نمونه بعد از خرد شدن به مدت ۴۸ ساعت در ۸۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد قرار داده شد و سپس با استفاده از کاغذ صافی، صاف شد و محلول به دست آمده با افزودن متانول ۸۰٪ به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. ۱ میلی‌لیتر از نمونه را به بالن ژوژه ۱۰۰ انتقال داده و ۷۰ میلی‌لیتر آب مقطر، ۵ میلی‌لیتر معرف فولین-سیوکالته (۱۰٪) به آن اضافه شده و در دمای اتاق به مدت ۸ دقیقه هم‌زده، سپس ۱۵ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم (۲۰٪) به آن اضافه شده و با آب به حجم ۱۰۰ رسانده شد و به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق در محل تاریک نگهداری و سپس در طول موج ۷۶۵ نانومتر میزان جذب نمونه قرائت و با استفاده از منحنی استاندارد غلظت فنل موجود در نمونه محاسبه شد (Lee et al., 2005).

### تجزیه و تحلیل آماری

بررسی اثرات مستقل و متقابل غوطه‌وری در غلظت‌های مختلف محلول کلریدسدیم و اتیل اولئات بر سینتیک و مدت زمان خشک شدن بطور جداگانه در نمونه‌های آنزیم‌بری شده و آنزیم‌بری نشده بر روی پارامترهای رنگ، میزان کلروفیل، مواد فنلی و ویتامین ث باقیمانده در فلفل دلمه‌ای خشک شده با استفاده از نرم‌افزار minitab16 و روش سطح پاسخ (RSM) مورد بررسی قرار گرفت؛ در این طرح ابتدا بر اساس آزمایشات مقدماتی و پیشینه تحقیق دامنه تغییرات فاکتورها برای متغیرهای مستقل تعیین گردید و سپس تأثیر مستقل فاکتورها و اثرات متقابل آنها بر اساس سطح احتمال ۹۵٪ مورد بررسی قرار گرفت. روش سطح پاسخ برای ارزیابی اثر متغیرهای مستقل؛ غوطه‌وری در محلول اتیل اولئات (X1) و غوطه‌وری در محلول کلرید سدیم (X2) بر روی متغیرهای وابسته استفاده گردید (جدول ۲).

جدول ۲- نمایش متغیرهای مستقل کمی فرآیند

Table 2- Showing the quantitative independent variables of the process

| Factors levels<br>سطوح فاکتورها |   |    | Mathematical symbol<br>نماد ریاضی | Quantitative independent variables<br>متغیرهای مستقل کمی                        |
|---------------------------------|---|----|-----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| 1                               | 0 | -1 |                                   |                                                                                 |
| 4                               | 2 | 0  | X <sub>1</sub>                    | غوطه‌وری در محلول اتیل اولئات (درصد)<br>Immersion in ethyl oleate solution (%)  |
| 4                               | 2 | 0  | X <sub>2</sub>                    | غوطه‌وری در محلول کلریدسدیم (درصد)<br>Immersion in sodium chloride solution (%) |

رطوبت آزمایشگاهی با نسبت‌های رطوبت پیش‌بینی شده (معادله واکنش) توسط مدل‌های ریاضی استفاده شد. ثابت سرعت واکنش خشک شدن بر اساس ریشه میانگین مربعات خطا (RMSE) که از رابطه (۸) بدست آمد.

استفاده از کاغذ صافی صاف شد و سپس محلول استخراج شده در یک بالن حجمی با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. ۲۰ میلی‌لیتر از عصاره نمونه را به داخل بالن حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر ریخته و ۱۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر، ۵ میلی‌لیتر یدید پتاسیم (۰/۶ مول بر لیتر)، ۵ میلی‌لیتر اسید کلرویدریک (۱ مول بر لیتر) و ۱ میلی‌لیتر از محلول نشاسته (۰/۵ درصد) اضافه گردید. سپس نمونه با محلول یدات پتاسیم (۰/۰۰۲ مول بر لیتر) تیتتر شد. نقطه پایانی تیتراسیون ظهور اولین نشانه دائمی رنگ آبی تیره به دلیل کمپلکس نشاسته و ید می‌باشد و میزان اسید آسکوربیک نمونه با توجه به نمودار استاندارد با استفاده از رابطه (۷) محاسبه گردید (Lee et al., 2005).

(رابطه ۷)  $X = 0.917858 - 0.300937$  = حجم یدات مصرفی  
X: مقدار اسید آسکوربیک بر حسب میلی‌گرم اسید آسکوربیک در ۱۰۰ میلی‌لیتر عصاره

### تعیین ترکیبات فنلی نمونه‌ها

#### الف) رسم منحنی کالیبراسیون اسیدگالیک

برای رسم منحنی استاندارد ابتدا ۰/۵ گرم اسیدگالیک در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد حل شده و سپس به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. از محلول فوق مقدار ۰، ۰/۵، ۱، ۲، ۵، ۱۰ میلی‌لیتر برداشته و به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس از نمونه‌ها ۱ میلی‌لیتر برداشته و با ۵ میلی‌لیتر محلول فولین-سیوکالته (۱۰ درصد) و ۷۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و به مدت ۸ دقیقه هم زده شد. در ادامه ۱۵ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم اشباع (۲۰ درصد) افزوده و با آب به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد و به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق در محل تاریک نگهداری گردید و سپس جذب نمونه در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد و منحنی مربوطه رسم گردید.

### مدل‌سازی رگرسیونی

برای مدل‌سازی سینتیکی خشک شدن نمونه‌های آزمایش شده بر اساس مدل‌های ریاضی شناخته شده از ابزار برازش منحنی نرم‌افزار MATLAB و تکنیک رگرسیون غیر خطی برای برازش نسبت‌های

## نتایج و بحث

### سینتیک خشک کردن

تعیین درجه، معادله و سرعت واکنش نمونه‌های آزمایش شده

در جدول ۳ داده‌های سینتیک نمونه‌های مورد آزمون به همراه تعیین درجه، معادله و سرعت واکنش نمونه‌ها گزارش شده است.

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^n (MR_{pi} - MR_{ei})^2}$$

(رابطه ۸)

که در این رابطه:

$MR_{ei}$ : نسبت رطوبت آزمایشگاهی

$MR_{pi}$ : نسبت رطوبت پیش‌بینی شده توسط مدل

N: تعداد مشاهدات را نشان می‌دهد.

جدول ۳- داده‌های سینتیک نمونه‌های مورد آزمون

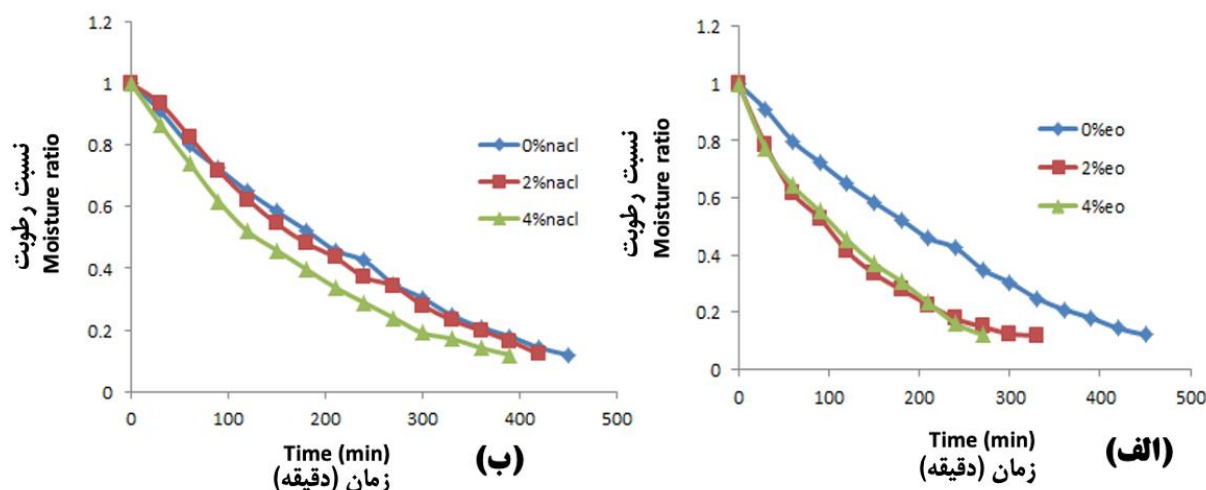
Table 3- Kinetic data of the tested samples

| Applied treatment<br>تیمار اعمال شده                                                         | Reaction order<br>مرتبه واکنش | Reaction equation<br>معادله واکنش | The reaction rate constant<br>ثابت سرعت واکنش |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------------------|
| Control<br>شاهد                                                                              | First<br>اول                  | $y=1.0783 e^{-0.004}$             | 0.0047                                        |
| Ethyl oleate 2%<br>اتیل اولئات ۲٪                                                            | First<br>اول                  | $y=0.9687 e^{-0.007}$             | 0.0067                                        |
| Ethyl oleate 4%<br>اتیل اولئات ۴٪                                                            | First<br>اول                  | $y=1.0163 e^{-0.007}$             | 0.0075                                        |
| Sodium chloride 2%<br>کلرید سدیم ۲٪                                                          | First<br>اول                  | $y=1.1186 e^{-0.005}$             | 0.0049                                        |
| Sodium chloride 4%<br>کلرید سدیم ۴٪                                                          | First<br>اول                  | $y=1.0235 e^{-0.005}$             | 0.00454                                       |
| Sodium chloride 4%+ Ethyl oleate 2%<br>کلرید سدیم ۴٪ + اتیل اولئات ۲٪                        | First<br>اول                  | $y=1.0122 e^{-0.005}$             | 0.0057                                        |
| Sodium chloride 2%+ Ethyl oleate 4%<br>کلرید سدیم ۲٪ + اتیل اولئات ۴٪                        | First<br>اول                  | $y=1.0529 e^{-0.008}$             | 0.0085                                        |
| Sodium chloride 2%+ Ethyl oleate 2%<br>کلرید سدیم ۲٪ + اتیل اولئات ۲٪                        | First<br>اول                  | $y=1.0286 e^{-0.006}$             | 0.0058                                        |
| Sodium chloride 4%+ Ethyl oleate 4%<br>کلرید سدیم ۴٪ + اتیل اولئات ۴٪                        | First<br>اول                  | $y=1.0109 e^{-0.008}$             | 0.0078                                        |
| Blanching<br>آنزیم‌بری                                                                       | First<br>اول                  | $y=1.0797 e^{-0.006}$             | 0.0064                                        |
| Blanching+ Ethyl oleate 2%<br>آنزیم‌بری + اتیل اولئات ۲٪                                     | Zero<br>صفر                   | $y=0.0032x + 0.0735$              | 0.0032                                        |
| Blanching+ Ethyl oleate 4%<br>آنزیم‌بری + اتیل اولئات ۴٪                                     | First<br>اول                  | $y=0.9772 e^{-0.009}$             | 0.0864                                        |
| Blanching+ Sodium chloride 2%<br>آنزیم‌بری + کلرید سدیم ۲٪                                   | First<br>اول                  | $y=1.0914 e^{-0.007}$             | 0.0067                                        |
| Blanching+ Sodium chloride 4%<br>آنزیم‌بری + کلرید سدیم ۴٪                                   | Zero<br>صفر                   | $y=0.0033x + 0.0398$              | 0.0033                                        |
| Blanching+ Sodium chloride 2%+ Ethyl oleate 4%<br>آنزیم‌بری + کلرید سدیم ۲٪ + اتیل اولئات ۴٪ | First<br>اول                  | $y=1.0388 e^{-0.008}$             | 0.0085                                        |
| Blanching+ Sodium chloride 4%+ Ethyl oleate 2%<br>آنزیم‌بری + کلرید سدیم ۴٪ + اتیل اولئات ۲٪ | First<br>اول                  | $y=1.1163 e^{-0.009}$             | 0.087                                         |
| Blanching+ Sodium chloride 2%+ Ethyl oleate 2%<br>آنزیم‌بری + کلرید سدیم ۲٪ + اتیل اولئات ۲٪ | Zero<br>صفر                   | $y=0.0033x + 0.0492$              | 0.0033                                        |
| Blanching+ Sodium chloride 4%+ Ethyl oleate 4%<br>آنزیم‌بری + کلرید سدیم ۴٪ + اتیل اولئات ۴٪ | First<br>اول                  | $y=1.0047 e^{-0.01}$              | 0.0097                                        |

### منحنی‌های خشک کردن

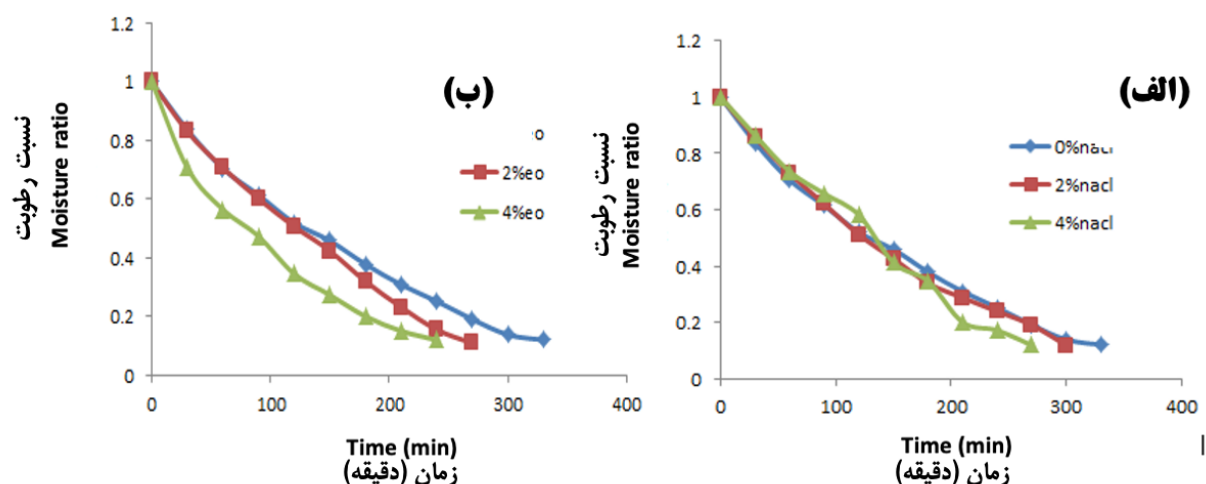
نزولی اتفاق می‌افتد؛ که نشان‌دهنده اثر غالب مکانیسم نفوذپذیری بافت، بر حرکت رطوبت ماده غذایی می‌باشد. همچنین ممکن است به ماهیت کلوییدی و هیدروفیلیکی مواد غذایی نسبت داده شود که باعث می‌شود مولکول‌های آب با استحکام بیشتری نگه داشته شوند. نتایج مشابهی توسط دویماز (Doymaz, 2006) در خشک کردن میوه‌های مختلف انگور، زردآلو، فلفل قرمز و فلفل سبز بدست آمده است.

منحنی سینتیک افت رطوبت در طول مدت زمان خشک شدن برای نمونه‌های پیش‌تیمار شده و شاهد تا رسیدن به رطوبت ۱۲ درصد (بر اساس وزن مرطوب) در نمودارهای شکل ۲ تا ۴ دیده می‌شود. در هیچکدام از این منحنی‌ها، دوره سرعت ثابت خشک کردن مشاهده نشد، از این رو کل فرآیند خشک کردن فلفل دلمه‌ای در محدوده سرعت



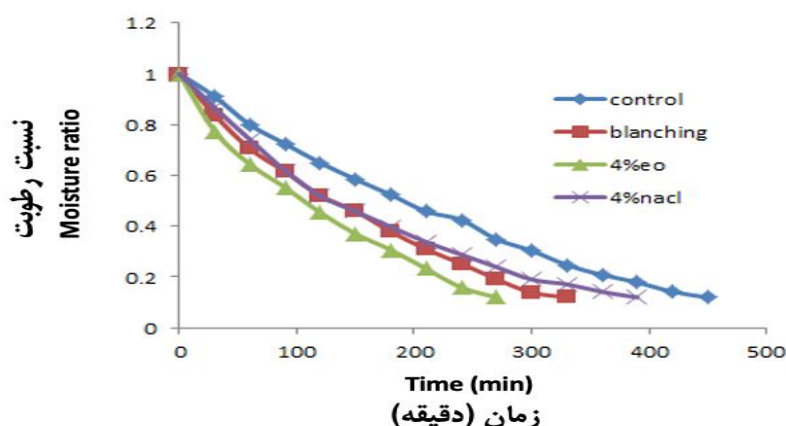
شکل ۲- منحنی افت رطوبت نمونه‌های آنزیم‌بری شده و تیمار شده با: (الف) محلول کلرید سدیم؛ (ب) محلول اتیل اولئات

Fig. 2- Moisture loss curve of blanched and treated samples with: (a) sodium chloride solution; (b) Ethyl oleate solution



شکل ۳- منحنی افت رطوبت نمونه‌های آنزیم‌بری نشده و تیمار شده با: (الف) محلول کلرید سدیم؛ (ب) محلول اتیل اولئات

Fig. 3- The moisture loss curve of samples non-blanching and treated with: (a) sodium chloride solution; (b) Ethyl oleate solution



شکل ۴- منحنی مقایسه‌ای افت رطوبت نمونه شاهد با تیمارهای مختلف  
Fig. 4- Comparative curve of moisture loss of the control sample with different treatments

اثر خطی محلول اتیل اولئات هم بر میزان اسیدآسکوربیک اثر معنی‌داری داشت ( $p < 0.05$ ). در حالی که غوطه‌وری در محلول کلرید سدیم و اثر متقابل محلول اتیل اولئات و کلرید سدیم معنی‌دار نمی‌باشند ( $p > 0.05$ ). همبستگی بالایی در استفاده از غلظت‌های محلول اتیل اولئات و کلرید سدیم بین اعداد حاصل از آزمایش و اعداد پیش‌بینی شده توسط مدل وجود داشت ( $R^2 = 0.9948$ ) و همچنین میزان  $\text{adj-R}^2$  (ضریب تبیین تعدیل شده) محاسبه شده برای مدل،  $0.9911$  می‌باشد که می‌توان نتیجه گرفت که نتایج حاصل با مدل آزمایشی مورد استفاده مطابقت دارد. در ادامه با بکارگیری آنالیز رگرسیون مدل درجه دوم در داده‌های آزمایشی برای پیش‌بینی رابطه بین متغیرهای مستقل و متغیر وابسته پس از حذف ضرایب بی‌معنی و در سطح ۹۵ درصد رابطه (۹) توسط نرم‌افزار دیزاین اکسپرت ارائه شده است. رابطه (۹) نیز نشان داد که جملات مربوط به اثرات درجه اول، تأثیر منفی محلول اتیل اولئات ( $X_1$ ) بر میزان اسیدآسکوربیک در نمونه‌های آنزیم‌بری نشده داشتند و جملات مربوط به اثر درجه دوم  $X_1^2$ ، تأثیر مثبت بر میزان اسیدآسکوربیک در نمونه‌های آنزیم‌بری نشده داشت.

$$Y = + 18/1461 - 1/1417 X_1 + 0/9396 X_1^2$$

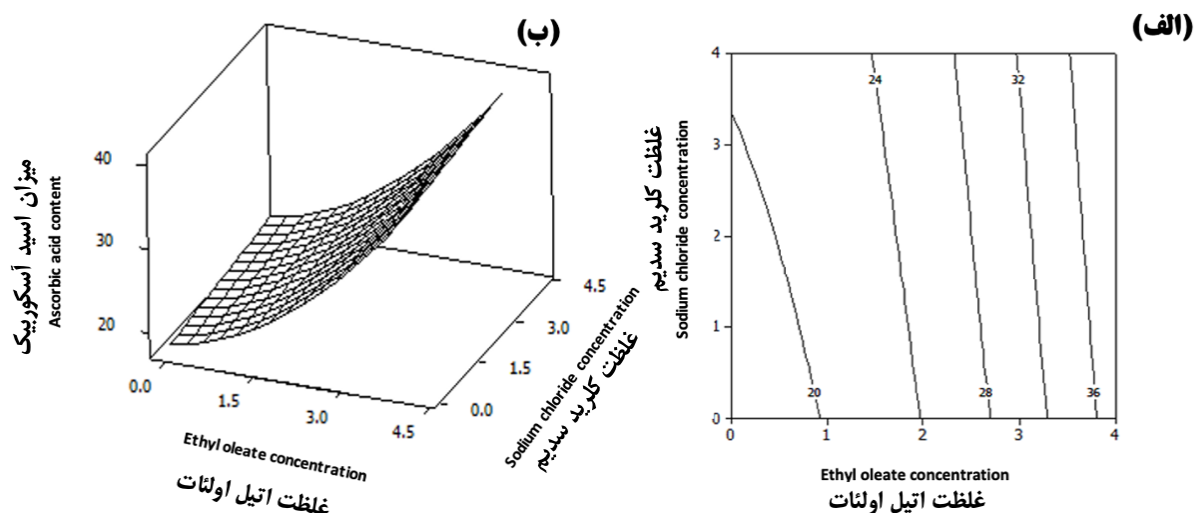
Y: اسیدآسکوربیک؛  $X_1$ : محلول اتیل اولئات.

شکل ۵ اثر هم‌زمان غلظت‌های محلول اتیل اولئات و کلرید سدیم را بر میزان اسیدآسکوربیک نمونه‌های آنزیم‌بری نشده و خشک شده در خشک‌کن تحت خلأ را نشان می‌دهد. با توجه به شکل (۵-الف) و (۵-ب)، با افزایش غلظت محلول اتیل اولئات بر میزان پایداری اسیدآسکوربیک نمونه‌های آنزیم‌بری نشده بیشترین تأثیر را داشته است.

با توجه به نتایج به دست آمده در شکل ۴ محلول‌های پیش‌تیماری اتیل اولئات و کلرید سدیم به عنوان یک پارامتر مهم در زمان خشک شدن تأثیر می‌گذارند. نمونه‌های غوطه‌ور شده در محلول اتیل اولئات با غلظت ۴٪ زمان خشک کردن کوتاه‌تری در مقایسه با سایر پیش‌تیمارها داشته است، در نتیجه محلول مؤثرتری در افزایش نفوذپذیری پوست نسبت به رطوبت بوده است. به نظر می‌رسد که خواص فیزیکی بافت توسط آنزیم‌بری تغییر می‌کند. غشاء سلولی در اثر حرارت آسیب دیده و این در سرعت خشک کردن تأثیر دارد که نتایج مشابهی توسط کایماک-ارتهکین (Kaymak-Ertekin, 2002) بیان شده است.

#### اثر پیش‌تیمارهای مختلف بر پارامترهای مورد ارزیابی با روش سطح پاسخ میزان اسیدآسکوربیک اثر پیش‌تیمارهای مختلف بر میزان اسیدآسکوربیک در نمونه‌های آنزیم‌بری نشده

از تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها به منظور تعیین مناسب بودن مدل تجربی بکار رفته (مدل درجه دوم)، استفاده شد. نتایج اثرات مستقل و متقابل پیش‌تیمارهای مختلف را بر میزان اسیدآسکوربیک در فلفل‌های خشک شده، معنی‌دار بودن مدل ( $p < 0.05$ ) و عدم معنی‌دار بودن عدم برازش ( $p > 0.05$ ) نشان دهنده توانایی خوب مدل موجود در برازش داده‌های تجربی این آزمایش است و می‌توان نتیجه گرفت که نتایج حاصل با مدل آزمایشی مورد استفاده مطابقت دارد. مطابق با آنالیز آماری از بین متغیرهای تأثیرگذار بر میزان اسیدآسکوربیک، بیشترین اثر مربوط به اثر درجه دوم غوطه‌وری در محلول اتیل اولئات بود که تأثیر معنی‌داری را نشان داد ( $p < 0.05$ ). البته لازم به ذکر است که



شکل ۵- اثر متقابل محلول اتیل اولئات و کلرید سدیم بر مقدار اسیدآسکوربیک نمونه‌های آنزیم‌بری نشده با استفاده از: (الف) نمودار کانتور دو بعدی؛ و (ب) نمودار سطح پاسخ سه بعدی

Fig. 5- The interaction of ethyl oleate and sodium chloride solution on the ascorbic acid content of non-blanch samples: a) two-dimensional line diagram. and (b) 3D response surface plot

آنزیم‌بری شده و خشک شده، معنی‌دار بودن مدل ( $p < 0.05$ ) و عدم معنی‌دار بودن عدم برازش ( $p > 0.05$ ) نشان دهنده توانایی خوب مدل موجود در برازش داده‌های تجربی این آزمایش است. مطابق با آنالیز آماری از بین متغیرهای تأثیرگذار بر میزان اسیدآسکوربیک، اثر خطی محلول اتیل اولئات ( $X_1$ ) و کلرید سدیم ( $X_2$ )، همچنین جملات مربوط به اثرات درجه دوم  $X_1^2$  و  $X_2^2$  و اثرات متقابل ( $X_1X_2$ ) بر میزان اسیدآسکوربیک اثر معنی‌داری داشتند ( $p < 0.05$ ). همبستگی بالایی در استفاده از غلظت‌های محلول اتیل اولئات و کلرید سدیم بین اعداد حاصل از آزمایش و اعداد پیش‌بینی شده توسط مدل وجود داشت ( $R^2 = 0.9996$ ) و همچنین میزان  $\text{adj-}R^2$  (ضریب تبیین تعدیل شده) محاسبه شده برای مدل، ۰/۹۹۹۳ می‌باشد که می‌توان نتیجه گرفت که نتایج حاصل با مدل آزمایشی مورد استفاده مطابقت دارد.

با بکارگیری آنالیز رگرسیون مدل درجه دوم در داده‌های آزمایشی برای پیش‌بینی رابطه بین متغیرهای مستقل و متغیر وابسته پس از حذف ضرایب بی‌معنی و در سطح ۹۵ درصد رابطه (۱۰) توسط نرم‌افزار دیزاین اکسپرت ارائه شده است. رابطه (۱۰) نیز نشان داد که جملات مربوط به اثرات درجه اول، تأثیر مثبت محلول اتیل اولئات ( $X_1$ ) و تأثیر منفی محلول کلرید سدیم ( $X_2$ ) بر میزان اسیدآسکوربیک در نمونه‌های آنزیم‌بری شده داشتند و جملات مربوط به اثر درجه دوم  $X_1^2$ ، تأثیر منفی و  $X_2^2$ ، تأثیر مثبت بر میزان اسیدآسکوربیک در نمونه‌های آنزیم‌بری شده داشت و در نهایت جمله مربوط به اثر متقابل  $X_1X_2$ ، تأثیر مثبت بر میزان اسیدآسکوربیک در نمونه‌های آنزیم‌بری شده داشت. (رابطه ۱۰)

مؤثر بودن میزان اتیل اولئات در مقدار اسیدآسکوربیک باقی مانده بیشترین میزان اسیدآسکوربیک با مقدار ۳۹/۷۷ مربوط به نمونه‌های تیمار شده در محلول اتیل اولئات با غلظت ۴٪ و نمک طعام ۴٪ می‌باشد و کمترین مقدار ۱۷/۹۸ مربوط به تیمار کنترل می‌باشد. در تمامی تیمارهایی مورد بررسی اثر نمک طعام در پایداری اسیدآسکوربیک ناچیز بوده و در مقایسه اثر مستقل نمک طعام با بالاترین غلظت با نمونه کنترل تفاوت چندانی در میزان اسیدآسکوربیک باقی مانده دیده نمی‌شود. بنابراین نتیجه گرفته می‌شود که محلول اتیل اولئات در غلظت‌های بالا مدت زمان خشک کردن نمونه را کاهش می‌دهد، بنابراین نمونه کمتر تحت تأثیر دمای بالا قرار گرفته در نتیجه میزان بیشتری از ویتامین ث حفظ می‌گردد. نتایج حاصله با یافته‌های زیرجان و توکل‌پور (Zirjani and Tavakolipour, 2010) مطابقت دارد که در میان سه پیش‌فرآیند انجام شده، پیش‌فرآیند مخلوط اسیدآسکوربیک و اسید-سیتریک کاهش کمتری در ویتامین ث ایجاد کرده است ولی در پیش-فرآیند آنزیم‌بری با آبجوش و آنزیم‌بری شیمیایی با محلول ۱ درصد متابی‌سولفیت سدیم به دلیل انحلال ویتامین ث در آب میزان اتلاف آن بیشتر بوده است.

#### اثر پیش‌تیمارهای مختلف بر میزان اسیدآسکوربیک در نمونه‌های آنزیم‌بری شده

از تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها به منظور تعیین مناسب بودن مدل تجربی بکار رفته (مدل درجه دوم)، استفاده شد. نتایج اثرات مستقل و متقابل پیش‌تیمارهای مختلف را بر میزان اسیدآسکوربیک در نمونه‌های

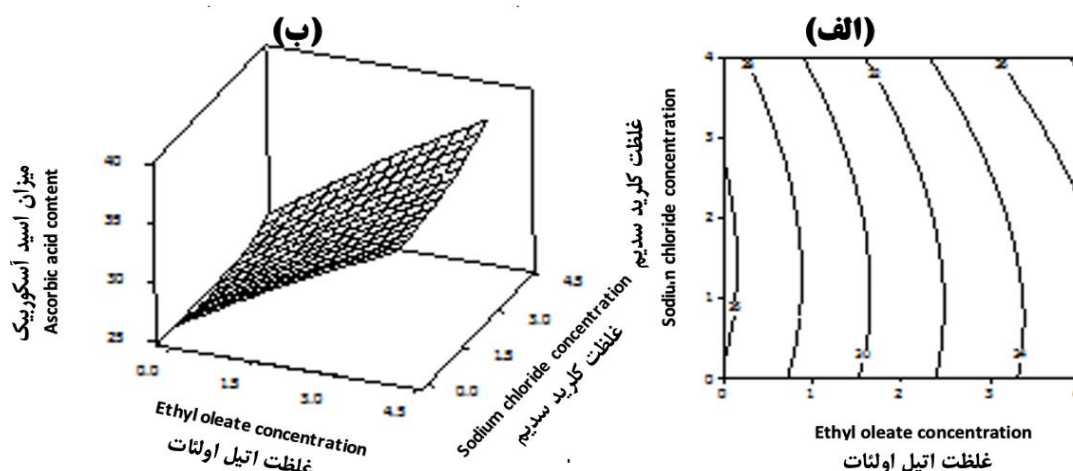
های سدیم متابی سولفیت و کلرید کلسیم بر روی نمونه سبزی‌ها قبل از عمل خشک کردن باعث حفظ ویتامین ث نسبت به نمونه‌های شاهد بوده که به اثر حفاظتی محلول‌های مورد استفاده نسبت داده شده که با مطالعه حاضر مطابقت نشان می‌دهد (Vega-Gálvez et al., 2009). با توجه به مطلوب بودن فلفل سبز از نقطه نظر ویتامین ث، مقایسه فرآیند تأثیر آنزیم‌بری در نمونه‌های تیمار شده در حفظ این ویتامین مشاهده می‌گردد که مقدار ویتامین ث در نمونه‌های آنزیم‌بری شده کمتر از نمونه‌های آنزیم‌بری نشده می‌باشد. علت این امر مربوط به دمای بالای فرآیند آنزیم‌بری بوده که موجب تخریب ویتامین ث نمونه‌های تیمار شده گردیده است، که مطابق مطالعه‌ای که توسط وگا-گالویز و همکاران (Vega-Gálvez et al., 2009) انجام شده مطابقت دارد؛ در مطالعه آنها بر روی فلفل قرمز آنزیم‌بری شده دیده شد که تمام نمونه‌های آگیری شده حاوی ویتامین ث کمتری نسبت به فلفل تازه بودند که به علت ترکیبی از مکانیسم‌های انتقال جرم، اکسیداسیون و تخریب حرارتی اسیدآسکوربیک طی آنزیم‌بری و خشک کردن می‌باشد (Vega-Gálvez et al., 2009).

$$Y = 26/0994 + 2/6949 X_1 - 0/7344 X_2 - 0/0935 X_1^2 + 0/2555 X_2^2 + 0/1091 X_1 X_2$$

Y: اسیدآسکوربیک؛  $X_1$ : محلول اتیل اولئات؛  $X_2$ : محلول کلرید سدیم.

**شکل ۶** اثر هم‌زمان غلظت‌های محلول اتیل اولئات و کلرید سدیم را بر میزان اسیدآسکوربیک نمونه‌های آنزیم‌بری شده و خشک شده در خشک کن تحت خلاء نشان می‌دهد. مشاهده می‌شود افزایش در غلظت محلول‌های اتیل اولئات و کلرید سدیم موجب افزایش مقدار ویتامین ث در نمونه‌های خشک شده می‌گردد. با توجه به شکل (۶-الف) و (۶-ب)، با افزایش غلظت هر دو محلول اتیل اولئات و کلرید سدیم افزایش مقدار اسیدآسکوربیک در نمونه‌های آنزیم‌بری شده و خشک شده مشاهده گردید.

باتوجه به مؤثر بودن اثرات مستقل، توان دوم و متقابل تمامی پارامترها در مقدار اسیدآسکوربیک بیشترین مقدار مربوط به تیماری با اثر ۴٪ اتیل اولئات و ۴٪ نمک طعام بوده و کمترین مقدار مربوط به تیمار کنترل می‌باشد. مطالعه‌ای توسط وگا-گالویز و همکاران (Vega-Gálvez et al., 2009) انجام گرفت نشان می‌دهد که تأثیر محلول



شکل ۶- اثر متقابل محلول اتیل اولئات و کلرید سدیم بر مقدار اسیدآسکوربیک نمونه‌های آنزیم‌بری شده با استفاده از: (الف) نمودار کانتور دو بعدی؛ و (ب) نمودار سطح پاسخ سه بعدی

Fig. 6- The interaction of ethyl oleate and sodium chloride solution on the ascorbic acid content of blanched samples: a) two-dimensional line diagram. and (b) 3D response surface plot

معنی‌دار بودن عدم برآزش ( $p > 0/05$ ) نشان دهنده توانایی خوب مدل موجود در برآزش داده‌های تجربی این آزمایش است. مطابق با آنالیز آماری از بین متغیرهای تأثیرگذار بر میزان مواد فنلی، اثر خطی محلول اتیل اولئات ( $X_1$ ) و کلرید سدیم ( $X_2$ )، همچنین جملات مربوط به اثر درجه دوم  $X_1^2$  و اثرات متقابل ( $X_1 X_2$ ) بر میزان مواد فنلی اثر معنی داری داشتند ( $p < 0/05$ ). همبستگی بالایی در استفاده از غلظت‌های محلول اتیل اولئات و کلرید سدیم بین اعداد حاصل از آزمایش و اعداد

## میزان ترکیبات فنولی کل

اثر پیش تیمارهای مختلف بر میزان مواد فنلی کل در نمونه‌های آنزیم‌بری نشده

از تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها به منظور تعیین مناسب بودن مدل تجربی بکار رفته (مدل درجه دوم)، استفاده شد. نتایج اثرات مستقل و متقابل پیش تیمارهای مختلف را بر میزان مواد فنلی در نمونه‌های آنزیم‌بری نشده و خشک شده، معنی‌دار بودن مدل ( $p < 0/05$ ) و عدم



Y: مواد فنلی کل؛  $X_1$ : محلول اتیل اولئات؛  $X_2$ : محلول کلریدسدیم.

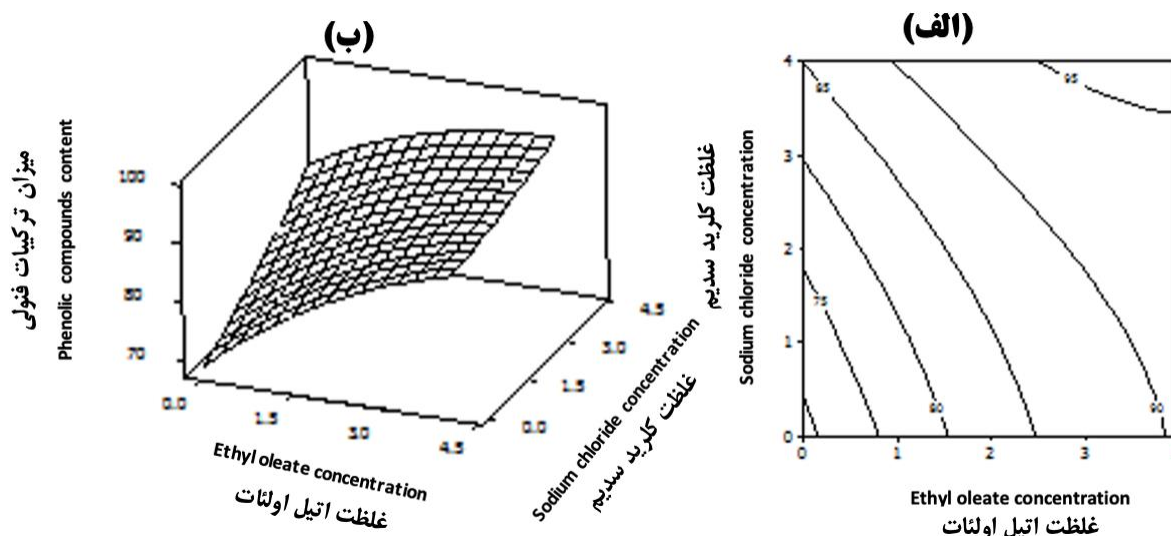
**شکل ۷** اثر همزمان غلظت‌های محلول اتیل اولئات و کلریدسدیم بر میزان مواد فنلی باقی‌مانده در فلفل سبز پس از خشک شدن در خشک‌کن تحت خلأ را نشان می‌دهد. مطابق شکل (۷-الف) با توجه به اثر بیشتر اتیل اولئات مشاهده می‌گردد که با افزایش سطوح محلول اتیل اولئات و افزایش میزان کلریدسدیم مقدار ترکیب فنلی باقی‌مانده دارای حداکثر مقدار با میزان ۹۵/۷۵ است که مربوط به تیمار با غلظت ۴٪ اتیل اولئات و ۴٪ نمک طعام بود و شیب منحنی نشان می‌دهد که اثر اتیل اولئات بیشتر از نمک طعام است؛ بطوریکه در تیماری با غلظت ۴٪ اتیل اولئات و ۰٪ نمک مقدار ترکیبات فنلی دارای ۹۲/۵۸ بوده در حالیکه عکس این غلظت‌ها به میزان ۵۸/۴۸ بوده که تقریباً اثر نمک طعام نصف اثر اتیل اولئات بوده است. مطابق شکل (۷-ب) با توجه به اثر بیشتر اتیل اولئات مشاهده می‌گردد که با افزایش سطوح محلول اتیل اولئات و افزایش میزان کلریدسدیم مقدار ترکیب فنلی باقی‌مانده دارای حداکثر مقدار هستند.

پیش‌بینی شده توسط مدل وجود داشت ( $R^2 = 0.9903$ ) و همچنین میزان  $\text{adj-}R^2$  (ضریب تبیین تعدیل شده) محاسبه شده برای مدل، ۰/۹۸۳۴ می‌باشد که می‌توان نتیجه گرفت که نتایج حاصل با مدل آزمایشی مورد استفاده مطابقت دارد.

در ادامه با بکارگیری آنالیز رگرسیون مدل درجه دوم در داده‌های آزمایشی برای پیش‌بینی رابطه بین متغیرهای مستقل و متغیر وابسته پس از حذف ضرایب بی‌معنی و در سطح ۹۵ درصد رابطه (۱۱) توسط نرم‌افزار دیزاین اکسپرت ارائه شده است. رابطه (۱۱) نیز نشان داد که جملات مربوط به اثرات درجه اول، تأثیر مثبت محلول اتیل اولئات ( $X_1$ ) و محلول کلریدسدیم ( $X_2$ ) بر میزان مواد فنلی در نمونه‌های آنزیم‌بری نشده داشتند و جملات مربوط به اثر درجه دوم  $X_1^2$  و اثر متقابل ( $X_1X_2$ ) تأثیر منفی بر میزان مواد فنلی در نمونه‌های آنزیم‌بری نشده داشت.

(رابطه ۱۱)

$$Y = 35.4595 + 18.7999 X_1 + 6.8257 X_2 - 1/1579 X_1^2 - 1/1312 X_1X_2$$



شکل ۷- اثر متقابل محلول اتیل اولئات و کلریدسدیم بر میزان ترکیبات فنلی نمونه‌های آنزیم‌بری نشده با استفاده از: (الف) نمودار کانتور دو بعدی؛ و (ب) نمودار سطح پاسخ سه بعدی

Fig. 7- The interaction of ethyl oleate and sodium chloride solution on the phenolic compounds content of non-blanchd samples: a) two-dimensional line diagram. and (b) 3D response surface plot.

آنزیم‌بری شده و خشک شده، معنی‌دار بودن مدل ( $p < 0.05$ ) و عدم معنی‌دار بودن عدم برازش ( $p > 0.05$ ) نشان دهنده توانایی خوب مدل موجود در برازش داده‌های تجربی این آزمایش است. مطابق با آنالیز آماری از بین متغیرهای تأثیرگذار بر میزان مواد فنلی، اثر خطی محلول اتیل اولئات ( $X_1$ ) و کلریدسدیم ( $X_2$ )، همچنین جملات مربوط به اثر

اثر پیش‌تیمارهای مختلف بر میزان مواد فنلی کل در نمونه‌های آنزیم‌بری شده

از تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها به‌منظور تعیین مناسب بودن مدل تجربی بکار رفته (مدل درجه دوم)، استفاده شد. نتایج اثرات مستقل و متقابل پیش‌تیمارهای مختلف را بر میزان مواد فنلی در نمونه‌های

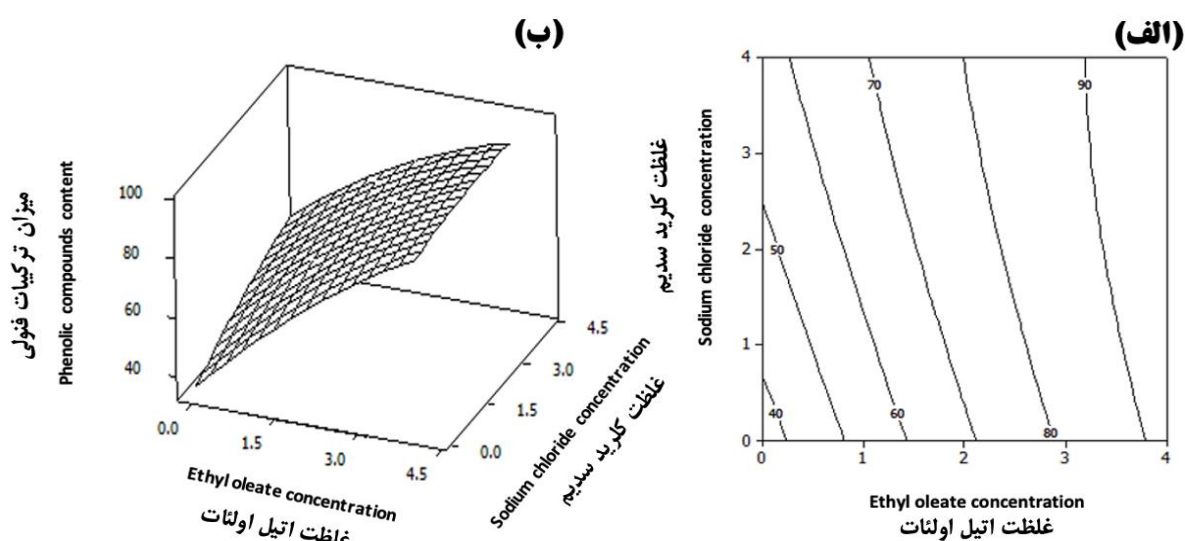
$$Y = 26/0.994 + 2/6949 X_1 - 0/7344 X_2 - 0/0935 X_1^2 + 0/1091 X_1 X_2$$

Y: اسیدآسکوربیک؛  $X_1$ : محلول اتیل اولئات؛  $X_2$ : محلول کلرید سدیم.

**شکل ۸** اثر متقابل غلظت محلول اتیل اولئات و کلرید سدیم بر میزان ترکیبات فنولی نمونه‌های آنزیم‌بری و خشک شده را نشان می‌دهد. همانطور که در شکل (الف) و (ب-۸) مشاهده می‌شود با افزایش غلظت محلول اتیل اولئات به ۴٪ و محلول کلرید سدیم از ۰ تا ۴٪ میزان ترکیبات فنولی باقی‌مانده در نمونه‌های تیمار شده افزایش می‌یابد. ضمن اینکه میزان تأثیر اتیل اولئات به مراتب بیشتر از نمک طعام بوده و کمترین میزان ترکیبات فنولی باقی‌مانده مربوط به تیمار کنترل بوده است. مقایسه اثر آنزیم‌بری و عدم انجام آنزیم‌بری در میزان ترکیبات فنولی باقی‌مانده نشان داد در تمامی نمونه‌های آنزیم‌بری شده ترکیبات فنولی کمتری نسبت به نمونه‌های آنزیم‌بری نشده وجود دارند؛ چرا که حرارت آنزیم‌بری موجب تخریب مواد مغذی می‌شود. با این حال ترکیبات فنولی نسبت به ویتامین ث، در برابر حرارت مقاوم‌تر هستند و تحت فرآیند آنزیم‌بری کمتر آسیب می‌بینند.

درجه دوم  $X_1^2$  و اثرات متقابل ( $X_1 X_2$ ) بر میزان مواد فنولی اثر معنی داری داشتند ( $p < 0/05$ ). همبستگی بالایی در استفاده از غلظت‌های محلول اتیل اولئات و کلرید سدیم بین اعداد حاصل از آزمایش و اعداد پیش‌بینی شده توسط مدل وجود داشت ( $R^2 = 0/9927$ ) و همچنین میزان  $\text{adj-R}^2$  (ضریب تبیین تعدیل شده) محاسبه شده برای مدل، ۰/۹۸۷۴ می‌باشد که می‌توان نتیجه گرفت که نتایج حاصل با مدل آزمایشی مورد استفاده مطابقت دارد.

با بکارگیری آنالیز رگرسیون مدل درجه دوم در داده‌های آزمایشی برای پیش‌بینی رابطه بین متغیرهای مستقل و متغیر وابسته پس از حذف ضرایب بی‌معنی و در سطح ۹۵ درصد رابطه (۱۲) توسط نرم‌افزار دیزاین اکسپرت ارائه شده است. رابطه (۱۲) نیز نشان داد که جملات مربوط به اثرات درجه اول، تأثیر مثبت محلول اتیل اولئات ( $X_1$ ) و تأثیر منفی محلول کلرید سدیم ( $X_2$ ) بر میزان مواد فنولی در نمونه‌های آنزیم‌بری شده داشتند و جملات مربوط به اثر درجه دوم  $X_1^2$ ، تأثیر منفی و اثر متقابل ( $X_1 X_2$ )، تأثیر مثبت بر میزان مواد فنولی در نمونه‌های آنزیم‌بری شده داشت. (رابطه ۱۲)



شکل ۸- اثر متقابل محلول اتیل اولئات و کلرید سدیم بر میزان ترکیبات فنولی نمونه‌های آنزیم‌بری شده با استفاده از: (الف) نمودار کانتور دو بعدی؛ و (ب) نمودار سطح پاسخ سه بعدی

Fig. 8- The interaction of ethyl oleate and sodium chloride solution on the phenolic compounds content of blanched samples: a) two-dimensional line diagram, and (b) 3D response surface plot

اثر پیش تیمارهای مختلف بر میزان کلروفیل در نمونه‌های آنزیم‌بری نشده

میزان کلروفیل

و محلول کلریدسدیم ( $X_2$ ) بر میزان کلروفیل در نمونه‌های آنزیم‌بری نشده داشتند و جملات مربوط به اثر درجه دوم  $X_1^2$  تأثیر منفی و اثر درجه دوم  $X_2^2$  تأثیر مثبت، و اثر متقابل ( $X_1X_2$ ) تأثیر منفی بر میزان کلروفیل در نمونه‌های آنزیم‌بری نشده داشت.

(رابطه ۱۳)

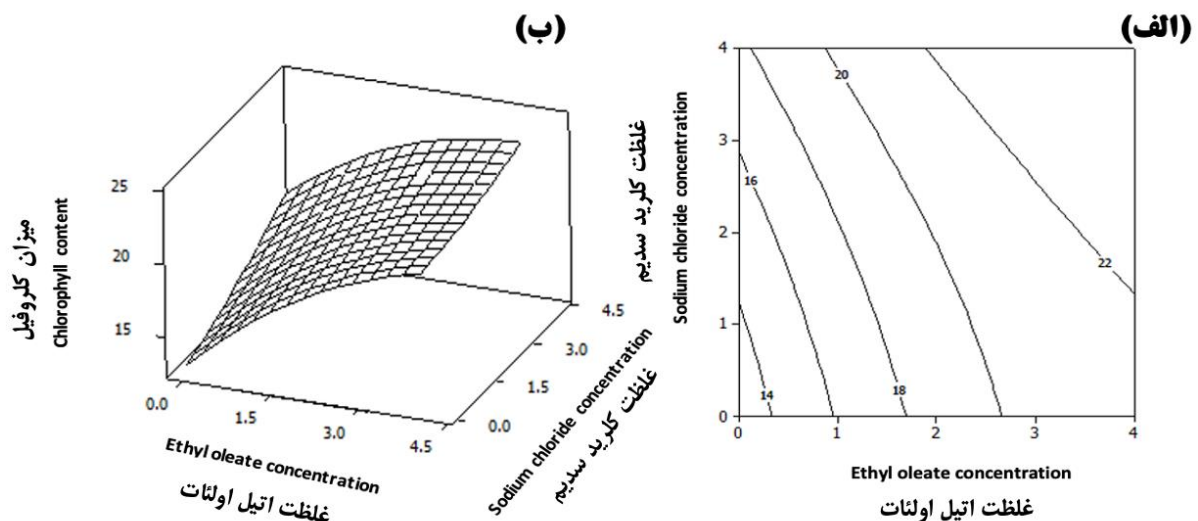
$$Y = 12/7661 + 3/7426 X_1 + 0/8810 X_2 - 0/3827 X_1^2 + 0/844 X_2^2 - 0/1756 X_1X_2$$

Y: کلروفیل؛  $X_1$ : محلول اتیل‌اولئات؛  $X_2$ : محلول کلریدسدیم.

**شکل ۹** اثر متقابل غلظت محلول اتیل‌اولئات و کلریدسدیم بر میزان ترکیبات فنولی نمونه‌های آنزیم‌بری نشده و خشک شده تحت خلأ را نشان می‌دهد. مطابق با شکل (۹-الف) بیشترین مقدار (۲۳/۶) کلروفیل باقی‌مانده در نمونه‌های پیش تیمار شده با غلظت ۴٪ اتیل اولئات و ۴٪ نمک طعام می‌باشد و کمترین مقدار مربوط به نمونه‌های کنترل با میزان ۱۲/۹ می‌باشد. شیب منحنی نشان می‌دهد که اثر اتیل‌اولئات به مراتب بیشتر از نمک طعام است. همچنین در شکل (۹-ب) مشاهده گردید که تأثیر اتیل‌اولئات بیشتر از نمک طعام در میزان کلروفیل باقی‌مانده نمونه‌های آنزیم‌بری نشده و خشک شده است.

از تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها به منظور تعیین مناسب بودن مدل تجربی بکار رفته (مدل درجه دوم)، استفاده شد. نتایج اثرات مستقل و متقابل پیش تیمارهای مختلف را بر میزان کلروفیل در نمونه‌های آنزیم‌بری نشده و خشک شده، معنی‌دار بودن مدل ( $p < 0/05$ ) و عدم معنی‌دار بودن عدم برازش ( $p > 0/05$ ) نشان دهنده توانایی خوب مدل موجود در برازش داده‌های تجربی این آزمایش است. مطابق با آنالیز آماری از بین متغیرهای تأثیرگذار بر میزان کلروفیل، اثر خطی محلول اتیل‌اولئات ( $X_1$ ) و کلریدسدیم ( $X_2$ )، همچنین جملات مربوط به اثرات درجه دوم  $X_1^2$  و  $X_2^2$  و اثرات متقابل ( $X_1X_2$ ) بر میزان کلروفیل اثر معنی‌داری داشتند ( $p < 0/05$ ). همبستگی بالایی در استفاده از غلظت‌های محلول اتیل‌اولئات و کلریدسدیم بین اعداد حاصل از آزمایش و اعداد پیش‌بینی شده توسط مدل وجود داشت ( $R^2 = 0/9969$ ) و همچنین میزان  $\text{adj-}R^2$  (ضریب تبیین تعدیل شده) محاسبه شده برای مدل، ۰/۹۹۴۸ می‌باشد که می‌توان نتیجه گرفت که نتایج حاصل با مدل آزمایشی مورد استفاده مطابقت دارد.

در ادامه با بکارگیری آنالیز رگرسیون مدل درجه دوم در داده‌های آزمایشی برای پیش‌بینی رابطه بین متغیرهای مستقل و متغیر وابسته پس از حذف ضرایب بی‌معنی و در سطح ۹۵ درصد رابطه (۱۳) توسط نرم‌افزار دیزاین اکسپرت ارائه شده است. رابطه (۱۳) نیز نشان داد که جملات مربوط به اثرات درجه اول، تأثیر مثبت محلول اتیل‌اولئات ( $X_1$ )



شکل ۹- اثر متقابل محلول اتیل‌اولئات و کلریدسدیم بر میزان کلروفیل نمونه‌های آنزیم‌بری نشده با استفاده از: (الف) نمودار کانتور دو بعدی؛ و (ب) نمودار سطح پاسخ سه بعدی

Fig. 9- The interaction of ethyl oleate and sodium chloride solution on the chlorophyll content of non-blached samples: a) two-dimensional line diagram, and (b) 3D response surface plot

### اثر پیش تیمارهای مختلف بر میزان کلروفیل در نمونه‌های آنزیم‌بری شده

از تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها به منظور تعیین مناسب بودن مدل تجربی بکار رفته (مدل درجه دوم)، استفاده شد. نتایج اثرات مستقل و متقابل پیش تیمارهای مختلف را بر میزان کلروفیل در نمونه‌های آنزیم‌بری شده و خشک شده، معنی‌دار بودن مدل ( $p < 0.05$ ) و عدم معنی‌دار بودن عدم برازش ( $p > 0.05$ ) نشان دهنده توانایی خوب مدل موجود در برازش داده‌های تجربی این آزمایش است. مطابق با آنالیز آماری از بین متغیرهای تأثیرگذار بر میزان کلروفیل، اثر خطی محلول اتیل اولئات ( $X_1$ ) و کلریدسدیم ( $X_2$ )، همچنین جملات مربوط به اثر درجه دوم  $X_1^2$  و اثرات متقابل ( $X_1X_2$ ) بر میزان کلروفیل اثر معنی‌داری داشتند ( $p < 0.05$ ). همبستگی بالایی در استفاده از غلظت‌های محلول اتیل اولئات و کلریدسدیم بین اعداد حاصل از آزمایش و اعداد پیش‌بینی شده توسط مدل وجود داشت ( $R^2 = 0.9904$ ) و همچنین میزان  $\text{adj-}R^2$  (ضریب تبیین تعدیل شده) محاسبه شده برای مدل،  $0.9836$  می‌باشد که می‌توان نتیجه گرفت که نتایج حاصل با مدل آزمایشی مورد استفاده مطابقت دارد.

با بکارگیری آنالیز رگرسیون مدل درجه دوم در داده‌های آزمایشی برای پیش‌بینی رابطه بین متغیرهای مستقل و متغیر وابسته پس از حذف ضرایب بی‌معنی و در سطح ۹۵ درصد رابطه (۱۴) توسط نرم‌افزار دیزاین اکسپرت ارائه شده است. رابطه (۱۴) نیز نشان داد که جملات مربوط به اثرات درجه اول، تأثیر مثبت محلول اتیل اولئات ( $X_1$ ) و محلول کلریدسدیم ( $X_2$ ) بر میزان کلروفیل در نمونه‌های آنزیم‌بری شده داشتند و جملات مربوط به اثر درجه دوم  $X_1^2$  و اثر متقابل ( $X_1X_2$ )، تأثیر منفی بر میزان کلروفیل در نمونه‌های آنزیم‌بری شده داشت.

(رابطه ۱۴)

$$Y = 9/93540 + 1/90489 X_1 + 1/10198 X_2 - 0/12183 X_1^2 - 0/17612 X_1X_2$$

Y: میزان کلروفیل؛  $X_1$ : محلول اتیل اولئات؛  $X_2$ : محلول کلریدسدیم.

**شکل ۱۰** اثر متقابل غوطه‌وری در غلظت‌های مختلف محلول اتیل اولئات و کلریدسدیم بر میزان کلروفیل نمونه‌های آنزیم‌بری شده و خشک شده را نشان می‌دهد. مطابق با شکل (۱۰-الف) بیشترین مقدار (۱۶/۹۸) کلروفیل باقی‌مانده در نمونه‌های آنزیم‌بری و پیش تیمار شده با غلظت ۴٪ اتیل اولئات و ۴٪ نمک طعام می‌باشد و کمترین مقدار مربوط به نمونه‌های کنترل با میزان ۹/۶ می‌باشد. همچنین مطابق شکل (۱۰-ب) با افزایش غلظت محلول اتیل اولئات و کلریدسدیم میزان کلروفیل نمونه‌ها افزایش می‌یابد.

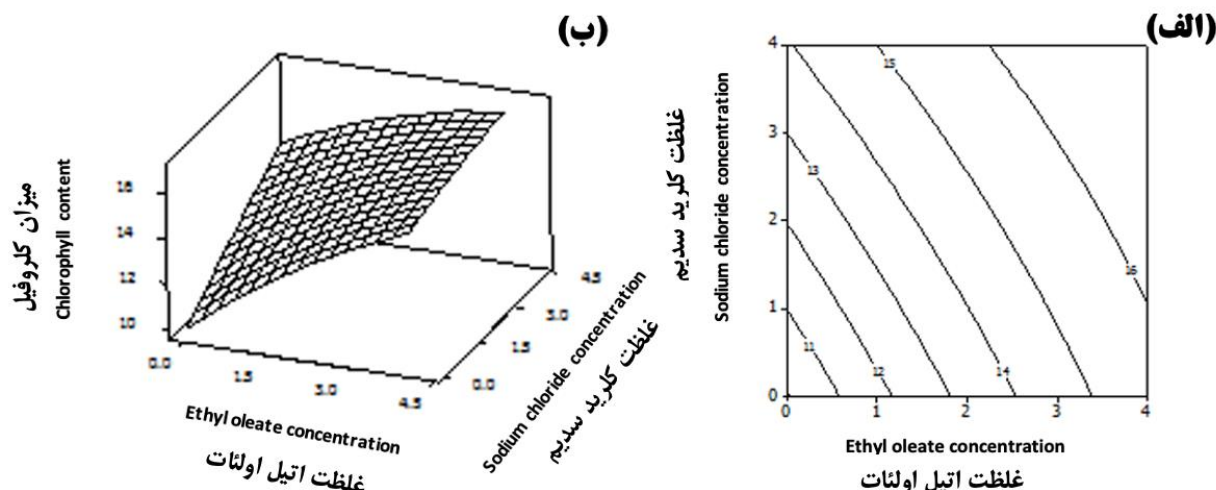
گرما و اکسیداسیون طی خشک کردن باعث ایجاد تغییرات شیمیایی در رنگدانه‌های کلروفیل و کارتنوئیدها می‌شود. معمولاً زمان‌های طولانی‌تر و درجه حرارت بالاتر خشک کردن اتلاف بیشتر رنگدانه‌ها را به همراه دارد. اعداد بدست آمده برای میزان کلروفیل نشان می‌دهد که محدوده تغییرات بسیار گسترده نمی‌باشد که این نشان دهنده مقاومت کلروفیل در مقابل فرآیندهای انجام یافته می‌باشد. بطور کلی محلول اتیل اولئات به میزان چشمگیری سرعت خشک کردن را افزایش داده در نتیجه نمونه کمتر در معرض دمای بالای خشک کردن قرار گرفته و مقدار بیشتری از رنگدانه کلروفیل خود را حفظ می‌کند.

بطور کلی روند تغییرات کلروفیل هم در نمونه‌های آنزیم‌بری شده و هم نمونه‌های آنزیم‌بری نشده در محدوده کمتری صورت می‌گیرد، ولی در مقایسه اعمال فرآیند آنزیم‌بری موجب تخریب رنگدانه سبز کلروفیل و تبدیل آن به فئوفیتین و زیتونی و تیره شدن رنگ فلفل می‌گردد بنابراین در مقایسه با نمونه‌های آنزیم‌بری نشده مقدار کلروفیل کمتری باقی می‌ماند.

### تغییرات رنگ

#### اثر پیش تیمارهای مختلف بر میزان تغییرات رنگ در نمونه‌های آنزیم‌بری نشده

از تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها به منظور تعیین مناسب بودن مدل تجربی بکار رفته (مدل درجه دوم)، استفاده شد. نتایج اثرات مستقل و متقابل پیش تیمارهای مختلف را بر میزان تغییرات رنگ در نمونه‌های آنزیم‌بری نشده و خشک شده، معنی‌دار بودن مدل ( $p < 0.05$ ) و عدم معنی‌دار بودن عدم برازش ( $p > 0.05$ ) نشان دهنده توانایی خوب مدل موجود در برازش داده‌های تجربی این آزمایش است. مطابق با آنالیز آماری از بین متغیرهای تأثیرگذار بر میزان تغییرات رنگ، اثر خطی محلول اتیل اولئات ( $X_1$ ) و کلریدسدیم ( $X_2$ )، همچنین جملات مربوط به اثرات درجه دوم  $X_1^2$  و  $X_2^2$  بر میزان تغییرات رنگ اثر معنی‌داری داشتند ( $p < 0.05$ ). با توجه نتایج آنالیز اثرات متقابل ( $X_1X_2$ ) بر میزان تغییرات رنگ اثر معنی‌داری نداشتند ( $p > 0.05$ ). همبستگی بالایی در استفاده از غلظت‌های محلول اتیل اولئات و کلریدسدیم بین اعداد حاصل از آزمایش و اعداد پیش‌بینی شده توسط مدل وجود داشت ( $R^2 = 0.9996$ ) و همچنین میزان  $\text{adj-}R^2$  (ضریب تبیین تعدیل شده) محاسبه شده برای مدل،  $0.9993$  می‌باشد که می‌توان نتیجه گرفت که نتایج حاصل با مدل آزمایشی مورد استفاده مطابقت دارد.



شکل ۱۰- اثر متقابل محلول اتیل اولئات و کلرید سدیم بر میزان کلروفیل نمونه‌های آنزیم‌بری شده با استفاده از: (الف) نمودار کانتور دو بعدی؛ و (ب) نمودار سطح پاسخ سه بعدی

Fig. 10- The interaction of ethyl oleate and sodium chloride solution on the chlorophyll content of blanched samples: a) two-dimensional line diagram. and (b) 3D response surface plot

خشک کردن، خصوصیات سطحی ماده غذایی را تغییر می‌دهد. در نتیجه خاصیت انعکاس نور و رنگ نیز تغییر می‌کند. نمونه‌های پیش تیمار شده با محلول اتیل اولئات رنگ روشن‌تر و شفاف‌تری از سایر نمونه‌ها دارند. مطابق نتایج حاصل از تحقیقات دویماز و پالا (Doymaz and Pala, 2002) که بر روی فلفل قرمز انجام گردیده به وضوح افزایش ۱۶ درصد در روشنایی و ۸۰/۸ درصد در شدت رنگ قرمز برای نمونه‌های غوطه‌ور شده در محلول ۲ درصد اتیل اولئات و ۵ درصد کربنات پتاسیم مشاهده شده است.

#### اثر پیش‌تیمارهای مختلف بر میزان تغییرات رنگ در نمونه‌های آنزیم‌بری شده

از تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها به منظور تعیین مناسب بودن مدل تجربی بکار رفته (مدل درجه دوم)، استفاده شد. نتایج اثرات مستقل و متقابل پیش‌تیمارهای مختلف را بر میزان تغییرات رنگ در نمونه‌های آنزیم‌بری شده و خشک شده، معنی‌دار بودن مدل ( $p < 0.05$ ) و عدم معنی‌دار بودن عدم برازش ( $p > 0.05$ ) نشان دهنده توانایی خوب مدل موجود در برازش داده‌های تجربی این آزمایش است. مطابق با آنالیز آماری از بین متغیرهای تأثیرگذار بر میزان تغییرات رنگ، اثر خطی محلول اتیل اولئات ( $X_1$ ) و کلرید سدیم ( $X_2$ )، همچنین جملات مربوط به اثر درجه دوم  $X_2^2$  و اثر متقابل ( $X_1X_2$ ) بر میزان تغییرات رنگ اثر معنی‌داری داشتند ( $p < 0.05$ ).

در ادامه با بکارگیری آنالیز رگرسیون مدل درجه دوم در داده‌های آزمایشی برای پیش‌بینی رابطه بین متغیرهای مستقل و متغیر وابسته پس از حذف ضرایب بی‌معنی و در سطح ۹۵ درصد رابطه (۱۵) توسط نرم‌افزار دیزاین اکسپرت ارائه شده است. رابطه (۱۵) نیز نشان داد که جملات مربوط به اثرات درجه اول، تأثیر مثبت (کاهش تغییرات رنگ) محلول اتیل اولئات ( $X_1$ ) و محلول کلرید سدیم ( $X_2$ ) بر میزان تغییرات رنگ در نمونه‌های آنزیم‌بری نشده داشتند و جملات مربوط به اثر درجه دوم  $X_1^2$  تأثیر منفی (افزایش تغییرات رنگ) و اثر درجه دوم  $X_2^2$  تأثیر مثبت (کاهش تغییرات رنگ)، و اثر متقابل ( $X_1X_2$ ) تأثیر مثبت (کاهش تغییرات رنگ) بر میزان تغییرات رنگ در نمونه‌های آنزیم‌بری نشده داشت.

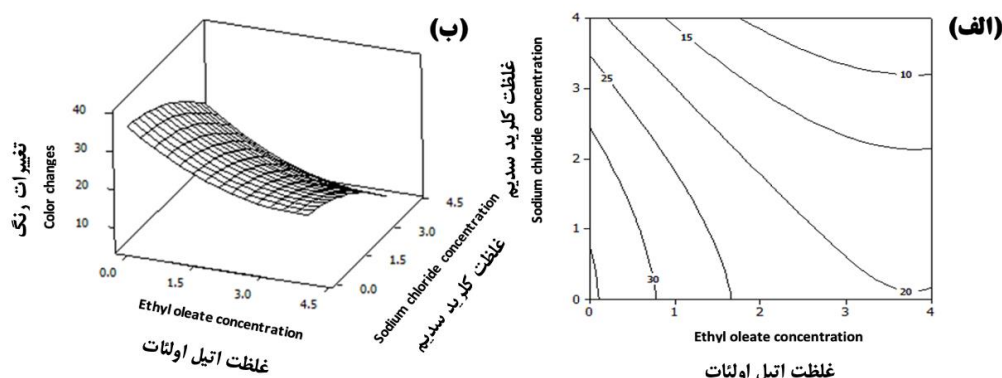
(رابطه ۱۵)

$$Y = 35/8953 - 8/4154 X_1 - 0/5937 X_2 + 1/1205 X_1^2 - 0/7375 X_2^2 - 0/0563 X_1X_2$$

Y: تغییرات رنگ؛  $X_1$ : محلول اتیل اولئات؛  $X_2$ : محلول کلرید سدیم.

شکل ۱۱ اثر غوطه‌وری در غلظت‌های مختلف محلول کلرید سدیم و اتیل اولئات بر تغییرات رنگ نمونه‌های خشک شده فلفل دلمه‌ای را نشان می‌دهد. مطابق با شکل (۱۱-الف) بیشترین تغییرات رنگ مربوط به نمونه کنترل با میزان ۳۶/۰۱ و کمترین میزان تغییرات رنگ مربوط به نمونه‌ای با میزان ۴٪ اتیل اولئات و ۴٪ نمک طعام با مقدار ۴/۹۴ می‌باشد. در شکل (۱۱-ب) مشاهده گردید که با افزایش غلظت محلول کلرید سدیم و اتیل اولئات تغییرات رنگ نسبت به نمونه کنترل که در همان شرایط بدون پیش‌تیمار خشک گردیده کاهش می‌یابد.





شکل ۱۱- اثر متقابل محلول اتیل اولئات و کلرید سدیم بر میزان تغییرات رنگ نمونه‌های آنزیم‌بری نشده با استفاده از: (الف) نمودار کانتور دو بعدی؛ و (ب) نمودار سطح پاسخ سه بعدی

Fig. 11- The interaction of ethyl oleate and sodium chloride solution on the chlorophyll content of non-blanch samples: a) two-dimensional line diagram. and (b) 3D response surface plot

نمونه‌هایی با غلظت ۴٪ اولئات و ۰٪ نمک طعام با میزان تغییرات رنگ ۲۸ و نمونه‌ای با میزان غلظت ۰٪ اولئات و ۴٪ نمک طعام دارای مقداری برابر با ۳۱/۵۲ است. همچنین با توجه به شکل (۱۲-ب) با افزایش غلظت محلول اتیل اولئات و کلرید سدیم کاهش تغییرات رنگ نمونه‌ها نسبت به نمونه کنترل مشاهده گردید.

در مطالعه‌ای که توسط زیرجانی و توکلی پور (Zirjani and Tavakolipour, 2010) در مورد تأثیر پیش‌فرآیندهای مختلف بر خشک کردن موز توسط مایکروویو انجام شد، مشاهده نتایج نشان داد که تحت شرایط مشابه برش‌های تیمار شده نسبت به برش‌های تیمار نشده تغییر رنگ کمتری را نشان می‌دهند. تیمار متابی سولفیت سدیم با آنزیم‌های تغییر دهنده رنگ و عوامل ایجاد کننده رنگ در قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی واکنش داده و از ایجاد رنگ جلوگیری می‌کند و نیز اسیدآسکوربیک و اسید سیتریک به ترتیب با مصرف سریع اکسیژن و کاهش pH باعث غیرفعال شدن آنزیم‌ها می‌شوند. مقایسه عمل آنزیم‌بری با عدم انجام عمل آنزیم‌بری نشان می‌دهد که آنزیم‌بری باعث تیره شدن رنگ اولیه نمونه‌ها می‌گردد. به عبارتی انجام پیش تیمار آنزیم‌بری قبل از خشک کردن، باعث افزایش سرعت خشک کردن می‌شود، یعنی در زمان ثابت خشک کردن رطوبت بیشتری از نمونه‌ها خارج می‌گردد بنابراین در تمامی موارد نمونه‌های آنزیم‌بری نشده از رنگ مطلوب‌تری نسبت به نمونه‌های آنزیم‌بری شده برخوردارند. آلامورا و همکاران (Alzamora et al., 2000) (در پژوهش خود نشان داد که در میوه‌های با رنگ روشن‌تر، به دلیل خارج شدن هوا از بافت در مرحله خلأ و کاهش غلظت اکسیژن حساسیت نسبت به قهوه‌ای شدن آنزیمی کاهش یافته و میوه‌ها رنگ طبیعی‌تری خواهند داشت.

با توجه نتایج آنالیز اثر درجه دوم  $X_1^2$  بر میزان تغییرات رنگ معنی‌داری نداشتند ( $p > 0.05$ ). همبستگی بالایی در استفاده از غلظت های محلول اتیل اولئات و کلرید سدیم بین اعداد حاصل از آزمایش و اعداد پیش‌بینی شده توسط مدل وجود داشت ( $R^2 = 0.9995$ ) و همچنین میزان  $adj-R^2$  (ضریب تبیین تعدیل شده) محاسبه شده برای مدل، ۰/۹۹۹۱ می‌باشد که می‌توان نتیجه گرفت که نتایج حاصل با مدل آزمایشی مورد استفاده مطابقت دارد.

در ادامه با بکارگیری آنالیز رگرسیون مدل درجه دوم در داده‌های آزمایشی برای پیش‌بینی رابطه بین متغیرهای مستقل و متغیر وابسته پس از حذف ضرایب بی‌معنی و در سطح ۹۵ درصد رابطه (۱۶) توسط نرم‌افزار دیزاین اکسپرت ارائه شده است. رابطه (۱۶) نیز نشان داد که جملات مربوط به اثرات درجه اول، تأثیر مثبت (کاهش تغییرات رنگ) محلول اتیل اولئات ( $X_1$ ) و محلول کلرید سدیم ( $X_2$ ) بر میزان تغییرات رنگ در نمونه‌های آنزیم‌بری شده داشتند و جملات مربوط به اثر درجه دوم  $X_2^2$  و اثر متقابل ( $X_1X_2$ ) تأثیر منفی (افزایش تغییرات رنگ) بر میزان تغییرات رنگ در نمونه‌های آنزیم‌بری شده داشت.

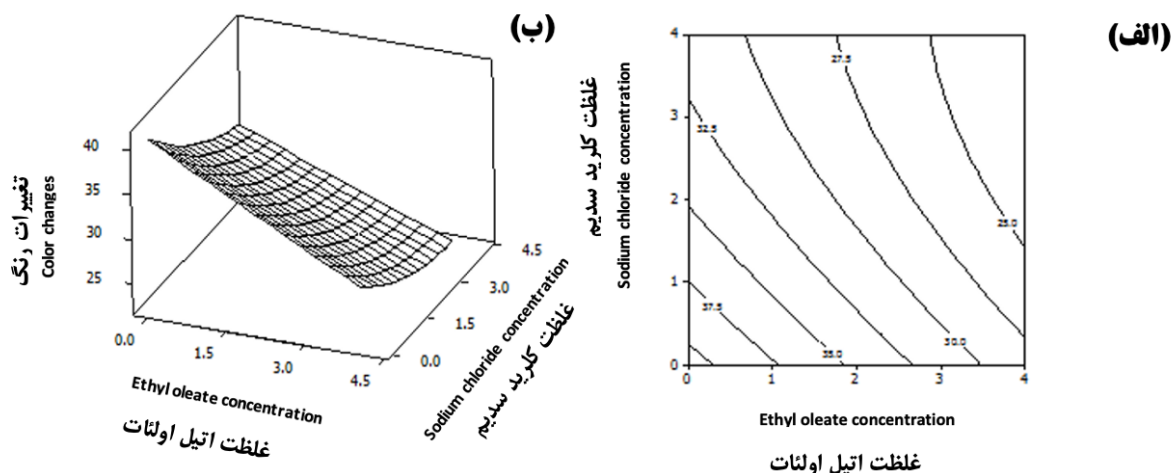
(رابطه ۱۶)

$$Y = 40.9054 - 3.2482 X_1 - 3.7694 X_2 + 0.3597 X_2^2 + 0.2174 X_1X_2$$

Y: تغییرات رنگ؛  $X_1$ : محلول اتیل اولئات؛  $X_2$ : محلول کلرید سدیم.

مطابق شکل ۱۲ افزایش غلظت محلول اتیل اولئات و کلرید سدیم باعث کاهش تغییرات رنگ نمونه‌ها نسبت به نمونه کنترل می‌شوند؛ با توجه به شکل (۱۲-الف) شیب نمودار اثر کلرید سدیم در کاهش رنگ بیشتر از اثر اتیل اولئات می‌باشد که مقایسه نمونه با غلظت ۴٪ اتیل اولئات و ۴٪ نمک طعام دارای کمترین تغییرات رنگ بوده و مقایسه





شکل ۱۲- اثر متقابل غلظت محلول اتیل اولئات و کلرید سدیم بر تغییرات رنگ نمونه‌های آنزیم‌بری شده با استفاده از: (الف) نمودار کانتور دو بعدی؛ و (ب) نمودار سطح پاسخ سه بعدی

Fig. 10- The interaction of ethyl oleate and sodium chloride solution on the chlorophyll content of blanched samples: a) two-dimensional line diagram, and (b) 3D response surface plot

نتایج بدست آمده با تابعیت مطلوب، مورد ارزیابی قرار گرفتند که تابعیت مطلوب بالاتر از ۰/۷ بیانگر شرایط بهینه است. جدول ۴ نتایج بهینه سازی گروه آنزیم‌بری شده را با حداکثر مطلوبیت نشان می‌دهد و همانطور که مشاهده می‌گردد با استفاده از غلظت محلول ۴٪ اتیل اولئات و ۴٪ کلرید سدیم مطلوبیت کل پارامترها با میزان ۰/۹۹۶۱ مؤید شرایط بهینه‌سازی می‌باشد.

#### بهینه‌سازی

مدل‌های برازش استفاده شده برای جهت بهینه‌سازی در نمونه‌های تیمار شده با غلظت‌های متفاوت محلول اتیل اولئات و کلرید سدیم، نمونه‌هایی که دارای بیشترین مقدار کلروفیل، اسیدآسکوربیک، ترکیبات فنولی و کمترین میزان تغییرات رنگ را دارا بودند در نظر گرفته شد.

جدول ۴- ویژگی‌های بهینه مدل انتخاب شده در دو گروه آنزیم‌بری شده و آنزیم‌بری نشده

Table 4- The optimal characteristics of the selected model in two groups of blanched and non-blanched

| Factor<br>پارامتر                  | Blanched sample                | non-blanched sample            |
|------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|                                    | نمونه‌های آنزیم‌بری شده        | نمونه‌های آنزیم‌بری نشده       |
|                                    | the target limit<br>حد موردنظر | the target limit<br>حد موردنظر |
| Ascorbic acid<br>اسیدآسکوربیک      | 38.2781                        | 39.9294                        |
| Phenolic compounds<br>ترکیبات فنلی | 96.2959                        | 94.7895                        |
| Chlorophyll<br>کلروفیل             | 16.7804                        | 23.6784                        |
| Color changes<br>تغییرات رنگ       | 22.5464                        | 5.0852                         |
| Total acceptability<br>مطلوبیت کل  | 0.9961                         | 0.8832                         |

صورت مستقل و متقابل با استفاده از روش سطح پاسخ بر پارامترهای فیزیکی، شیمیایی و سینتیک خشک کردن نمونه‌های لعل دلمه‌ای، به شرح زیر می‌باشد:

#### نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از بررسی اثر پیش تیمارهای آنزیم‌بری، غوطه‌وری در محلول کلرید سدیم و غوطه‌وری در محلول قلیایی اتیل اولئات، به

ث و کلروفیل در برابر حرارت مقاوم‌تر هستند و تحت فرآیند آنزیم‌بری کمتر آسیب می‌بینند. نتایج بدست آمده برای میزان کلروفیل نشان می‌دهد که محدوده تغییرات بسیار گسترده نبوده است. بطور کلی روند تغییرات کلروفیل هم در نمونه‌های آنزیم‌بری شده و هم نمونه‌های بدون آنزیم‌بری در محدوده کمتری صورت می‌گیرد.

مقایسه عمل آنزیم‌بری با عدم انجام عمل آنزیم‌بری نشان می‌دهد که آنزیم‌بری باعث تیره شدن رنگ اولیه نمونه‌ها می‌گردد. بنابراین در تمامی موارد نمونه‌های آنزیم‌بری نشده از رنگ مطلوب‌تری نسبت به نمونه‌های آنزیم‌بری شده برخوردارند.

در نهایت، بهینه‌سازی کل به منظور دستیابی به بهترین خاصیت کیفیتی در خشک کردن نمونه‌ها، تحت خلأ همراه با پیش تیمارهای اعمالی را این چنین نشان داد که نمونه‌های خشک شده تحت شرایط ثابت دما و فشار خشک کردن، نمونه‌های آنزیم‌بری شده و تیمار شده با غلظت ۴ درصد محلول اتیل‌اولئات و کلریدسدیم دارای مطلوب‌ترین کیفیت می‌باشند.

با توجه به منحنی‌های افت رطوبت نمونه‌های مورد آزمایش، در هیچ کدام از این منحنی‌ها دوره سرعت ثابت خشک کردن مشاهده نشد، از این رو کل فرآیند خشک کردن فلفل دلمه‌ای در محدوده سرعت نزولی اتفاق می‌افتد؛ که نشان‌دهنده اثر غالب مکانیسم نفوذپذیری بافت بر حرکت رطوبت ماده غذایی است. کاهش رطوبت در نمونه‌های آنزیم‌بری شده با سرعت بیشتری نسبت به نمونه‌های آنزیم‌بری نشده رخ می‌دهد. هم چنین در بررسی نتایج حاصله مشخص شد نمونه‌هایی که تحت تیمار غوطه‌وری در محلول اتیل‌اولئات قرار گرفته‌اند با سرعت و شدت بیشتری در دمای ثابت، خشک می‌شوند، بطوری که در نمونه‌های آنزیم‌بری شده و تیمار شده با غلظت ۴٪ اتیل‌اولئات و کلریدسدیم زمان خشک شدن حدود ۳/۵ ساعت بوده در صورتی که نمونه شاهد در طول مدت ۷/۵ ساعت تحت شرایط یکسان خشک گردید.

مقدار اسیدآسکوربیک، ترکیبات فنولی و کلروفیل باقی‌مانده در نمونه‌های آنزیم‌بری شده کمتر از نمونه‌های غیر آنزیم‌بری شده بود، علت این امر مربوط به دمای بالای فرآیند آنزیم‌بری بوده که موجب تخریب آن‌ها گردیده است. با این حال ترکیبات فنولی نسبت به ویتامین

## منابع

- Chemists, A. (1990). *Official Methods of Analysis: Changes in Official...* - Google Scholar. Supplement. Association of Official Analytical Chemists.
- Alzamora, S.M., Tapia, M.S., Leunda, A., Guerrero, S.N., Rojas, A.M., Gerschenson, L.N., & Parada-Arias, E. (2000). Minimal preservation of fruits: A cited project. *Trends in Food Engineering*, 205–225.
- Arévalo-Pinedo, A., & Murr, F.E.X. (2006). Kinetics of vacuum drying of pumpkin (*Cucurbita maxima*): Modeling with shrinkage. *Journal of Food Engineering*, 76(4), 562–567. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2005.06.003>
- Arévalo-Pinedo, A., & Xidieh Murr, F.E. (2007). Influence of pre-treatments on the drying kinetics during vacuum drying of carrot and pumpkin. *Journal of Food Engineering*, 80(1), 152–156. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2006.05.005>
- Balzarini, M.F., Reinheimer, M.A., Ciappini, M.C., & Scenna, N.J. (2018). Comparative study of hot air and vacuum drying on the drying kinetics and physicochemical properties of chicory roots. *Journal of Food Science and Technology*, 55(10), 4067–4078. <https://doi.org/10.1007/S13197-018-3333-5/METRICS>
- Cichowska, J., Żubernik, J., Czyżewski, J., Kowalska, H., & Witrowa-Rajchert, D. (2018). Efficiency of osmotic dehydration of apples in Polyols solutions. *Molecules*, 23(2), 446. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES23020446>
- Daood, H.G., Kapitány, J., Biacs, P., & Albrecht, K. (2006). Drying temperature, endogenous antioxidants and capsaicinoids affect carotenoid stability in paprika (red pepper spice). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(14), 2450–2457. <https://doi.org/10.1002/JSFA.2639>
- Demiray, E., & Çalışkan Koç, G. (2021). Effect of vacuum drying temperature and pressure on the drying and desorption characteristics, and lovastatin content of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) slices. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(3), e15301. <https://doi.org/10.1111/JFPP.15301>
- Doymaz, I. (2004). Effect of pre-treatments using potassium metabisulphide and alkaline ethyl oleate on the drying kinetics of apricots. *Biosystems Engineering*, 89(3), 281–287. <https://doi.org/10.1016/J.BIOSYSTEMSENG.2004.07.009>
- Doymaz, I. (2006). Drying kinetics of black grapes treated with different solutions. *Journal of Food Engineering*, 76(2), 212–217. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2005.05.009>
- Doymaz, I., & Ismail, O. (2010). Drying and rehydration behaviors of green bell peppers. *Food Science and Biotechnology*, 19(6), 1449–1455. <https://doi.org/10.1007/S10068-010-0207-7/METRICS>
- Doymaz, I., & Pala, M. (2002). Hot-air drying characteristics of red pepper. *Journal of Food Engineering*, 55(4), 331–335. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00110-3](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00110-3)

13. Kaymak-Ertekin, F. (2002). Drying and rehydrating kinetics of green and red peppers. *Journal of Food Science*, 67(1), 168–175. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.2002.TB11378.X>
14. Lee, J., Durst, R., & International, R.W. (2005). AOAC official method: total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method. *Ars.Usda.Gov*. Retrieved June 15, 2023, from <https://www.ars.usda.gov/research/publications/publication/?seqNo115=180292>
15. Lee, J.H., & Kim, H.J. (2009). Vacuum drying kinetics of Asian white radish (*Raphanus sativus* L.) slices. *LWT - Food Science and Technology*, 42(1), 180–186. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2008.05.017>
16. Marzuki, S.U., Pranoto, Y., Khumsap, T., & Nguyen, L.T. (2021). Effect of blanching pretreatment and microwave-vacuum drying on drying kinetics and physicochemical properties of purple-fleshed sweet potato. *Journal of Food Science and Technology*, 58(8), 2884–2895. <https://doi.org/10.1007/S13197-020-04789-5/METRICS>
17. Materska, M., & Perucka, I. (2005). Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), 1750–1756. <https://doi.org/10.1021/JF035331K>
18. Orikasa, T., Ono, N., Watanabe, T., Ando, Y., Shiina, T., & Koide, S. (2018). Impact of blanching pretreatment on the drying rate and energy consumption during far-infrared drying of Paprika (*Capsicum annuum* L.). *Food Quality and Safety*, 2(2), 97–103. <https://doi.org/10.1093/FQSAFE/FYY006>
19. Tunde-Akintunde, T.Y. (2010). Effect of pretreatment on drying time and quality of chilli pepper. *Journal of Food Processing and Preservation*, 34(4), 595–608. <https://doi.org/10.1111/J.1745-4549.2008.00360.X>
20. Vega-Gálvez, A., Di Scala, K., Rodríguez, K., Lemus-Mondaca, R., Miranda, M., López, J., & Perez-Won, M. (2009). Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties, antioxidant capacity, colour and total phenolic content of red pepper (*Capsicum annuum*, L. var. Hungarian). *Food Chemistry*, 117(4), 647–653. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2009.04.066>
21. Yam, K.L., & Papadakis, S.E. (2004). A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. *Journal of Food Engineering*, 61(1), 137–142. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00195-X](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00195-X)
22. Zirjani, L., & Tavakolipour, H. (2010). The effect of different pre-processes in the process of drying bananas by microwave. *Iranian Food Science and Technology*, 6(1), 58-67.



## The Effect of Non-thermal Plasma on Improvement of Functional Properties of Sorghum Starch

F. Shokrollahi<sup>1</sup>, F. Shahidi<sup>2\*</sup>, M.J. Varidi<sup>3</sup>, A. Koocheki<sup>4</sup>, F. Sohbatzadeh<sup>5</sup>

Received: 2021.06.14

Revised: 2021.07.27

Accepted: 2021.08.04

Available Online: 2021.09.15

### How to cite this article:

Shokrollahi, F., Shahidi, F., Varidi, M.J., Koocheki, A., & Sohbatzadeh, F. (2023). The effect of non-thermal plasma on improvement of functional properties of sorghum starch. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 19(2), 217-229. (In Persian with English abstract). <http://doi.org/10.22067/ifstrj.2021.70973.1062>

### Introduction

Sorghum is a valuable source of starch for human use, being a drought-tolerant cereal grain that contains a large amount of starch (approximately 70%). However, native sorghum starch has limited application in the food industry due to its poor functional properties. Modification of sorghum starch would overcome its shortcomings and tailor it to the targeted application. Among physical methods, non-thermal plasma is a novel method for starch modifications. Plasma is an ionized gas including electrons, atoms, ions, radicals, and quanta of electromagnetic radiation that affects the functional properties of starch. The effect of plasma on starch is influenced by apparatus type, treatment conditions (feed gas, time, and power), and the source of starch. Two main mechanisms of starch modification are known as cross-linking and oxidation together with depolymerization. Although the effect of plasma on many types of starch has been investigated, no research has yet been found on sorghum starch modification by non-thermal plasma. So, this investigation determines the effects of non-thermal plasma on sorghum starch to overcome the deficiency of the native form and to explore wider applications for sorghum starch.

### Materials and Methods

Sorghum starch was extracted by alkaline steeping and purified using toluene-salt-water treatment. Dielectric Barrier Discharge (DBD) plasma was performed to modify sorghum starch. The applied DBD plasma setup consisted of two flat rectangular aluminum electrodes with the dimension of 6.5×45 cm and 7×18 cm and an electrode distance of 3 and 6 mm for air and argon plasma, respectively. Each of the electrodes was covered with a mica sheet as a dielectric barrier. DBD reactor was supplied with alternating current (AC). The frequency was adjusted to 375 Hz. Starch samples were treated for 1, 10, and 20 min at 23 kV at atmospheric pressure. The amylose content of sorghum starch was determined by iodine binding colorimetry. Evaluation of other chemical parameters including protein, lipid, ash, and moisture was carried out according to AAC methods. The clarity was determined using a spectrophotometer at 650 nm. The swelling and solubility of 1.5% sorghum starch suspension (at 55, 65, 75, and 85 °C) were measured using the centrifuge method. The centrifuge-filtration method was performed to evaluate freeze-thaw stability of sorghum starches up to 4 cycles.

### Results and Discussion

Chemical parameters showed that the extracted sorghum starch was purified. The amount of protein, lipid, ash, and amylose was 0.39, 0.15, 0.59, and 29.23%, respectively. Plasma caused significant altering in sorghum starch properties. Compared to the argon plasma, the air plasma was more effective at increasing the clarity, solubility, and

1, 2, 3 and 4- Former Ph.D. Student and Professors, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, respectively.

(\* - Corresponding Author Email: [fshahidi@um.ac.ir](mailto:fshahidi@um.ac.ir))

5- Professor, Department of Atomic and Molecular Physics, Faculty of Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

DOI: [10.22067/ifstrj.2021.70973.1062](http://doi.org/10.22067/ifstrj.2021.70973.1062)

freeze-thaw stability. Increasing the time of treatment also improved the above-mentioned functional properties. The clarity of native starch (14.02%) was increased to 56.10% for the sample treated with air plasma for 20 min, probably due to intense oxidation and depolymerization of starch molecules. While the lowest clarity (13.07%) belonged to the 1-min argon plasma treated sample, this value was improved with increasing time of treatment. Probably cross-linked bonds were predominantly formed during the first minute of argon plasma treatment, resulting in a reduction of paste clarity, while a competitive depolymerization and oxidation reaction could be a reason for the increase of paste clarity. Solubility was increased for all treatments (except for argon-1 min). The highest solubility in each of the temperatures was found for 20 min air plasma treated sample. Depolymerization of starch molecules under plasma treatment produces low molecular weight fragments which leach out easily and increase solubility. The swelling power of 20 min air plasma treated starch was lower than that of native starch, probably due to the structural disintegration. Other samples had higher swelling power. The lower freeze-thaw stability of 1 and 10 min argon plasma treated samples may be due to cross-linking which increase retrogradation. The 20 min air-plasma treated sample had higher stability than other samples in 3 and 4th cycles of freeze-thawing. The freeze-thawing stability of other samples was similar to that of the native starch.

### Conclusion

Non-thermal plasma treatment improved the functional properties of sorghum starch. The best results were detected for the sample treated with air plasma for 20 min. Cross-linking may be the main reaction in the first minute of argon-plasma treatment. However, this mechanism was suppressed in a longer treatment time. It may also be stated that the effect of oxidation along with depolymerization was predominant in air-plasma treatment.

**Keywords:** Argon plasma, Clarity, Freeze-thaw stability, Solubility

## مقاله پژوهشی

# اثر پلاسمای غیرحرارتی بر بهبود ویژگی‌های عملکردی نشاسته سورگوم

فاطمه شکرالهی<sup>۱</sup> - فخری شهیدی<sup>۲\*</sup> - محمدجواد وریدی<sup>۳</sup> - آرش کوچکی<sup>۴</sup> - فرشاد صحبت‌زاده<sup>۵</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۲۴

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۵/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۱۳

## چکیده

سورگوم گیاهی مقاوم به خشکی است که با توجه به محتوای بالای نشاسته، منبع مناسبی برای استخراج نشاسته می‌باشد. اما ویژگی‌های ضعیف عملکردی نشاسته سورگوم، استفاده از آن را محدود می‌سازد. استفاده از پلاسمای غیرحرارتی به عنوان روشی نوپدید، می‌تواند سبب بهبود خواص عملکردی نشاسته از جمله شفافیت، حلالیت و پایداری در برابر انجماد-ذوب شود. از این رو، در این پژوهش، اثر متغیرهای تیمار پلاسمای شامل نوع گاز (هوا و آرگون) و زمان تیمار (۱، ۱۰ و ۲۰ دقیقه) بر شفافیت، حلالیت (در دماهای ۵۵، ۶۵، ۷۵ و ۸۵ درجه سلسیوس)، تورم (در دماهای ۵۵، ۶۵، ۷۵ و ۸۵ درجه سلسیوس)، پایداری در برابر انجماد-ذوب (در ۴ دوره متوالی) و سختی بافت ژل نشاسته سورگوم بررسی شد. نتایج نشان داد که پلاسمای هوا (در مقایسه با پلاسمای آرگون) و همچنین زمان‌های بیشتر تیمار (در مقایسه با زمان کم)، سبب بهبود شفافیت، حلالیت و پایداری در برابر انجماد-ذوب (در دوره دوم تا چهارم) شدند. مقدار شفافیت، حلالیت (در ۸۵ درجه سلسیوس)، تورم (در ۸۵ درجه سلسیوس) و پایداری در برابر انجماد-ذوب (در دوره چهارم) در نشاسته شاهد به ترتیب ۱۴/۰۲ درصد، ۱۶/۹۵ درصد، ۲۰/۶۶ گرم/گرم و ۵۶/۸۵ درصد بود که در نمونه هوا-۲۰ دقیقه به ۵۶/۱۰ درصد، ۷۰/۰۲ درصد، ۱۵/۶۷ گرم/گرم و ۴۹/۰۶ درصد و در نمونه آرگون-۲۰ دقیقه به ۱۷/۰۹ درصد، ۳۳/۴۷ درصد، ۲۳/۲۴ گرم/گرم و ۵۸/۳۰ درصد رسید. کمترین و بیشترین مقدار سختی بافت به ترتیب مربوط به نمونه‌های هوا-۲۰ دقیقه و آرگون ۱-دقیقه بودند. احتمالاً واکنش اصلی در پلاسمای هوا، اکسیداسیون و دپلمریزاسیون بوده، اما در پلاسمای آرگون در زمان ۱ دقیقه، اغلب اتصال عرضی رخ داده و پس از آن با افزایش زمان، اثر اکسیداسیون و دپلمریزاسیون بر اتصال عرضی غالب گردیده است.

**واژه‌های کلیدی:** پایداری به انجماد-ذوب، پلاسمای آرگون، حلالیت، شفافیت

## مقدمه

ویژگی‌های عملکردی مانند شفافیت، حلالیت و پایداری در برابر انجماد-ذوب، موجب محدودیت کاربرد نشاسته سورگوم می‌شود (Ehtiati, 2018). با اعمال تیمارهای مناسب و اصلاح نشاسته، علاوه بر رفع محدودیت‌ها می‌توان آن را برای اهداف صنعتی مورد نظر مناسب ساخت.

از میان روش‌های شیمیایی، فیزیکی و آنزیمی برای اصلاح نشاسته، روش‌های فیزیکی مورد توجه بیشتری قرار گرفته‌اند زیرا زمان و آب کمتری مصرف می‌کنند، آلودگی زیست محیطی ندارند، نیاز به مواد مصرفی گران‌قیمت ندارند و قابل کنترل و تکرارپذیر هستند. همچنین مصرف کنندگان نگرانی کمتری نسبت به این روش‌ها دارند. یکی از روش‌های فیزیکی که در سال‌های اخیر پژوهش‌های

سورگوم<sup>۶</sup> گیاهی مقاوم به خشکی است که علاوه بر هزینه پایین تولید، غنی از نشاسته می‌باشد (حاوی حدوداً ۷۰ درصد نشاسته). به همین جهت، منبعی مناسب برای استخراج نشاسته است. اما ضعف در

۱، ۲، ۳ - به ترتیب دانش‌آموخته دکتری و استادان، گروه علوم و صنایع غذایی،

دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(Email: fshahidi@um.ac.ir)

(\*) نویسنده مسئول:

۵ - استاد، گروه فیزیک اتمی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران،

بابلسر، ایران

DOI: 10.22067/ifstrj.2021.70973.1062

6- Sorghum



کاساوا و جو به چشم می‌خورد. اما در بررسی منابع انجام شده، پژوهشی در ارتباط با اصلاح ویژگی‌های عملکردی نشاسته سورگوم به وسیله پلاسما ی غیرحرارتی یافت نشد. بنابراین، با توجه به اهمیت اصلاح ویژگی‌های عملکردی نشاسته سورگوم از یک طرف، و توانایی پلاسما ی غیرحرارتی در اصلاح نشاسته‌ها از طرف دیگر، هدف از این پژوهش بهبود ویژگی‌های عملکردی نشاسته سورگوم با استفاده از پلاسما ی غیرحرارتی حاصل از گاز هوا و آرگون می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

سورگوم سفید لاین KDFGS9 از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد. مواد شیمیایی از شرکت مرک خریداری شدند. آرگون از نوع آزمایشگاهی و با خلوص ۹۹/۹ درصد از شرکت فرا فن گاز تهران تهیه گردید. دستگاه پلاسما از نوع تخلیه سد دی الکتریک<sup>۲</sup> (DBD) توسط گروه فیزیک اتمی و مولکولی دانشگاه مازندران ساخته شد.

## استخراج نشاسته سورگوم

استخراج نشاسته بر اساس روش اولایینکا و همکاران (Olayinka et al., 2013)، و با کمی تغییر طبق روش احتیاطی (Ehtiati, 2018)، انجام شد. پس از تمییز کردن و شستشوی دانه‌ها با آب، آب مقطر به میزان ۵ برابر وزن دانه‌ها به آن‌ها اضافه گردید. pH مخلوط آب و دانه‌ها در محدوده ۸/۵-۸ تنظیم و برای ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد. بعد از دور ریختن آب اضافی، دانه‌ها کاملاً با آب شستشو شدند. مقدار کمی آب مقطر به دانه‌ها اضافه و با خرد کردن آزمایشگاهی، خرد شدند. سوسپانسیون ایجاد شده از الک با مش ۱۰۰ عبور داده شد. ذرات باقیمانده روی الک مجدداً همراه با مقدار کمی آب مقطر خرد و از الک با قطر حفره ۷۵ میکرون عبور داده شدند. pH سوسپانسیون به ۸ رسانیده شد، و پس از هم زدن به مدت ۳۰ دقیقه، ۲ ساعت در دمای یخچال نگهداری شد تا نشاسته ته‌نشین شود. لایه شناور بالایی حذف و لایه ته‌نشین شده با آب مقطر مخلوط گردید. این مخلوط در شتاب ۸۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و سپس لایه شناور بالایی خالی شد. سپس لایه خاکستری رنگ بالایی که شامل فیبر، پروتئین و چربی است توسط اسپاتول و قاشقک حذف شد. آب مقطر به فالكون‌ها اضافه و پس از تکان دادن و معلق کردن لایه نشاسته، به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. مرحله اخیر سه بار تا عدم مشاهده لایه خاکستری تکرار گردید. در ادامه از روش ادکینز و گرینوو (Adkins and Greenwo, 1996)، برای افزایش خلوص نشاسته استفاده شد. نشاسته خالص شده در آون با

بسیاری را به خود اختصاص داده، پلاسما ی غیرحرارتی<sup>۱</sup> است (Thirumdas et al., 2017a).

پلاسما بعد چهارم ماده است که از گونه‌های فعالی مانند رادیکال های آزاد، الکترون‌ها، یون‌های مثبت و منفی، فرم‌های برانگیخته و تعداد زیادی مولکول‌های آزاد خنثی تشکیل شده است. پلاسما به دو دسته پلاسما ی دمای بالا یا حرارتی و پلاسما ی دمای پایین یا غیرحرارتی یا سرد تقسیم می‌شود. از پلاسما ی سرد می‌توان برای فراورده‌های حساس به حرارت استفاده نمود (Thirumdas et al., 2017a).

پلاسما به دو روش اصلی بر نشاسته اثر می‌گذارد: اتصال عرضی و اکسیداسیون توأم با دپلمیریزاسیون. رادیکال‌های آزاد و الکترون‌های پراترزی سبب اتصال زنجیره‌های نشاسته می‌شوند (Thirumdas et al., 2017a). اتصال عرضی در نشاسته‌های تیمار شده با پلاسما، با شکل‌گیری پیوند C-O-C میان دو واحد گلوکز و تولید یک مولکول آب رخ می‌دهد. درحالی‌که در روش‌های شیمیایی به دلیل استفاده از واسطه‌های شیمیایی (عامل X)، پیوند C-O-X-O-C به وجود می‌آید (Zou et al., 2004). واکنش اکسیداسیون از تبدیل گروه‌های هیدروکسیل متصل به کربن‌های شماره ۲، ۳ و ۶ به گروه کربونیل صورت می‌گیرد و می‌تواند تا تبدیل کربونیل به اسید کربوکسیلیک پیشروی کند. علاوه بر آن، ممکن است منجر به شکستن پیوند گلیکوزیدی در موقعیت C1 و تبدیل آن به گروه هیدروکسیل شود (دپلمیریزاسیون). البته در تیمار با پلاسما ی غیرحرارتی، معمولاً موقعیت C6 اکسیده می‌شود (Khorram et al., 2015). یون‌های پراترزی که در پلاسما وجود دارند سبب دپلمیریزاسیون زنجیره‌های آمیلوز و آمیلوپکتین می‌شوند. این امر حتی در سطوح پایین انرژی هم رخ می‌دهد. پلاسما ی غیرحرارتی از طریق مکانیسم‌های ذکر شده منجر به تغییر ویژگی‌های مختلف نشاسته می‌شود که این تغییرات بسته به پارامترهای پلاسما (نوع گاز، زمان و ولتاژ یا توان) و نوع نشاسته متفاوت است (Thirumdas et al., 2017a). ویژگی‌های عملکردی نشاسته‌های اصلاح شده توسط پلاسما ی غیرحرارتی تقریباً مشابه نشاسته‌های دارای اتصال عرضی و نشاسته‌های اکسید شده با مواد شیمیایی است. پژوهش‌های مختلفی برای بهبود ویژگی‌های نشاسته سورگوم با استفاده از روش‌های شیمیایی نظیر رقیق‌سازی با اسید، استیل‌اسیون و اکسیداسیون انجام شده است (Singh et al., 2012 & 2009; Ali and Hasnain, 2014; Olayinka et al., 2013). این درحالی است که در بین نشاسته‌های تیمار شده با پلاسما ی غیرحرارتی، انواع مختلف شامل گندم، برنج، ذرت، ذرت واکسی، ذرت با آمیلوز بالا، سیب‌زمینی، سیب‌زمینی شیرین، تاپیوکا،

همزن گردابی انجام شد و سپس لوله‌های حاوی نمونه در حمام آب با دماهای ۵۵، ۶۵، ۷۵ و ۸۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند و هر ۵ دقیقه یکبار به وسیله همزن گردابی یکنواخت شدند. پس از ۳۰ دقیقه حرارت‌دهی، لوله‌ها خارج و پس از خنک شدن، به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ g سانتریفوژ شدند. سوپرناتانت در پلیت با وزن معین تخلیه و در آن با دمای ۱۱۰ درجه سلسیوس تا رسیدن به وزن ثابت خشک گردید. وزن لایه ته‌نشین شده محاسبه و سپس حلالیت و قدرت تورم مطابق روابط ۱ و ۲ تعیین شدند (Ehtiyati, 2018).

مقادیر m1 تا m3 به ترتیب وزن نمونه اولیه نشاسته، مایع رویی خشک شده و لایه ته‌نشین شده هستند.

$$(۱) \quad \text{حلالیت} = \frac{m2 \times 100}{m1}$$

$$(۲) \quad \text{قدرت تورم} = \frac{m3}{m1 - m2}$$

#### پایداری در برابر انجماد-ذوب

طبق روش احتیاطی (Ehtiyati, 2018)، ابتدا نمونه‌های سوسپانسیون ۵٪ نشاسته در آب دیونیزه حاوی ۲۰۰ ppm سدیم آزید تهیه و پس از صرف ۳۰ دقیقه جهت آگیری، به مدت ۲۵ دقیقه در آب جوش حرارت دیدند. در این مدت، نمونه‌ها هر ۳ دقیقه به مدت حداقل ۳۰ ثانیه یکنواخت می‌شدند. سپس مقدار مشخصی از نمونه‌ها به ظروف درب‌دار پلاستیکی منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در فریزر منجمد گردیدند. تمامی نمونه‌ها از فریزر خارج شدند و رفع انجماد در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۲ ساعت انجام گرفت. سه عدد از نمونه‌ها سانتریفوژ، و سایر نمونه‌ها به فریزر برگردانده شدند. این عمل تا ۴ روز به صورت روزانه انجام پذیرفت. سینرسیس به روش سانتریفوژ-فیلتراسیون (شکل ۱) ارائه شده توسط کاروترین و همکاران (Charoenrein et al., 2008) اندازه‌گیری شد. به این منظور، به وسیله میله‌ای نازک، سوراخ‌هایی به قطر تقریباً ۱ میلی‌متر در کف تیوپ پلاستیکی ایجاد شد تا آب از آن‌ها عبور کند. کاغذ واتمن شماره ۴۱ در کف تیوپ پلاستیکی قرار گرفت و وزن تیوپ به همراه کاغذ ثبت شد (w1). سپس نمونه روی کاغذ صافی قرار داده شد و مجدداً وزن آن ثبت گردید (w2). درب تیوپ (که برای لوله سانتریفوژ هم مناسب بود) بسته شد و درون لوله سانتریفوژ با وزن مشخص (w3) قرار گرفت. نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در شتاب ۱۰۰ g سانتریفوژ شد (سانتریفوژ PECO do-16). ابتدا تیوپ درب‌دار خارج شد و سپس وزن لوله سانتریفوژ حاوی آب یادداشت گردید (w4). سینرسیس مطابق رابطه ۳، بر حسب درصد آب جدا شده نسبت به وزن اولیه ژل محاسبه شد.

دمای ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت خشک و سپس به آرامی با دست خرد و از الک با مش ۱۰۰ عبور داده شد.

#### دستگاه تخلیه سد دی الکتریک (DBD)

در این پژوهش، از سیستم DBD به منظور تولید پلاسما استفاده شد. منبع تغذیه از نوع AC و فرکانس و دیوتی دستگاه به ترتیب ۳۷۵ هرتز و ۷۲ درصد بود. در هر دو سیستم تولیدکننده پلاسمای هوا و آرگون، از دو صفحه موازی آلومینیومی به عنوان الکترود استفاده شد که هر کدام از آن‌ها توسط یک صفحه میکا به عنوان عایق پوشانده شده بودند. در سیستم هوا و آرگون، ابعاد الکترودها به ترتیب  $6/5 \times 4/5$  و  $18 \times 7$  سانتی‌متر و فاصله الکترودها از یکدیگر به ترتیب ۳ و ۶ میلی‌متر بود. جریان ورودی گاز آرگون ۱/۵ لیتر بر ثانیه تنظیم شد. در سیستم پلاسمای آرگون، از تعدادی لام چسبیده به یکدیگر (مجموعاً به ضخامت ۶ میلی‌متر) برای پوشاندن قسمت باز دستگاه (به منظور کاهش خروج آرگون از محفظه‌ی دستگاه و کاهش ورود هوا به آن) استفاده شد. برای انجام تیمار، مقدار اندکی از پودر نشاسته توسط الک کوچکی روی تمام سطح میکای پایینی دستگاه پاشیده شد تا لایه نازکی به ضخامت تقریباً ۱ میلی‌متر تشکیل دهد. نمونه‌ها به مدت ۱، ۱۰ و ۲۰ دقیقه با ولتاژ ۲۳ ولت تیمار شدند و تا زمان انجام آزمون‌ها، در ظروف پلی‌اتیلنی در بسته نگهداری شدند. نشاسته‌ای که به وسیله پلاسما تیمار نشد، به عنوان "شاهد" نام‌گذاری شد.

#### ترکیب شیمیایی نشاسته سورگوم

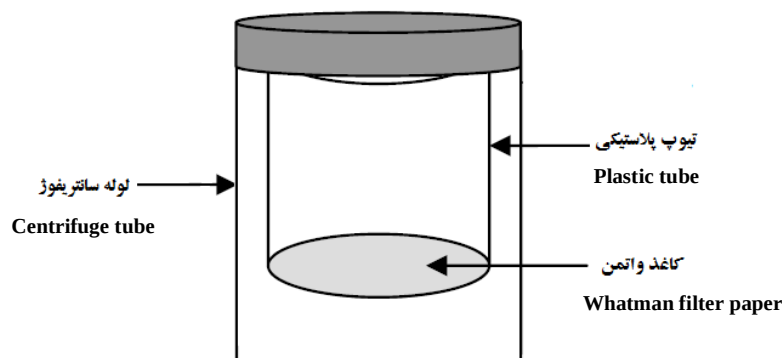
اندازه‌گیری رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر به ترتیب به روش آون‌گذاری، کج‌لدال، سوکسله و سوزاندن در کوره طبق استاندارد AACC (2000) و آمیلوز طبق روش مک‌گرنس و همکاران (McGrance et al., 1998)، انجام شد.

#### شفافیت خمیر

مطابق روش احتیاطی (Ehtiyati, 2018)، سوسپانسیون ۱ درصد نشاسته در لوله شیشه‌ای درب‌بند تهیه و ژلاتینه شدن طی ۳۰ دقیقه حرارت‌دهی در حمام آب جوش انجام شد. نمونه‌ها در این مدت، هر ۵ دقیقه به مدت ۳۰ ثانیه توسط همزن گردابی یکنواخت می‌شدند. پس از سرد کردن لوله‌ها در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه، درصد عبور نور از نمونه به وسیله اسپکتروفوتومتر (Unico uv-2100) در طول موج ۶۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

#### حلالیت و قدرت تورم

مقدار معینی سوسپانسیون ۱/۵ درصد وزنی-وزنی نمونه درون لوله شیشه‌ای درب‌بند تهیه شد. یکنواخت‌سازی نمونه‌ها توسط



شکل ۱- سیستم سانتریفوژ-فیلتراسیون

Fig. 1- Centrifuge-filtration system

### نتایج و بحث

#### ترکیب شیمیایی نشاسته سورگوم

مقادیر پروتئین، چربی، خاکستر و آمیلوز به ترتیب ۰/۱۵، ۰/۵۹، ۲۹/۲۳ بر مبنای وزن خشک و رطوبت ۹/۳۲ به دست آمدند. نتایج به دست آمده، بیانگر کارایی فرآیند خالص سازی و دستیابی به خلوص مناسبی از نشاسته سورگوم می باشد. مقادیر به دست آمده، با نتایج احتیاطی (Ehtiati, 2018) همخوانی داشت.

#### شفافیت خمیر

شفافیت خمیر نشاسته، نقش اساسی در کاربردهای غذایی به ویژه فراورده های ژله ای دارد (Wu et al., 2019). طی ژلاتینه شدن نشاسته در غلظت کم، گرانول ها متورم شده و در نهایت از هم گسسته و به ذرات گرانول تبدیل می شوند. هرچه ذرات ایجاد شده کوچکتر باشند، عبور نور بیشتر شده و شفافیت افزایش می یابد (Liu et al., 2014).

**جدول ۱**، نشان می دهد که تأثیر پلاسما ی هوا بسیار بیشتر از پلاسما ی آرگون بوده است، به نحوی که بیشترین میزان شفافیت خمیر نشاسته (۵۶/۱۰ درصد) با اعمال تیمار هوا به مدت ۲۰ دقیقه حاصل شد که تقریباً ۴ برابر شفافیت نمونه شاهد (۱۴/۰۲ درصد) و ۳/۳ برابر شفافیت نمونه تیمار شده با آرگون به مدت ۲۰ دقیقه (۱۷/۰۹ درصد) است. پژوهش های پیشین نیز نشان دهنده تأثیر زیاد پلاسما ی هوا بر شفافیت نشاسته های برنج و ذرت (Wu et al., 2019; Pal et al., 2016; Thirumdas et al., 2017 b) و تأثیر کم پلاسما ی آرگون بر شفافیت نشاسته تاپوکا (Chaiwat et al., 2016; Wongsagonsup et al., 2014 a) هستند.

توانایی پلاسما ی هوا در افزایش شفافیت نشاسته سورگوم، احتمالاً به دلیل واکنش های اکسیداسیون و دپلمریزاسیون بوده است.

$$\text{سختی} = \frac{(w4 - w3) \times 100}{(w2 - w1)} \quad (3)$$

#### سختی ژل

خمیر ۱۴٪ وزنی-وزنی نشاسته در دستگاه آنالیز سریع ویسکوزیته (Starch Master2, Newport scientific, Australia) طبق برنامه دمایی مقابل حرارت داده شد: نگهداری در ۵۰°C به مدت ۱ دقیقه، افزایش دما به ۹۵°C با سرعت ۱۲ درجه بر دقیقه، نگهداری در ۹۵°C به مدت ۲/۵ دقیقه، کاهش دما به ۵۰°C با سرعت ۱۲ درجه بر دقیقه، نگهداری در ۵۰°C به مدت ۲ دقیقه. سپس نمونه ژلاتینه شده بلافاصله به قالب استوانه ای با ارتفاع و قطر ۱۰ میلی متر منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری گردید. آزمون TPA با استفاده از دستگاه بافت سنج (TAXT-2i Texture analyzer, Stable Microsystems, Surrey, England) و پروب استوانه ای با قطر ۲۵/۴ میلی متر در دمای محیط، تحت شرایط دو بار فشردن، با سرعت ۲ میلی متر بر ثانیه، درصد تغییرات ۵۰ و نیروی بارگذاری اولیه ۱۰ گرم و عدم مکث بین دو فشردگی انجام شد (Ehtiati, 2018).

#### تجزیه و تحلیل آماری داده ها

آزمایش ها در قالب فاکتوریل با طرح کاملاً تصادفی (بر مبنای دو عامل نوع گاز و مدت زمان تیمار) و در ۳ تکرار انجام شدند. آنالیز واریانس و مقایسه میانگین ها (با استفاده از آزمون توکی در سطح اطمینان ۹۵ درصد) به وسیله نرم افزار Minitab نسخه ۱۷ انجام پذیرفت. از نرم افزار Excel برای محاسبه مقادیر انحراف معیار و ترسیم نمودار استفاده شد.

جدول ۱- تأثیر پلاسمای هوا و آرگون بر شفافیت نشاسته سورگوم  
Table 1- Effect of air and argon plasma on the clarity of sorghum starch

| نمونه<br>Sample                | شفافیت (درصد)<br>Clarity (%) |
|--------------------------------|------------------------------|
| شاهد (control)                 | $14.02 \pm 0.12^d$           |
| هوا-۱ دقیقه (air-1 min)        | $14.03 \pm 0.15^d$           |
| هوا-۱۰ دقیقه (air-10 min)      | $16.02 \pm 0.02^c$           |
| هوا-۲۰ دقیقه (air-20 min)      | $56.10 \pm 0.26^a$           |
| آرگون-۱ دقیقه (argon-1 min)    | $12.64 \pm 0.13^e$           |
| آرگون-۱۰ دقیقه (argon- 10 min) | $16.74 \pm 0.14^b$           |
| آرگون-۲۰ دقیقه (argon-20 min)  | $17.09 \pm 0.19^b$           |

اعداد با حروف مشترک در یک ستون، تفاوت معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) ندارند.

Numbers with the same letters in a column are not significantly different ( $p < 0.05$ ).

در دماهای ۷۵ و ۸۵ درجه سلسیوس، تورم نمونه تیمار شده با هوا به مدت یک دقیقه، بیشتر از نمونه شاهد بود که احتمالاً به دلیل اکسیداسیون و دپلمیریزاسیون جزئی مولکول‌های نشاسته است. تجزیه جزئی پیوندهای هیدروژنی درون و بین مولکولی نشاسته منجر به آشکار شدن و بی‌حفاظ شدن گروه‌های هیدروکسیل و برقراری پیوند هیدروژنی بین این گروه‌ها با آب می‌شود (Chong et al., 2013). همچنین طی دپلمیریزاسیون، گروه‌های هیدروکسیل جدید تشکیل می‌شوند که توانایی تشکیل پیوند هیدروژنی با مولکول آب و در نتیجه افزایش تورم را دارا هستند (Biduski et al., 2017). احتمالاً معرفی گروه‌های آبدوست کربوکسیل و همچنین دافعه میان بارهای منفی آن‌ها هم می‌تواند منجر به افزایش تورم گردد (Pal et al., 2016). با افزایش مدت زمان تیمار پلاسمای هوا به ۲۰ دقیقه، از مقدار تورم در دماهای ۷۵ و ۸۵ درجه سلسیوس کاسته شد. این موضوع احتمالاً به دلیل تشدید واکنش‌های اکسیداسیون و دپلمیریزاسیون در زمان‌های بالاتر اعمال تیمار پلاسما است. آمیلوپکتین، عامل اصلی جذب آب و تورم گرانول نشاسته است و دپلمیریزاسیون شدید آن موجب کاهش تورم می‌شود (Sarangapani et al., 2016). همچنین تخلخل شدیدتر گرانول و حضور یک ساختار اسفنج‌مانند در آن‌ها باعث می‌شود که گرانول آب را جذب کند، اما هنگام سانتریفوژ شدن آن را از دست بدهد (Wang and Wang, 2003). چانگ و همکاران (Chong et al., 2013)، فروپاشی ساختاری درون گرانول نشاسته را علت کاهش تورم در نشاسته‌های اکسیدشده بیان کرده‌اند.

در پژوهش پال و همکاران (Pal et al., 2016)، قدرت تورم در تمامی نمونه‌های آرد برنج تیمار شده با پلاسمای هوا بیشتر از نمونه شاهد بود و افزایش زمان و ولتاژ نیز موجب افزایش تورم شد. این

دپلمیریزاسیون و کاهش اندازه مولکول‌ها، موجب تفکیک راحت‌تر مولکول‌ها در محیط و به عبارتی عبور بیشتر نور می‌شود. همچنین افزایش گروه‌های هیدروکسیل موجب افزایش پیوند هیدروژنی با مولکول‌های آب و افزایش شفافیت می‌گردد (Thirumdas et al., 2017 b; Wu et al., 2019). حضور گروه‌های آبدوست و حجیم کربوکسیل و دافعه میان آن‌ها نیز می‌تواند سبب افزایش شفافیت شود (Ali and Hasnain, 2014).

برای افزایش شفافیت نشاسته معمولاً از روش‌های شیمیایی اکسیداسیون و هیدرولیز اسیدی استفاده می‌شود. برای مثال، علی و حسنین (Ali and Hasnain, 2014)، گزارش کردند که شفافیت نشاسته سورگوم پس از رقیق‌سازی با اسید کلریدریک با افزایش ۳/۶ برابری، از تقریباً ۵ به ۱۸ درصد و پس از اکسیداسیون شیمیایی با افزایش ۸ برابری، از تقریباً ۵ به ۴۰ درصد رسید. بنابراین نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که پلاسمای هوا توانایی قابل توجهی برای افزایش شفافیت نشاسته سورگوم دارد و قابل رقابت با روش‌های شیمیایی است.

تیمار با پلاسمای آرگون در زمان ۱ دقیقه سبب کاهش معنی‌دار شفافیت شد. احتمالاً اتصال عرضی، موجب بزرگ شدن مولکول‌ها و در نتیجه کاهش شفافیت شده است (Kaur et al., 2006). با افزایش زمان اعمال پلاسمای آرگون به مدت ۱۰ و ۲۰ دقیقه بر میزان شفافیت افزوده شد تا حدی که از شفافیت نمونه شاهد هم بیشتر گردید. چایوات و همکاران (Chaiwat et al., 2016)، با گزارش روندی مشابه در نشاسته‌های تیمار شده با پلاسمای آرگون اظهار داشتند که در زمان‌های بیشتر اعمال تیمار پلاسما، اثرات اکسیداسیون و دپلمیریزاسیون بر اتصال عرضی غالب می‌شود که موجب افزایش شفافیت می‌گردد. از آنجاکه فقط مولکول‌های سطح گرانول در معرض پلاسما قرار دارند و تحرک مولکول‌های نشاسته نیز کم است، محدودیت در اتصال این مولکول‌ها به وجود می‌آید. بنابراین در زمان کم، عمدتاً اتصال عرضی رخ می‌دهد و سپس با افزایش زمان و تأمین انرژی بیشتر، چون محدودیت برای انجام اتصال عرضی وجود دارد، دپلمیریزاسیون و شکست پیوند گلیکوزیدی شدت می‌گیرد (Wongsagonsup et al., 2014 a; Chaiwat et al., 2016).

### قدرت تورم

مقادیر قدرت تورم در جدول ۲، ارائه شده است. افزایش دما منجر به افزایش معنی‌دار تورم شد که احتمالاً به دلیل افزایش تحرک و انرژی مولکول‌های آب برای نفوذ به گرانول و غلبه بر پیوندهای هیدروژنی درون و بین مولکولی است (Ehtiaty, 2018).

تورم در دمای ۸۵ درجه سلسیوس در نمونه‌های تیمار شده با آرگون به مدت ۱۰ و ۲۰ دقیقه در مقایسه با نمونه تیمار شده با آرگون به مدت یک دقیقه، با توجه به شفافیت بیشتر این دو نمونه در مقایسه با سایر نمونه‌ها، احتمالاً به دلیل اکسیداسیون و دپلمیریزاسیون مولکول‌ها است. همانطور که پیشتر بیان شد، مقادیر بالای اکسیداسیون و دپلمیریزاسیون می‌تواند سبب کاهش تورم شود. لازم به ذکر است که برخی پژوهش‌گران (Wongsagonsup et al., Koo et al., 2010; 2014b) اظهار داشته‌اند که اتصال عرضی شدید نیز موجب تقویت و سختی بیش از حد ساختار می‌شود تا جایی که گرانول‌های تیمار شده به سختی اجازه ورود آب را می‌دهند، در نتیجه تورم کاهش می‌یابد. اما در آن پژوهش‌ها، کاهش تورم با پیامدهای دیگر اتصال عرضی شدید نظیر کاهش شفافیت و حلالیت همراه بوده است. حال آنکه در پژوهش حاضر، کاهش تورم همراه با افزایش شفافیت (جدول ۱) و حلالیت (جدول ۳) بود. جمع‌بندی این موارد نشان می‌دهد که احتمالاً در نمونه تیمار شده با آرگون به مدت یک دقیقه مقدار کمی اتصال عرضی به وجود آمد، اما پس از آن با افزایش زمان، دپلمیریزاسیون و اکسیداسیون شدت گرفت و اثرات آن‌ها بر اثرات اتصال عرضی غالب گشت.

در حالی است که سارانگاپانی و همکاران (Sarangapani et al., 2016)، کاهش قدرت تورم آرد برنج پیش‌جوشانده را به دنبال افزایش زمان و توان تیمار پلاسمای هوا گزارش کردند. این نتایج نشان می‌دهند که نوع ماده تیمارشونده و شرایط تیمار پلاسما منجر به ایجاد پاسخ‌های متفاوتی می‌شود. چانگ و همکاران (Chong et al., 2013) نیز افزایش تورم نشاسته ذرت را در سطح کم اکسیداسیون شیمیایی و کاهش تورم را در سطوح بالاتر گزارش کردند.

در نمونه‌های تیمار شده با پلاسمای آرگون نیز در دمای ۵۵ و ۶۵ درجه سلسیوس تفاوت معنی‌داری بین تورم نمونه‌ها مشاهده نشد. در دمای ۷۵ درجه سلسیوس، تورم نمونه تیمار شده به مدت ۱ دقیقه به طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود. در دمای ۸۵ درجه سلسیوس، تورم تمامی نمونه‌های تیمار شده با پلاسمای آرگون بیشتر از شاهد بود. نمونه تیمار شده با آرگون به مدت یک دقیقه بیشترین میزان تورم در دمای ۸۵ درجه سلسیوس را نشان داد، که احتمالاً به دلیل اتصال عرضی مولکول‌های نشاسته و در نتیجه تقویت گرانول‌ها و افزایش توانایی آن‌ها در نگهداری آب بود. ونگساگونساپ و همکاران (Wongsagonsup et al., 2014b) نیز افزایش تورم نشاسته تاپوکا را پس از وقوع مقدار محدودی اتصال عرضی گزارش کردند. کاهش

جدول ۲- تأثیر پلاسمای هوا و آرگون بر قدرت تورم نشاسته سورگوم در دماهای مختلف

Table 2- Effect of air and argon plasma on the swelling power of sorghum starch in different temperatures

| نمونه (Sample)                 | قدرت تورم (گرم ماده خشک/گرم آب) |                |                 |                  |
|--------------------------------|---------------------------------|----------------|-----------------|------------------|
|                                | Swelling power (g/g)            |                |                 |                  |
|                                | 55 °C                           | 65 °C          | 75 °C           | 85 °C            |
| شاهد (Control)                 | 4.01 ± 0.11 aD                  | 7.32 ± 0.28 aC | 11.58 ± 0.36 aB | 20.66 ± 0.62 cA  |
| هوا-۱ دقیقه (Air-1 min)        | 4.07 ± 0.12 aD                  | 7.42 ± 0.25 aC | 13.03 ± 0.21 aB | 22.44 ± 0.49 abA |
| هوا-۱۰ دقیقه (Air-10 min)      | 4.02 ± 0.09 aD                  | 7.32 ± 0.27 aC | 11.49 ± 0.37 aB | 21.04 ± 0.36 bcA |
| هوا-۲۰ دقیقه (Air-20 min)      | 4.04 ± 0.11 aD                  | 7.37 ± 0.33 aC | 9.47 ± 0.18 cB  | 15.67 ± 0.45 dA  |
| آرگون-۱ دقیقه (Argon-1 min)    | 4.02 ± 0.07 aD                  | 7.31 ± 0.24 aC | 12.77 ± 0.35 aB | 25.38 ± 0.59 aA  |
| آرگون-۱۰ دقیقه (Argon- 10 min) | 4.06 ± 0.11 aD                  | 7.33 ± 0.33 aC | 11.36 ± 0.44 aB | 23.62 ± 0.65 bA  |
| آرگون-۲۰ دقیقه (Argon-20 min)  | 4.09 ± 0.13 aD                  | 7.47 ± 0.36 aC | 11.38 ± 0.45 aB | 23.24 ± 0.75 bA  |

اعداد با حرف کوچک مشترک در یک ستون و اعداد با حرف بزرگ مشترک در یک ردیف، تفاوت معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵ درصد ندارند.

Numbers with the same small letters in a column and with the same capital letters in a row are not significantly different ( $p < 0.05$ ).

## حلالیت

مقدار حلالیت نشاسته سورگوم شاهد و تیمار شده با پلاسمای غیرحرارتی در جدول ۳، ارائه شده است. حلالیت نیز همانند تورم، با افزایش دمای اندازه‌گیری، افزایش یافت. در افزایش مقدار حلالیت، پلاسمای هوا مؤثرتر از پلاسمای آرگون عمل کرد تا جایی که مقدار آن را در دمای ۸۵ درجه سلسیوس از ۱۱ به ۷۰ درصد افزایش داد اما تیمار پلاسمای آرگون، حلالیت را حداکثر به ۳۳ درصد رسانید. نمونه تیمار شده با پلاسمای هوا به مدت ۲۰ دقیقه، بالاترین میزان حلالیت را در تمامی دماهای اندازه‌گیری شده نشان داد که

احتمالاً به دلیل اکسیداسیون و دپلمیریزاسیون مولکول‌های نشاسته است، زیرا منجر به تولید فراکسیون‌هایی با وزن مولکولی کم می‌شود که به راحتی از گرانول به بیرون نشت پیدا می‌کنند (Sarangapani et al., 2016; Thirumdas et al., 2017b). همچنین افزایش حلالیت ممکن است به دلیل افزایش سطح گرانول‌ها از طریق ایجاد حفره و کانال در گرانول باشد که ورود مولکول‌های آب به داخل گرانول و خروج مستقیم آمیلوز از گرانول را تسهیل کرده است (Mohammadamini, 2015). سارانگاپانی و همکاران (Sarangapani et al., 2016)، تیرامداس و همکاران (Thirumdas et al., 2016)



پلاسمای آرگون، احتمالاً نفوذ بیشتر آب به درون گرانول (افزایش تورم) سبب نشت آسان‌تر مولکول‌ها و حلالیت بیشتر شده است (Wongsagonsup et al., 2014b). علاوه بر این، در زمان‌های ۱۰ و ۲۰ دقیقه احتمالاً با شدت یافتن اکسیداسیون و دپلمریزاسیون و در نتیجه تجزیه مولکول‌های نشاسته، حلالیت افزایش یافت. ونگساگونساپ و همکاران (Wongsagonsup et al., 2014b)، گزارش کردند که با افزایش تورم نشاسته‌های اتصال یافته، حلالیت افزایش یافته و با کاهش تورم از مقدار حلالیت نیز کاسته شده است. کو و همکاران (Koo et al., 2010)، کاهش حلالیت و تورم را در نشاسته‌های اتصال یافته با روش‌های شیمیایی، گزارش کردند.

(et al., 2017b) و وو و همکاران (wu et al., 2019) نیز افزایش حلالیت نشاسته‌های تیمار شده با پلاسمای هوا را گزارش کردند. البته تغییر حلالیت در پژوهش‌های مذکور کمتر از پژوهش حاضر بود. بیدوسکی و همکاران (Biduski et al., 2017)، با استفاده از روش‌های شیمیایی اکسیداسیون و اسیدی کردن، حلالیت نشاسته سورگوم را از تقریباً ۳ به حداکثر ۹ درصد افزایش دادند.

اثر پلاسمای آرگون بر حلالیت نشاسته سورگوم در دمای ۵۵ و ۶۵ درجه سلسیوس معنی‌دار نبود. در دمای ۵۵ و ۶۵ درجه سلسیوس، نمونه‌های تیمار شده با پلاسمای آرگون به مدت ۱۰ و ۲۰ دقیقه، حلالیت بیشتری از نمونه شاهد داشتند. در نشاسته‌های تیمار شده با

جدول ۳- تأثیر پلاسمای هوا و آرگون بر حلالیت نشاسته سورگوم در دماهای مختلف

Table 3- Effect of air and argon plasma on the solubility of sorghum starch in different temperatures

| نمونه (Sample)                | حلالیت (درصد) Solubility (%) |                            |                              |                            |
|-------------------------------|------------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|
|                               | 55 °C                        | 65 °C                      | 75 °C                        | 85 °C                      |
| شاهد (Control)                | 1.86 ± 0.08 <sup>bD</sup>    | 4.54 ± 0.31 <sup>bC</sup>  | 9.20 ± 0.34 <sup>dB</sup>    | 16.95 ± 0.44 <sup>eA</sup> |
| هوا-۱ دقیقه (Air-1 min)       | 1.90 ± 0.04 <sup>bD</sup>    | 5.25 ± 0.15 <sup>bC</sup>  | 10.09 ± 0.20 <sup>bcdB</sup> | 17.17 ± 0.41 <sup>eA</sup> |
| هوا-۱۰ دقیقه (Air-10 min)     | 1.88 ± 0.03 <sup>bD</sup>    | 5.34 ± 0.17 <sup>bC</sup>  | 10.21 ± 0.55 <sup>bcdB</sup> | 19.03 ± 0.46 <sup>dA</sup> |
| هوا-۲۰ دقیقه (Air-20 min)     | 20.95 ± 0.25 <sup>bD</sup>   | 30.09 ± 0.55 <sup>bC</sup> | 44.97 ± 0.75 <sup>aB</sup>   | 70.02 ± 1.03 <sup>aA</sup> |
| آرگون-۱ دقیقه (Argon-1 min)   | 1.89 ± 0.08 <sup>bD</sup>    | 4.54 ± 0.33 <sup>bC</sup>  | 9.43 ± 0.33 <sup>cdB</sup>   | 17.26 ± 0.57 <sup>eA</sup> |
| آرگون-۱۰ دقیقه (Argon-10 min) | 1.95 ± 0.11 <sup>bD</sup>    | 4.65 ± 0.27 <sup>bC</sup>  | 10.44 ± 0.36 <sup>bcB</sup>  | 29.27 ± 0.57 <sup>bA</sup> |
| آرگون-۲۰ دقیقه (Argon-20 min) | 1.92 ± 0.11 <sup>bD</sup>    | 4.66 ± 0.31 <sup>bC</sup>  | 10.78 ± 0.35 <sup>bb</sup>   | 33.47 ± 0.58 <sup>bA</sup> |

اعداد با حرف کوچک مشترک در یک ستون و اعداد با حرف بزرگ مشترک در یک ردیف، تفاوت معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵ درصد ندارند.

Numbers with the same small letters in a column and with the same capital letters in a row are not significantly different ( $p < 0.05$ ).

(al., 2015). نکته جالب توجه، کاهش سینرسیس و به عبارتی افزایش پایداری طی دوره‌ها، برای نمونه تیمار شده با هوا به مدت ۲۰ دقیقه بود که در دوره اول، سینرسیس بیشتری از شاهد داشت، اما در دوره دوم با کاهش در مقدار سینرسیس، با نمونه شاهد برابری می‌کرد. پس از آن با کاهش بیشتر سینرسیس در دوره سوم و چهارم، مقدار آن حتی از نمونه شاهد هم کمتر شد. در بررسی منابع، مورد مشابهی برای نشاسته‌های اصلاح شده دیده نشد. به نظر می‌رسد که در انجماد مجدد، مولکول‌های بسیار کوچک و دپلمریزه شده که سبب تضعیف ساختار شده بودند، طوری در کنار یکدیگر قرار گرفتند که موجب تقویت شبکه و افزایش قدرت نگهداری آب شدند. علاوه بر این، ممکن است اتصال مولکول‌های کوچک به یکدیگر سبب کاهش تحرک و حلالیت آن‌ها شده باشد. به این معنی که در دومین مرتبه از ذوب و سانتریفوژ، مقدار کمتری از این مولکول‌ها به همراه آب خارج شده و در نتیجه وزن از دست رفته یا همان سینرسیس کاهش یافته است.

نمونه‌های هوا-۱ دقیقه و هوا-۲۰ دقیقه، تفاوت معنی‌داری با نمونه شاهد نداشتند. افزایش سینرسیس در نمونه هوا-۲۰ دقیقه،

### پایداری در برابر انجماد-ذوب

**جدول ۴**، مقادیر آب آزاد شده (سینرسیس) را طی ۴ دوره متوالی انجماد-ذوب نشان می‌دهد که مقادیر بیشتر، نشان‌دهنده پایداری کمتر در برابر انجماد-ذوب است. سینرسیس در شرایط انجماد-ذوب، تخمینی از رفتار رتروگراداسیون نشاسته طی شرایط تشدید شده است. مقدار سینرسیس در سیکل اول انجماد-ذوب، ۴۵ درصد بود که عدد نسبتاً بالایی است. این درصد بالا، ممکن است به دلیل آمیلوز زیاد (۲۹ درصد) در نشاسته سورگوم باشد. زیرا آمیلوز احتمالاً عامل اصلی شدت رتروگراداسیون و سینرسیس طی فرایند انجماد-ذوب است (Ehtiati, 2018).

در نمونه شاهد و نمونه‌های تیمار شده با پلاسمای هوا به مدت ۱ و ۱۰ دقیقه، بیشترین میزان خروج آب در دوره‌های اول و دوم بود و پس از آن تغییر معنی‌داری رخ نداد. در نمونه‌های تیمار شده با پلاسمای آرگون، بیشترین میزان خروج آب در دوره‌های اول، دوم و سوم رخ داد. افزایش سینرسیس ناشی از افزایش تعداد دوره‌ها، احتمالاً به دلیل تخریب گرانول، افزایش غلظت موضعی مولکول‌های نشاسته و در نتیجه افزایش رتروگراداسیون بوده است (Vernon-Carter et



شاهد بود. احتمالاً به دلیل اتصال عرضی و درشت شدن مولکول‌ها، تمایل آن‌ها به پیوستن به یکدیگر طی فاز ذوب بیشتر شده و در نتیجه سینرسیس بیشتری رخ داد. ژائو و همکاران (Zhao et al., 2015) و هزاریکا و سیت (Hazarika and Sit, 2016)، افزایش سینرسیس را در نشاسته‌های دارای اتصال عرضی گزارش کردند. نمونه تیمار شده با آرگون به مدت ۱۰ دقیقه نیز پایداری کمتری نسبت به نمونه شاهد داشت (به جز دوره اول). با افزایش زمان تیمار به ۲۰ دقیقه، پایداری نشاسته در دوره‌های ۲، ۳ و ۴ انجماد-ذوب با نمونه شاهد برابری می‌کرد و نسبت به نمونه‌های آرگون-۱ دقیقه و آرگون-۱۰ دقیقه بیشتر بود. همانطور که در آزمون‌های قبلی مطرح شد احتمالاً با افزایش زمان به ۲۰ دقیقه، بر مقدار واکنش‌های اکسیداسیون و دپلمیریزاسیون افزوده شد و به همین دلیل، پایداری در برابر انجماد-ذوب در نمونه آرگون-۲۰ دقیقه در مقایسه با سایر نمونه‌های تیمار شده با آرگون افزایش یافت (به استثنای دوره اول).

احتمالاً به دلیل دپلمیریزاسیون شدید و قوام پایین این نمونه و تشکیل یک سیستم ژلی ضعیف بعد از فریز شدن است که موجب کاهش قدرت نگه‌داری آب در آن‌ها می‌گردد (Matsuguma et al., 2009; Pal et al., 2016). بنابراین، کاهش پایداری این نمونه در برابر انجماد-ذوب (در دوره اول) را نمی‌توان دلیلی بر افزایش رتروگراداسیون دانست. چراکه درجات مناسبی از اکسیداسیون و دپلمیریزاسیون، سبب تجزیه آمیلوز و الحاق گروه‌های آلدوست کربوکسیل می‌شود که کاهش رتروگراداسیون و افزایش پایداری در برابر انجماد-ذوب را به دنبال دارد (Liu et al., 2014). کاهش سینرسیس در نشاسته سورگوم استیل‌شده و نشاسته ذرت اکسید شده به ترتیب توسط سینگ و همکاران (Singh et al., 2012) و لیو و همکاران (Liu et al., 2014) گزارش شده است. در میان نمونه‌های تیمار شده با پلاسمای آرگون، پایداری در برابر انجماد-ذوب برای نمونه تیمار شده به مدت یک دقیقه، کمتر از نمونه

جدول ۴- تأثیر پلاسمای هوا و آرگون بر پایداری نشاسته سورگوم به دوره‌های متوالی انجماد-ذوب

Table 4- Effect of air and argon plasma on the freeze-thaw stability of sorghum starch

| نمونه (Sample)                | پایداری در برابر انجماد-ذوب (% سینرسیس) |                             |                            |                             |
|-------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
|                               | Freeze-thaw stability (%)               |                             |                            |                             |
|                               | cycle1                                  | cycle2                      | cycle3                     | cycle4                      |
| شاهد (Control)                | 45.04 ± 1.57 <sup>cB</sup>              | 56.57 ± 2.65 <sup>bA</sup>  | 57.83 ± 1.70 <sup>bA</sup> | 56.85 ± 1.09 <sup>cA</sup>  |
| هوا-۱ دقیقه (Air-1 min)       | 42.12 ± 1.90 <sup>cB</sup>              | 55.07 ± 1.78 <sup>bA</sup>  | 56.04 ± 1.40 <sup>bA</sup> | 56.66 ± 1.63 <sup>cA</sup>  |
| هوا-۱۰ دقیقه (Air-10 min)     | 44.71 ± 2.11 <sup>cB</sup>              | 56.75 ± 1.86 <sup>bA</sup>  | 55.70 ± 1.12 <sup>bA</sup> | 55.73 ± 1.87 <sup>cA</sup>  |
| هوا-۲۰ دقیقه (Air-20 min)     | 62.94 ± 2.27 <sup>aA</sup>              | 54.18 ± 1.73 <sup>bB</sup>  | 48.38 ± 1.83 <sup>cC</sup> | 49.06 ± 0.97 <sup>dC</sup>  |
| آرگون-۱ دقیقه (Argon-1 min)   | 54.72 ± 1.06 <sup>bC</sup>              | 62.82 ± 1.04 <sup>aB</sup>  | 69.09 ± 1.01 <sup>aA</sup> | 70.21 ± 0.90 <sup>bA</sup>  |
| آرگون-۱۰ دقیقه (Argon-10 min) | 46.26 ± 1.16 <sup>cC</sup>              | 57.91 ± 1.04 <sup>abB</sup> | 73.25 ± 1.16 <sup>aA</sup> | 74.34 ± 1.25 <sup>aA</sup>  |
| آرگون-۲۰ دقیقه (Argon-20 min) | 53.37 ± 1.42 <sup>bC</sup>              | 54.72 ± 1.79 <sup>bBC</sup> | 59.55 ± 1.40 <sup>bA</sup> | 58.30 ± 1.19 <sup>cAB</sup> |

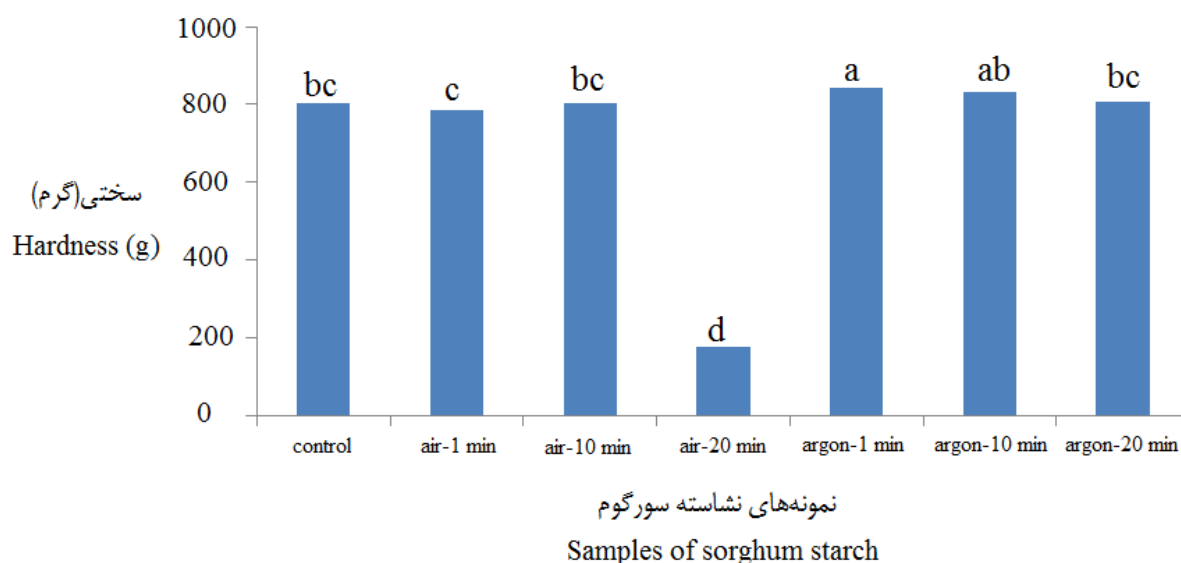
اعداد با حرف کوچک مشترک در یک ستون و اعداد با حرف بزرگ مشترک در یک ردیف، تفاوت معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵ درصد ندارند.

Numbers with the same small letters in a column and with the same capital letters in a row are not significantly different ( $p < 0.05$ ).

## سختی ژل

هوا-۲۰ دقیقه (در دوره اول انجماد-ذوب) به دلیل رتروگراداسیون نبوده بلکه مرتبط با تخریب ساختار گرانول بوده است. بیشترین مقدار سختی مربوط به نمونه آرگون-۱ دقیقه بود. احتمالاً اتصالات عرضی سبب تقویت ساختار گرانول‌های نشاسته و مانع از شکستن آن‌ها شدند. همچنین ممکن است در اثر تورم بالای این نمونه (جدول ۲)، آمیلوز بیشتری نشت کرده باشد که سبب افزایش رتروگراداسیون و سختی بافت می‌شود (Hazarika and Sit, 2016). با افزایش زمان تیمار پلاسمای آرگون، به تدریج از مقدار سختی ژل کاسته شد. همانطور که در آزمون‌های قبل نیز بیان شد، با افزایش زمان، احتمالاً واکنش‌های دپلمیریزاسیون و اکسیداسیون شدت گرفته که موجب کاهش رتروگراداسیون و سختی بافت در مقایسه با نمونه آرگون-۱ دقیقه شده است.

تشکیل ژل نشاسته پس از سرد شدن خمیر داغ، در اثر کریستالیزاسیون مجدد آمیلوز و تشکیل شبکه رخ می‌دهد. سختی ژل، حداکثر نیروی لازم جهت فشردن ژل تا ارتفاع مورد نظر است (Ehtiati, 2018). بر اساس شکل ۲، سختی ژل نمونه هوا-۲۰ دقیقه، کمتر از سایر نمونه‌ها بود که احتمالاً به دلیل دپلمیریزاسیون شدید و کاهش وزن مولکول‌های نشاسته و در نتیجه تضعیف ساختار درونی گرانول‌هاست (Biduski et al., 2017). نتایج مشابهی مبنی بر کاهش سختی ژل نشاسته سورگوم به دلیل تضعیف ساختار گرانول‌ها به دنبال تیمارهای اکسیداسیون و هیدرولیز اسیدی گزارش شده است (Biduski et al., 2017; Ali and Hasnain, 2014). نتایج سختی بافت تاییدی است بر این احتمال که افزایش سینرسیس در نمونه



شکل ۲- تأثیر پلاسمای هوا و آرگون بر سختی ژل نشاسته سورگوم  
 Fig. 2- Effect of air and argon plasma on hardness of sorghum starch gel

## نتیجه‌گیری

بر اساس پژوهش انجام گرفته، پلاسمای غیرحرارتی روش موفق‌تری برای بهبود ویژگی‌های عملکردی نشاسته سورگوم بود که در این زمینه توانایی پلاسمای هوا بیشتر از پلاسمای آرگون بود. بیشترین مقادیر شفافیت، حلالیت و پایداری در برابر انجماد-ذوب در نمونه تیمار شده با هوا به مدت ۲۰ دقیقه ثبت گردید که طبق بررسی منابع، قابل رقابت با نشاسته‌های اکسید شده به روش شیمیایی بود. بنابراین شاید بتوان با استفاده از پلاسمای غیرحرارتی به عنوان یک روش

فیزیکی، نشاسته سورگوم مشابه نشاسته اکسید شده تولید کرد. همچنین به نظر می‌رسد که واکنش‌های رخ داده در این دو پلاسما با یکدیگر متفاوت بوده‌اند. احتمالاً واکنش اصلی در پلاسمای هوا، اکسیداسیون و دپلمریزاسیون است که با افزایش زمان تیمار، این واکنش‌ها نیز شدت یافتند. اما در تیمار با پلاسمای آرگون، احتمالاً در زمان کم (۱ دقیقه) اتصال عرضی مولکول‌های نشاسته رخ داده که موجب کاهش شفافیت شد و سپس با افزایش زمان، اثر واکنش‌های اکسیداسیون و دپلمریزاسیون غالب گردید.

## منابع

1. AACC International. (2000). *Approved Methods of Analysis*, 10 Ed. Methods 44-15a, 46-13, 30-25.01 and 08-01. Paul, MN.
2. Adkins, G.K., & Greenwood, C.T. (1996). The Isolation of Cereal Starches in the Laboratory. *Starch/Staerke*, 18, 213-218. <https://doi.org/10.1002/star.19660180703>
3. Ali, T.M., & Hasnain, A. (2014). Morphological, Physicochemical, and Pasting Properties of Modified White Sorghum (*Sorghum bicolor*) Starch. *International Journal of Food Properties*, 17, 523-535. <https://doi.org/10.1080/10942912.2012.654558>
4. Biduski, B., Silva, F.T.D., Silva, W.M.D., Halal, S.L.M.E., Pinto, V.Z., Dias, A.R.G., & Zavareze, E.D.R. (2017). Impact of acid and oxidative modifications, single or dual, of sorghum starch on biodegradable films. *Food Chemistry*, 214, 53-60. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.039>
5. Chaiwat, W., Wongsagonsup, R., Tangpanichyanon, N., Jariyaporn, T., Deeyai, P., Suphantharika, M., Fuongfuchat, A., Nisoa, M., & Dangtip, S. (2016). Argon plasma treatment of tapioca starch using a semi-continuous downer reactor. *Food and Bioprocess Technology*, 9, 1125-1134. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1701-6>
6. Charoenrein, S., Tatirat, O., & Muadklay, J. (2008). Use of centrifugation-filtration for determination of syneresis in freeze-thaw starch gels. *Carbohydrate Polymers*, 73(1), 143-147. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.11.012>
7. Chong, W.T., Uthumporn, U., Karim, A.A., & Cheng, L.H. (2013). The influence of ultrasound on the degree of oxidation of hypochlorite-oxidized corn starch. *LWT- Food Science and Technology*, 50(2), 439-443. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.08.024>

8. Ehtiati, A. (2018). *Effect of hydrocolloids and salt on Pasting and rheological properties of sorghum starch*. Faculty of Agriculture, Ferdowsi university of Mashhad, Mashhad.
9. Hazarika, B.J., & Sit, N. (2016). Effect of dual modification with hydroxypropylation and cross-linking on physicochemical properties of taro starch. *Carbohydrate Polymers*, 140, 269–278. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.12.055>
10. Kaur, L., Singh, J., & Singh, N. (2006). Effect of cross-linking on some properties of potato starches. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 1945–1954. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2568>
11. Khorram, S., Zakerhamidi, M.S., & Karimzadeh, Z. (2015). Polarity functions' characterization and the mechanism of starch modification by DC glow discharge plasma. *Carbohydrate Polymers*, 127, 72–78. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.03.056>
12. Koo, S.H., Lee, K.Y., & Lee, H.G. (2010). Effect of cross-linking on the physicochemical and physiological properties of corn starch. *Food Hydrocolloids*, 24, 619–625. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.02.009>
13. Liu, J., Wang, B., Lin, L., Zhang, J., Liu, W., Xie, J., & Ding, Y. (2014). Functional, physicochemical properties and structure of cross-linked oxidized maize starch. *Food Hydrocolloids*, 36, 45–52. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.08.013>
14. Matsuguma, L.S., Lacerda, L.G., Schnitzler, E., Filho, M.A.D.S.C., Franco, C.M.L., & Demiate, I.M. (2009). characterization of native and oxidized starches of two varieties of Peruvian carrot (*Arracacia xanthorrhiza*, B.) from two production areas of Paraná state, Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 52(3), 701–713. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132009000300022>
15. McGrance, S.J., Cornell, H.J., & Rix, C.J. (1998). A simple and rapid colorimetric method for the determination of amylose in starch products. *Starch/Stärke*, 50(4), 158–163. [https://doi.org/https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-379X\(199804\)50:4<158::AID-STAR158>3.0.CO;2-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-379X(199804)50:4<158::AID-STAR158>3.0.CO;2-7)
16. Mohammadamini, A. (2015). *Morphological, physico-chemical, and functional properties of starch nanocrystals*. Faculty of Agriculture, Ferdowsi university of Mashhad, Mashhad.
17. Olayinka, O.O., Adebawale, K.O., & Olu-Owolabi, I.B. (2013). Physicochemical properties, morphological and X-ray pattern of chemically modified white sorghum starch. (Bicolor Moench). *Journal of Food Science and Technology*, 50(1), 70–77. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0233-3>
18. Pal, P., Kaur, P., Singh, N., Kaur, A., Misra, N.N., Tiwari, B.K., Cullen, P.J., & Viridi, A.S. (2016). Effect of nonthermal plasma on physico-chemical, amino acid composition, pasting and protein characteristics of short and long grain rice flour. *Food Research International*, 81, 50–57. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.12.019>
19. Sarangapani, C.R., Rohit, T., Devi, Y., Trimukhe, A., Deshmukh, R.R., & Annapure, U.S. (2016). Effect of low pressure plasma on physiochemical properties of parboiled rice. *LWT- Food Science and Technology*, 69, 482–489. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.02.003>
20. Singh, H., Sodhi, N.S., & Singh, N. (2009). Structural and functional properties of acid thinned sorghum starches. *International Journal of Food Properties*, 12, 713–725. <https://doi.org/10.1080/10942910801995614>
21. Singh, H., Sodhi, N. S., & Singh, N. (2012). Structure and functional properties of acetylated sorghum starch. *International Journal of Food Properties*, 15, 312–325. <https://doi.org/10.1080/10942912.2010.483633>
22. Subramanian, V., Hosene, R.C., & Bramel-Cox, P. (1994). Shear thinning properties of sorghum and corn starches. *Cereal Chemistry*, 71(3), 272–275.
23. Sukhija, S., Singh, S., & Riar, C.S. (2017). Molecular characteristics of oxidized and crosslinked lotus (*Nelumbo nucifera*) rhizome starch. *International Journal of Food Properties*, 1065–1081. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1328437>
24. Thirumdas, R., Kadam, D., & Annapure, U.S. (2017a). Cold plasma: an Alternative Technology for the Starch Modification. *Food Biophysics*, 12, 129–139. [10.1007/s11483-017-9468-5](https://doi.org/10.1007/s11483-017-9468-5)
25. Thirumdas, R., Trimukhe, A., Deshmukh, R.R., & Annapure, U.S. (2017b). Functional and rheological properties of cold plasma treated rice starch. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1723–1731. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.11.050>
26. Vernon-Carter, E.J., Bello-Pérez, L.A., Lobato-Calleros, C., Hernández-Jaimes, C., Meraz, M., & Alvarez-Ramirez, J. (2015). Morphological, rheological and in vitro digestibility characteristics of gelatinized starch dispersion under repeated freeze-thaw cycles. *Starch/Stärke*, 68, 84–91. <https://doi.org/10.1002/star.201500178>
27. Wang, Y.J., & Wang, L. (2003). Physicochemical properties of common and waxy corn starches oxidized by different levels of sodium hypochlorite. *Carbohydrate Polymers*, 52, 207–217. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(02\)003041](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0144-8617(02)003041)
28. Waterschoot, J., Gomand, S.V., Fierens, E., & Delcour, J.A. (2015). Production, structure, physicochemical and functional properties of maize, cassava, wheat, potato and rice starches. *Starch/Stärke*, 67, 14–29. <https://doi.org/10.1002/star.201300238>

29. Wongsagonsup, R., Deeyai, P., Chaiwat, W., Horrungsiwat, S., Leejariensuk, K., Suphantharika, M., & Dangtip, S. (2014 a). Modification of tapioca starch by nonchemical route using jet atmospheric argon plasma. *Carbohydrate Polymers*, 102, 790–798. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.10.089>
30. Wongsagonsup, R., Pujchakarn, N., Jitrakbumrung, S., Chaiwat, W., Fuongfuchat, A., Varavinit, S., Dangtip, S., & Suphantharika, M. (2014 b). Effect of cross-linking on physicochemical properties of tapioca starch and its application in soup product. *Carbohydrate Polymers*, 101, 656–665. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.100>
31. Wu, T.Y., Chang, C.R., Chang, T.J., Chang, Y.J., Liew, Y., & Chau, C.F. (2019). Changes in physicochemical properties of corn starch upon modifications by atmospheric pressure plasma jet. *Food Chemistry*, 283, 46–51. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.043>
32. Zou, J.J., Liu, C.J., & Eliasson, B. (2004). Modification of starch by glow discharge plasma. *Carbohydrate Polymers*, 55(1), 23–26. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2003.06.001>
33. Zhao, J., Chen, Z., Jin, Z., Buwalda, P., Gruppen, H., & Schols, H.A. (2015). Effects of granule size of cross-linked and hydroxypropylated sweet potato starches on their physicochemical properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 4646–4654. <https://doi.org/10.1021/jf506349w>



## Preparation of Liposomal Nanoparticles Containing *Ziziphora tenuir* Essential Oil and Evaluation of its Antimicrobial Effects

N. Jafarian<sup>1</sup>, A. Akhondzadeh Basti<sup>2\*</sup>, H. Emtiazi<sup>3</sup>

Received: 2021.09.03

Revised: 2021.12.17

Accepted: 2021.12.20

Available Online: 2022.05.15

### How to cite this article:

Jafarian, N., Akhondzadeh Basti, A., & Emtiazi, H. (2023). Preparation of liposomal nanoparticles containing *Ziziphora tenuir* essential oil and evaluation of its antimicrobial effects. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 19(2), 231-245. <http://doi.org/10.22067/ifstrj.2021.72160.1085>

### Background and Objectives

Natural preservatives extracted from herbs are important sources for bioactive compounds that can be used in protection of food products. Essential oils are aromatic oily liquids, obtained from plant material like flowers, buds, seeds, leaves, and roots. Unfortunately, most natural compounds are biologically instable, poorly soluble in water and they distribute poorly to target sites. Currently, some novel methods have been introduced in order to improve their stability and their bioavailability, among which is the use of liposomal encapsulation. Microencapsulation reduces reactivity with the environment (water, oxygen, light), decreases the evaporation or the transfer rate to the outside environment, promotes handling ability, masks taste and enhances dilution to achieve a uniform distribution in the final product when used in very small amounts. Essential oils, as natural extracted compounds extracted from plants, are unstable compounds with low water solubility and unable to achieve target cells. Essential oils encapsulation by nanoliposomes is a novel method for increasing their biological activity and protecting them from destructive factors. The aim of this study was production and optimization of nanoliposomes containing *Z. tenuir* essential oil and investigating their antibacterial effects against pathogens (*Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*).

### Materials and Methods

Lipid film hydration method was used to produce nanoliposomes containing *Z. tenuir* essential oil. Soy phosphatidylcholine and cholesterol were the main wall materials and chloroform was used as the mixing solvent. The particle size of nanoliposomes and their zeta-potential were investigated using laser diffraction method. In order to determine the minimum inhibitory concentration and the minimum bactericidal concentration of *Z. tenuir* essential oil against examined bacteria, serial dilution method was used. Also, antioxidant activity of free and nano-encapsulated essential oil of *Z. tenuir* was determined by DPPH method.

### Results

According to the results, highest encapsulation efficiency achieved by using 80:20 ratio of soy phosphatidylcholine to cholesterol in nanoliposomes' wall structures. In general, by increasing the ratio of phosphatidylcholine to cholesterol, encapsulation efficiency was improved. Zeta-potential of nanoliposomes was equal to -5.3 mv and mean particle sizes were in the range of 94.7-119.9 nm. Results indicated that essential oil ejection from nanoliposomes has direct relation to the time of storage and after 30 hours, ejection rate will increase considerably. Ejection rate was higher in phosphate buffer pH=7.4 in comparison with phosphate buffer pH=5.4. Minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of free essential oil against *Escherichia coli* was 100 and 175 (µl/ml) respectively. Although,

1 and 2. Graduated of Master of Science in Food Science and Technology and Professor, Department of Food Science & Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, respectively.

(\* - Corresponding Author Email: [akhondiafshin@gmail.com](mailto:akhondiafshin@gmail.com))

3- Research Expert, Faculty of Pharmacy, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

DOI: [10.22067/ifstrj.2021.72160.1085](http://doi.org/10.22067/ifstrj.2021.72160.1085)

Minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of nanoliposomes containing *Z. tenuiur* essential oil were equal to 75 and 150 ( $\mu\text{l/ml}$ ) respectively. Also, results shown that , minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of encapsulated *Z. tenuiur* essential oil against *Staphylococcus aureus* were lower in comparison with free form of *Z. tenuiur* essential oil. *Staphylococcus aureus* (as Gram-positive bacteria) was more susceptible than *Escherichia coli* (as Gram-negative bacteria).

### Conclusion

Encapsulation of *Z. tenuiur* essential oil by nanoliposomes led to improve antibacterial effects of essential oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Also, investigating of antioxidant activity showed that encapsulated *Z. tenuiur* essential oil in nanoliposomes was more effective than free form of *Z. tenuiur* essential oil in scavenging of DPPH free radicals. Using nanoliposome encapsulation technology can be an effective way for increasing the efficiency of natural antibacterial compounds and essential oils encapsulated in nanoliposomes are suitable alternatives for synthetic preservatives used in food industry nowadays. The use of liposomes containing *Z. tenuiur* essential oil can provide the necessary protection against growth of spoilage and pathogenic microorganisms such as *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in food products.

**Keywords:** Antibacterial activities, Antioxidant properties, Encapsulation, Nanoliposome, *Z. tenuiur* essential oil



## مقاله پژوهشی

# تهیه نانوذرات لیپوزومی حاوی اسانس کاکوتی و ارزیابی فعالیت ضد میکروبی آن

نگین جعفریان<sup>۱</sup> - افشین آخوندزاده بستی<sup>۲\*</sup> - حمیده امتیازی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۱۲

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۹/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۲۹

## چکیده

درون پوشانی اسانس‌ها درون لیپوزوم‌ها روشی نوظهور جهت افزایش فعالیت بیولوژیکی اسانس‌ها، حفاظت از آن‌ها در برابر عوامل مخرب محیطی و افزایش زیست دسترسی آن‌ها است. اسانس‌های گیاهی ترکیبات زیست فعال ناپایدار با کاربردهای تکنولوژیکی مختلف و با خواص سلامت بخش متنوع برای مصارف انسانی هستند. در پژوهش حاضر نانولیپوزوم‌های با دیواره از جنس فسفاتیدیل کولین سویا و کلسترول و حاوی اسانس کاکوتی با روش هیدراته کردن فیلم لایه نازک لیپیدی تهیه شد. اندازه ذرات نانولیپوزوم‌ها و پتانسیل زتا با استفاده از روش پراش نور لیزر بررسی شد. به منظور تعیین حداقل غلظت مهارکننده رشد و حداقل غلظت کشنده اسانس در برابر باکتری‌ها، از روش رقت سازی در لوله آزمایش استفاده شد. همچنین، آزمایش فعالیت آنتی اکسیدانی با روش مهار رادیکال آزاد ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل انجام شد. نتایج بدست آمده در این پژوهش نشان داد که بالاترین راندمان درون پوشانی اسانس ( $54/41 \pm 1/82$  درصد) درون نانولیپوزوم‌ها و حامل‌های بهینه با استفاده از نسبت ۸۰:۲۰ فسفاتیدیل کولین سویا به کلسترول حاصل شد. پتانسیل زتای اندازه گیری شده نانولیپوزوم برابر با  $-5/3$  میلی ولت و میانگین اندازه نانولیپوزوم‌ها در دامنه  $94/7-119/9$  نانومتر با شاخص پراکندگی  $0/2$  تعیین شد که تأیید کننده یکنواختی توزیع اندازه ذرات و پایداری مطلوب آن‌ها در طول زمان است. همچنین تصاویر بدست آمده از میکروسکوپ الکترونی نشانگر توزیع یکنواخت اندازه ذرات بود. رهایش تدریجی اسانس از درون نانولیپوزوم‌ها با زمان رابطه مستقیم داشت و پس از گذشت ۷۲ ساعت همچنان درصد بالایی از اسانس به صورت محصور شده در نانولیپوزوم‌ها باقی ماند. درون پوشانی لیپوزومی اسانس کاکوتی ویژگی‌های ضد میکروبی آن را علیه دو باکتری بیماری‌زای *استافیلوکوکوس اورئوس* و *شرشیاکلی* افزایش داد. همچنین بررسی ویژگی‌های آنتی اکسیدانی اسانس آزاد و نانولیپوزوم‌ها، نشان دهنده افزایش ویژگی‌های آنتی اکسیدانی نانولیپوزوم‌ها در برابر اسانس آزاد است. نتایج پژوهش حاضر نشان دهنده بهبود ویژگی‌های سلامت بخش آنتی اکسیدانی و عملکردی اسانس کاکوتی در برابر باکتری‌های بیماری‌زای مورد آزمون است.

**واژه‌های کلیدی:** اسانس کاکوتی، درون پوشانی، فعالیت ضد میکروبی، نانولیپوزوم، ویژگی‌های آنتی اکسیدانی

## مقدمه

(Ortan et al., 2009) و بسته به ترکیب شیمیایی آن‌ها، دارای ویژگی‌های فراسودمند هستند (Verma et al., 2012). این ترکیبات نقش مهمی در حفاظت از گیاهان به عنوان ترکیبات ضدباکتریایی، ضدویروسی، ضدقارچی و ضدحشره دارند (Bakkali et al., 2008). ویژگی‌های بیولوژیکی متنوع اسانس‌ها از جمله ویژگی‌های ضدباکتریایی (Marino et al., 2001)، آنتی اکسیدانی و گاهی پیشگیری از رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی (Sherry et al., 2013) گزارش شده است.

اسانس‌ها به عنوان متابولیت‌های ثانویه گیاهان معطر، ترکیباتی فرار، طبیعی، محلول در چربی و حلال‌های غیر قطبی با چگالی پایین تر از آب هستند و با مشخصه بو و آرومای قوی شناخته می‌شوند

۱ و ۲- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی و استاد، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

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

۳- کارشناس پژوهشی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران

DOI: 10.22067/ifstrj.2021.72160.1085

ها و همچنین رهایش کنترل شده آن‌ها و نهایتاً عملکرد و کارایی بیشتر آن‌ها معرفی شده است (Van Vuuren et al., 2010).

اثرات ضد میکروبی اسانس کاکوتی توسط سایر محققان گزارش شده است. خاصیت ضدباکتری اسانس کاکوتی کوهی روی میکروارگانیسم‌های گرم مثبت و گرم منفی را تأیید کردند. بیشترین اثرگذاری اسانس روی *سالمونلا تیفیموریوم*<sup>۳</sup> با حداقل غلظت مهارکنندگی برابر با ۲۲۵ میکروگرم در میلی لیتر مشاهده شد. اثر بازدارندگی آن در برابر مخمر *کلویرومایسس مارکسیانوس*<sup>۴</sup> را گزارش شده است. همچنین تحقیقات انجام شده در زمینه استفاده از نانولیپوزوم‌های حاوی اسانس‌های گیاهی نشان دهنده تأثیرات مثبت درون‌پوشانی بر ویژگی‌های ضد میکروبی اسانس می‌باشند (Shafei et al., 2012). پژوهش انجام شده در مورد تولید نانولیپوزوم‌های حاوی اسانس آویشن شیرازی و بررسی تأثیر آن روی باکتری *اشرشیاکلی O157:H7* نشان داد که حداقل غلظت مهارکننده رشد و حداقل غلظت کشنده باکتریایی نانولیپوزوم‌های حاوی اسانس در برابر باکتری *اشرشیاکلی*، در مقایسه با اسانس آزاد کاهش پیدا کرد. نتایج این تحقیق اثبات کننده آن است که نانولیپوزوم‌ها می‌توانند اثرات ضد میکروبی اسانس‌ها را افزایش دهند (Khatibi et al., 2017).

پژوهش حاضر با هدف تهیه و بهینه‌سازی فرمولاسیون نانولیپوزوم حاوی اسانس کاکوتی و بررسی اثرات ضد میکروبی این نانوحامل‌ها در برابر میکروارگانیسم‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی* به منظور استفاده به عنوان نگهدارنده‌های طبیعی بالقوه در محصولات غذایی انجام شده است. همچنین رهایش اسانس در شرایط فیزیولوژیک به منظور بروز خواص درمانی اسانس در بدن مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده در این پژوهش از جمله کلسترول، متانول، توئین ۸۰، فسفاتیدیل کولین سویا، کلروفرم و نیز محیط‌های کشت میکروبی مورد استفاده از جمله نوترینت آگار، نوترینت براث از شرکت مرک (Merck) تهیه شد. میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در پژوهش حاضر از جمله *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* از مرکز سازمان پژوهش‌های صنعتی تهیه و مورد استفاده قرار گرفت.

### تهیه و شناسایی گیاه کاکوتی

بخش‌های هوایی گیاه کاکوتی (*Ziziphora tenuir*) از منطقه ارومیه در فصل بهار سال ۱۳۹۷ جمع‌آوری شده و سپس توسط گروه

گیاه کاکوتی (*Ziziphora tenuir*) متعلق به جنس *زیزیفورا*<sup>۱</sup> و تیره نعنائیان<sup>۲</sup> است (Entezary et al., 2013). گیاهان تیره نعناع به طور معمول در درمان عفونت‌های دستگاه گوارش کاربرد داشته‌اند (Alavian et al., 2020). اثرات ضد التهابی گیاه کاکوتی ثابت شده است (Nabiuni et al., 2015). گیاه کاکوتی شناخته شده در طب سنتی ایرانی شامل اندام‌های هوایی این گیاه بوده که حداقل حاوی ۱/۲ درصد (حجمی/وزنی) اسانس است (Azadmehr et al., 2014). آلفا-ترپینول (۱۶/۲ درصد)، تیمول (۱۰/۴ درصد) و گرانیل استات (۵/۲ درصد) به ترتیب ترکیبات اصلی موجود در اسانس کاکوتی هستند که مقدار آن‌ها در اسانس وابسته به شرایط محیطی، کاشت، برداشت و پس از برداشت متغیر خواهد بود. اثرات ضد میکروبی اسانس کاکوتی در مقابل باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی اثبات شده است (Mahboubi et al., 2012).

اسانس‌ها ترکیبات ناپایدار از نظر بیولوژیکی، با انحلال‌پذیری پایین در آب (Coimbra et al., 2011) و دارای توانایی پایین در رسیدن به نقاط هدف هستند. این گروه از ترکیبات گیاهی عمدتاً به نور، اکسیژن و دما حساس هستند (Martín et al., 2010). بنابراین به منظور افزایش حلالیت و زیست‌دسترسی اسانس‌ها و همچنین حفاظت، کنترل رهایش و بهبود کارایی آن‌ها از تکنیک درون‌پوشانی استفاده می‌شود. برای این منظور ترکیبات مختلفی برای انکپسوله کردن اسانس‌ها به کار گرفته شده‌اند که از جمله آن‌ها می‌توان به بتا-سیکلودکسترین و هیدروکسیپروپیل بتا-سیکلودکسترین، مالتودکسترین (Fernandes et al., 2008)، کنسانتره پروتئین آب پنیر (Rodea-González et al., 2012)، کیتوزان (Avila-Sosa et al., 2012)، نشاسته اصلاح شده (Krishnan et al., 2005)، ژلاتین (Maji et al., 2007) و صمغ عربی و ایزوله پروتئین سویا (Jun-xia et al., 2011) و لیپوزوم‌ها (Varona et al., Ortan et al., 2009) اشاره کرد. لیپوزوم‌ها متشکل از یک هسته آبی و یک غشای دولایه با خواص آبدوستی و آبگریزی است. لیپوزوم‌ها زیست‌سازگار، زیست‌تخریب‌پذیر، غیر سمی و غیر تحریک‌کننده سیستم ایمنی بدن هستند (Voinea and Simionescu, 2002). درون‌پوشانی اسانس‌ها با لیپوزوم‌ها واکنش‌پذیری آن‌ها با محیط (تحت تأثیر عوامل آب، نور و اکسیژن) را کاهش می‌دهد، تبخیر شدن آن‌ها و نرخ انتقال یافتن آن‌ها به محیط پیرامون را کاهش داده، انتقال این ترکیبات را تسهیل می‌کند، طعم آن‌ها را پوشانده و منجر به توزیع یکنواخت در محصول نهایی می‌شوند. بنابراین تکنیک درون‌پوشانی به منظور افزایش دادن انحلال‌پذیری و زیست‌دسترسی آن‌ها و محافظت از آن

3- *Salmonella typhimurium*  
4- *Kluyveromyces marxianus*

1- *Ziziphora*  
2- Labiatae or Lamiaceae

(Materials & Sonics vibracell، انگلستان) با قدرت ۱۰۰ وات به مدت ۶ دقیقه با ترتیب ۲ ثانیه اعمال امواج فراصوت و ۲ ثانیه توقف امواج انجام شد و محلول از فیلتر با قطر حفرات ۰/۲۲ میکرومتر عبور داده شد. به منظور جداسازی اسانس درون پوشانی نشده در لیپوزومها، محلول پس از فیلتر شدن داخل کیسه دیالیز (Sigma، آمریکا) ریخته شده و در دمای ۳-۴ درجه سانتیگراد به مدت ۴۵ دقیقه داخل آب دیونیزه همزنی شد (Varona et al., 2011).

#### محاسبه راندمان درون پوشانی

محاسبه راندمان درون پوشانی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Varian، آمریکا) و با تهیه محلولهای استاندارد از اسانس کاکوتی استخراج شده انجام شد. به این صورت که ۱۰۰ میکرولیتر محلول لیپوزومی حاوی اسانس کاکوتی با ۹۰۰ میکرولیتر متانول، رقیق شد و به مدت ۲ دقیقه ورتکس (vortex) می شود. در نتیجه با آزاد شدن اسانسها از درون لیپوزومها، میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۸۷ نانومتر خوانده شد. با مطابقت میزان جذب اسپکتروفتومتر با منحنی استاندارد (شکل ۱) تهیه شده با غلظت های مشخص اسانس در حلال متانول، میزان اسانس آزاد شده از درون لیپوزومها تعیین می شود و از طریق معادله زیر درصد درون پوشانی (راندمان درون پوشانی) تعیین می شود (Lu et al., 2011).

$$EE (\%) = (C/C_0) \times 100 \quad (1) \quad \text{معادله}$$

مقدار اسانس آزاد شده (C) و مقدار اسانس اولیه مصرف شده ( $C_0$ ) می باشد.

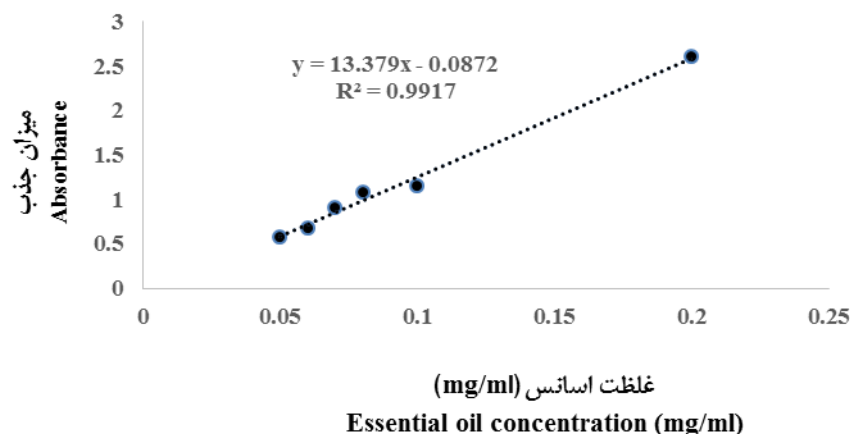
فارماکونوزی دانشکده داروسازی دانشگاه تهران، شناسایی و نام علمی مورد تأیید قرار گرفت.

#### استخراج اسانس

بخش های هوایی گیاه کاکوتی (ساقه و برگ های جوان گیاه) در معرض نور غیر مستقیم خورشید (سایه) خشک شد و با استفاده از آسیاب پودر شده و از الک با مش ۲۰ عبور داده شد. به منظور اسانس گیری، ۱۰۰ گرم از پودر حاصله درون بالن تقطیر ریخته شد و با استفاده از آب مقطر و دستگاه کلونجر به روش تقطیر، اسانس گیری به مدت ۴ ساعت انجام شد. اسانس بدست آمده با استفاده از سدیم سولفیت بدون آب، خشک و تا زمان مصرف در دمای ۴ درجه سانتیگراد درون ظروف شیشه ای رنگی در بسته نگهداری شد (Khatibi et al., 2017).

#### تهیه نانولیپوزوم های حاوی اسانس کاکوتی

فسفاتیدیل کولین سویا و کلسترول (به نسبت های ۸۰:۲۰-۷۵:۲۵) به همراه اسانس کاکوتی در مقدار کافی از کلروفرم مخلوط و به درون بالن دستگاه تبخیر کننده دوار تحت خلاء (Heidolph، آلمان) منتقل شد. حلال آلی (کلروفرم) در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد تا رسیدن به فیلم نازک بر سطح جداره بالن تبخیر شد. هیدراته کردن فیلم لیپیدی با افزودن آب دیونیزه اضافه به مخلوط لیپیدی در دستگاه تبخیر کننده دوار با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و دور ۱۵۰ rpm تا رسیدن به محلول شیری رنگ انجام شد. کاهش اندازه لیپوزومها با استفاده از دستگاه سونیکاسیون



شکل ۱- منحنی استاندارد میزان جذب اسپکتروفتومتری در غلظت های مختلف اسانس کاکوتی

Fig. 1- Standard curve of spectrophotometric absorption in different concentrations of Kakuti essential oil

## ارزیابی انتشار اسانس از درون نانولیپوزوم‌ها

برای بررسی میزان رهائش اسانس از لیپوزوم، از روش انتشار از کیسه‌ی دیالیز استفاده شد. با توجه به کاربردهای درمانی گیاه کاکوتی و ترکیبات موجود در اسانس این گیاه، رهائش اسانس از حامل لیپوزومی در محیط *in vivo* مورد بررسی قرار گرفت و از محلول آبی فسفات بافر در pHهای مختلف برای این منظور استفاده شد (دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و  $pH=7/4$  جهت بررسی رهائش برای سلول سالم و دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد و  $pH=5/4$  جهت بررسی رهائش برای سلول سرطانی). در این مرحله ۵۰ میلی لیتر از محلول فسفات بافر درون بشر ۲۵۰ میلی لیتری ریخته شد و کیسه دیالیز (کاتاف ۱۰ کیلودالتون) حاوی ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون نانولیپوزومی درون آن قرار گرفت و با استیرر مگنتی با دور ۵۰۰ دور در دقیقه هم‌زنی شد. سپس در فواصل زمانی مشخص ۱ میلی لیتر از بافر را برداشته و دوباره ۱ میلی لیتر محلول فسفات بافر جایگزین شد. نمونه‌گیری به مدت ۷۲ ساعت و در فواصل زمانی ۱، ۲، ۴، ۸، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انجام شد. مقدار ۱ میلی لیتر از بافر فسفات نمکی اطراف کیسه دیالیز برداشته و به همان مقدار (۱ میلی لیتر) بافر جدید با دما و pH یکسان اضافه گردید و سپس جذب نمونه‌های برداشت شده با استفاده از دستگاه اسپکترومتری و منحنی استاندارد اسانس در محلول فسفات بافر تعیین گردید (Gholamian Mohammadpanah et al., 2020).

(et al., 2020).

## تعیین اندازه نانولیپوزوم‌ها و پتانسیل زتا

اندازه ذرات نانولیپوزوم‌ها و پتانسیل زتا با روش پراش نور لیزر<sup>۳</sup> و با استفاده از دستگاه زتاسایزر<sup>۴</sup> (Malvern، انگلستان) تعیین شد. اساس کار این روش بر اساس حرکات براونی ذرات در محیط است. نمونه‌ها به نسبت ۱:۱۰۰ با استفاده از آب مقطر با تقطیر مجدد رقیق شد. سپس درون کوت‌های استوانه‌ای عمودی (با قطر ۱۰mm) ریخته می‌شوند. اندازه‌گیری پتانسیل زتا در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در زاویه پراش ثابت ۹۰ درجه و طول موج ۶۵۷ نانومتر انجام شد. هر نمونه با سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت (Fang et al., 2001).

## تصویربرداری از نانولیپوزوم‌ها با میکروسکوب الکترونی

مورفولوژی سطح نمونه‌های تولید شده به وسیله میکروسکوب الکترونی (KYKY-EM3200، چین) با ماکزیمم ولتاژ ۲۶ کیلو ولت

مورد بررسی قرار گرفت. آماده‌سازی نمونه با استفاده از آب مقطر صورت گرفته و نمونه مورد آزمون روی لامل تا خشک شدن کامل قرار داده شد. سپس نمونه مورد نظر با طلا پوشش دهی شده و تصویربرداری از نمونه با میکروسکوپ الکترونی روبشی صورت گرفت. تصویر بدست آمده دارای بزرگنمایی ۲۰ هزار برابر بود (Haghirsadat et al., 2016).

## تهیه میکروارگانیزم‌های مورد آزمون

میکروارگانیزم‌های مورد مطالعه در این تحقیق شامل *استافیلوکوکوس ارئوس* (۱۱۱۳ PTCC) و *شرشیاکلی* (۱۳۹۹ PTCC) بوده که به صورت پودر لیوفلیزه از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. باکتری‌ها روی محیط کشت نوترینت آگار<sup>۶</sup> کشت داده و به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت، در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری گردید.

## تهیه سوسپانسیون باکتری‌ها

برای تهیه سوسپانسیون میکروبی با استفاده از یک حلقه کشت سترون، از کشت ۲۴ ساعته باکتری‌های رشد یافته روی محیط کشت نوترینت آگار، باکتری‌ها را به لوله حاوی سرم فیزیولوژی استریل انتقال داده و به خوبی مخلوط شد (عمل مخلوط کردن را می‌توان به مدت چند ثانیه بوسیله همزن لوله انجام داد). کدورت سوسپانسیون حاصل باید به میزانی باشد که جذب نوری آن در طول موج ۶۲۵ نانومتر ۰/۰۸ تا ۰/۱ شود (کدورت برابر با استاندارد ۰/۵ مک فارلند). این کدورت تقریباً معادل با  $1 \times 10^8$  CFU/ml است.

## بررسی اثر ضد میکروبی اسانس

به منظور تعیین MIC (حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد) و MBC (حداقل غلظت کشنده) از روش رقت‌سازی درون لوله آزمایش استفاده شد. در حالت آزاد غلظت‌های متوالی اسانس روغنی کاکوتی در محیط کشت نوترینت براث حاوی ۰/۰۵ درصد محلول توئین ۸۰ در غلظت‌های (۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ میکروگرم بر لیتر) تهیه شد. در حالت ریزپوشانی نیز سوسپانسیون‌های لیپوزومی در در غلظت‌های (۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ میکروگرم بر لیتر) به حجم ۱۰۰ میکرولیتر با استفاده از محیط کشت نوترینت براث تهیه می‌شوند. به هریک از رقت‌های تهیه شده از اسانس کاکوتی در دو حالت آزاد و ریزپوشانی، ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی تهیه شده پس از رقت‌سازی با محیط کشت نوترینت براث تا رسیدن به

6- Nutrient agar

7- Colony forming unit

1- Cut-off

2- Zeta potential

3- Dynamic Light Scattering (DLS)

4- Zetasizer

5- Cuvette

است. نتایج نشان دهنده تفاوت معنادار ( $P < 0.05$ ) این شاخص با توجه به متغیر نسبت وزنی این دو ترکیب در دیواره لیپوزوم هاست. بالاترین راندمان درون پوشانی مربوط به نسبت فسفاتیدیل کولین سویا ۸۰ : ۲۰ کلوسترول ( $54/41 \pm 1/82$  درصد) بود. در سابقه مطالعات مشابه راندمان درون پوشانی برای اسانس گیاهان زنیان و نعنای فلفلی به ترتیب برابر با  $35/6 \pm 7/4$  درصد و  $61/38 \pm 2/7$  درصد گزارش شده است (Majdizadeh et al., Haghirsadat et al., 2016). روند کلی نشان دهنده روند افزایشی این پارامتر با افزایش سهم فسفاتیدیل کولین سویا و کاهش کلوسترول در ساختار لیپوزوم هاست. کلوسترول به منظور بهبود سیالیت و پایداری در ساختار لیپوزومها استفاده می شود و مقدار آن می تواند در ویژگی لیپوزومها و راندمان درون پوشانی تأثیرگذار باشد (Jaafar-Maalej et al., 2010). در واقع اسانس های روغنی با کلوسترول در محصور شدن درون فضای چربی دوست در غشای لیپوزومی رقابت می کنند (Fang et al., 2001). کلوسترول انعطاف پذیری غشای لیپوزومی را کاهش داده و در نتیجه امکان تشکیل یکپارچه غشاء اطراف اسانس را کاهش می دهد (Mohammed et al., 2004). افزایش کلوسترول منجر به فشردگی ساختار لیپوزوم و کاهش کارایی درون پوشانی می شود (Gharenaghadeh et al., 2017). بر مبنای این رفتار می توان نتیجه گرفت که افزایش کلوسترول در ترکیب لیپوزوم منجر به کاهش راندمان درون پوشانی شده و این نتیجه منطبق بر نتایج پژوهش اورتان و همکاران (Ortan et al., 2009) و همچنین قنبرزاده و همکاران (Gharenaghadeh et al., 2017) می باشد.

### تعیین اندازه نانولیپوزومها و پتانسیل زتا

اندازه ذرات عاملی برجسته است که دارای ارتباط مستقیم با پایداری نانولیپوزومها و رهاسازی ترکیبات فعال، کارایی به دام اندازی و کاربردهای واقعی نانوذرات می باشد (Najafi and Mohammadi, 2020). جدول ۲ نشان دهنده میانگین قطر حجمی و شاخص پراکندگی ذرات می باشد. با توجه به داده های بدست آمده می توان مشاهده کرد که با افزایش سهم کلوسترول در ساختار دیواره نانولیپوزومها میانگین قطر حجمی آنها کاهش یافته است ولی تفاوت معنادار ( $P < 0.05$ ) در شاخص پراکندگی و میانگین قطر حجمی ذرات ایجاد نکرد. گزارش های متفاوتی در مورد اثر کلوسترول بر اندازه ذرات لیپوزومی منتشر شده است. در پژوهش انجام شده به منظور بررسی خواص فیزیکی و شیمیایی نانولیپوزومهای حاوی گاما اوریزانول، مطابق با یافته های پژوهش حاضر، مشاهده شد که افزودن میزان کلوسترول در ترکیب دیواره نانولیپوزومها سبب کاهش اندازه ذرات از ۷۲ به ۶۳ نانومتر شد (Viriyaroj et al., 2009).

غلظت نهایی  $1 \times 10^6$  cfu/ml -۰/۵، به محیط حاوی اسانس آزاد و یا درون پوشانی شده اضافه شد و در نتیجه با اضافه شدن سوسپانسیون باکتری غلظت اسانس آزاد و درون پوشانی شده نصف خواهد شد. سپس لوله ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شده و از نظر وجود یا عدم وجود کدورت در لوله ها بررسی شد. غلظت اسانس موجود در اولین لوله ای که کدورتی در آن مشاهده نشد به عنوان MIC در نظر گرفته شد. برای تعیین MBC، از رقت هایی که در آنها کدورت مشخصی ایجاد نشده باشد به میزان ۰/۱ میلی -لیتر با روش پخش یکنواخت در محیط نوترینت آگار کشت داده شده و پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری، اولین غلظتی که عدم رشد باکتری در آن مشهود بود به عنوان MBC گزارش می شود (Gharenaghadeh et al., 2017).

### آزمون تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی به روش خنثی سازی رادیکال های آزاد DPPH<sup>۱</sup>

فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس قبل و بعد از درون پوشانی اندازه گیری شد. ابتدا ۱ میلی لیتر از محلول ۰/۱ میلی مولار DPPH در متانول به ۱ میلی لیتر اسانس و نانولیپوزوم حاوی اسانس در رقت های مختلف (۰/۸، ۰/۲، ۰/۵، ۰/۷، ۱) تهیه شده با استفاده از حلال متانول افزوده شد. میزان جذب نوری نمونه ها پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط توسط دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر در مقابل نمونه شاهد، اندازه گیری و ثبت شد. معادله (۲)  $(Ac-As)/Ac \times 100$  = درصد مهار رادیکال آزاد که در این رابطه  $A_s$  و  $A_c$  به ترتیب جذب کنترل و جذب نمونه می باشد (Gholamian et al., 2020).

### تجزیه و تحلیل آماری داده ها

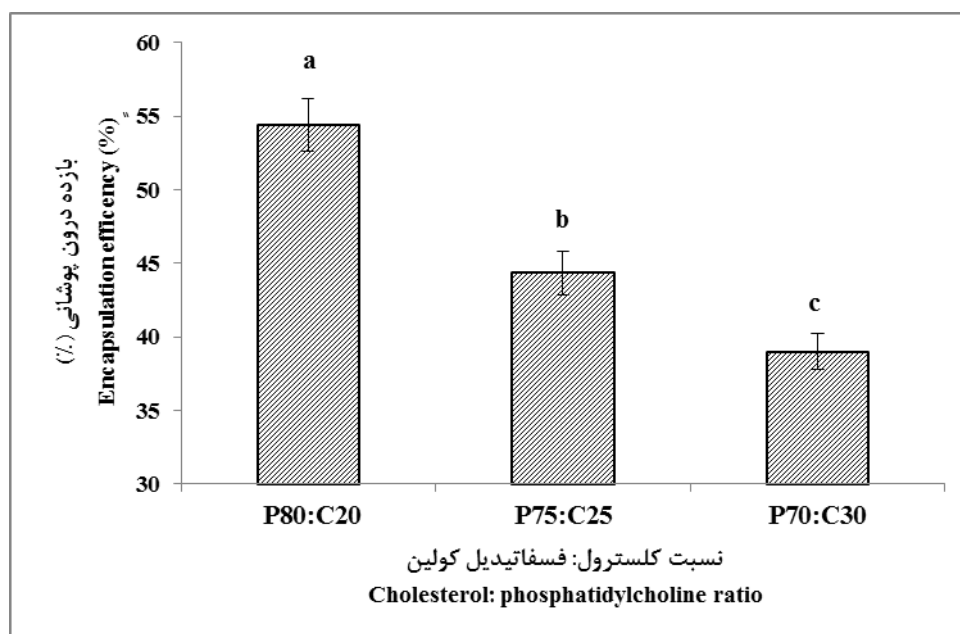
آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد و با استفاده از روش تجزیه واریانس داده ها (ANOVA) و با به کارگیری نرم افزار SPSS 24 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و میانگین داده ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفت و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel 2010 استفاده شد.

### نتایج و بحث

#### راندمان درون پوشانی

شکل ۲ نشان دهنده راندمان درون پوشانی اسانس با نسبت های مختلف فسفاتیدیل کولین سویا به کلوسترول در ساختار نانولیپوزومها





شکل ۲- نمودار بازده درون پوشانی با توجه به نسبت‌های مختلف وزنی فسفاتیدیل کولین و کلسترول

Fig. 2- Diagram of the efficiency of the coating according to different weight ratios of phosphatidylcholine and cholesterol  
\* حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنادار ( $P < 0.05$ ) میانگین داده‌ها است.

(*al.*, 2016) میانگین اندازه لیپوزوم‌های حاوی اسانس زنیان که با روش و ترکیبات لیپیدی دیواره مورد استفاده در پژوهش حاضر تهیه شدند را ۱۸۶/۱ نانومتر و شاخص پراکندگی  $0.347 \pm 0.01$  گزارش کردند. همچنین مجدزاده و همکاران (*Majdizadeh et al.*, 2020) با روش و ترکیبات مشترک نانولیپوزوم‌های حاوی اسانس نعناع فلفلی با اندازه ذرات  $247 \pm 13$  نانومتر و شاخص پراکندگی  $0.32 \pm 0.01$  تهیه کردند. در پژوهش دیگر، نانولیپوزوم‌های اسانس اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis*) تهیه شد، اندازه نانولیپوزوم‌ها را در دامنه ۲۹۸-۴۰۵ نانومتر گزارش کردند که این تفاوت در اندازه به تفاوت در فرمولاسیون ساختار دیواره لیپوزوم‌ها نسبت داده شده است (*Moghimipour et al.*, 2012). در مطالعه دیگری که توسط *oxdfd* و همکاران انجام شد، اندازه لیپوزوم‌های حاوی اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) که با سه روش سونیکاسیون، تبخیر فیلم لایه نازک به همراه سونیکاسیون و تزریق اتانول تهیه شدند به ترتیب برابر با  $99.9 \pm 0.4$ ،  $395.3 \pm 26.6$  و  $239.7 \pm 25.2$  نانومتر گزارش شد (*Khatibi et al.*, 2014). تفاوت در اندازه لیپوزوم‌های تهیه شده در پژوهش حاضر با سایر مطالعات مشابه را می‌توان به تفاوت‌ها در ترکیب غشای وزیکول لیپیدی، به ویژه نوع فسفولیپیدها، میزان کلسترول، روش آماده سازی و نوع اسانس نسبت داد (*Moghimipour et al.*, 2012).

همچنین محمدی و همکاران (*Mohammadi et al.*, 2014) در تولید نانولیپوزوم‌های حاوی ویتامین D<sub>3</sub> به این نتیجه رسیدند که افزایش غلظت کلسترول تأثیر معناداری روی اندازه و توزیع اندازه ذرات نداشت. در غشاهای لیپوزومی که غنی از فسفاتیدیل کولین هستند، به دلیل حضور گروه‌های قطبی بزرگ در سر فسفولیپید، فضاهای خالی در ساختار ایجاد می‌شود که در این شرایط گروه‌های آسیل که در دم قرار دارند، طوری جهت گیری می‌کنند که هم فضاهای خالی ایجاد شده را کمتر کنند و هم بیشترین تماس را با هم داشته باشند. حضور کلسترول، ساختار قرار گیری لیپید و جهت گیری زنجیره‌های آسیل در دو لایه لیپیدی را تغییر می‌دهد. به این صورت که گروه‌های هیدروکسیل کلسترول با ایجاد پیوند هیدروژنی با گروه‌های کربونیل استری، زنجیره‌های آسیلی که به یک سمت کج شده‌اند را به صورت مستقیم و مرتب نگه می‌دارد و فضاهای ایجاد شده بین آنها را پر می‌کند. قرار گرفتن کلسترول در ساختار دولایه‌ای منجر به افزایش تراکم چیدمان مولکول‌های فسفولیپیدی می‌شود (*Mohammadi et al.*, 2014). به‌طور کلی می‌توان گفت که کلسترول بیشتر بر پایداری فیزیکی (پایداری اندازه ذرات) در طول زمان مؤثر است و تأثیر اندکی بر اندازه ذرات هنگام تشکیل لیپوزوم دارد (*Ghanbarzadeh et al.*, 2016). اندازه لیپوزوم‌های تهیه شده در پژوهش حاضر در دامنه ۱۱۹/۹-۹۴/۷ نام‌تر قرار دارد. حقیرالسادات و همکاران (*Haghirsadat et*



مقدار بیش از ۰/۳ برای این شاخص نشان‌دهنده ناهمگن بودن توزیع اندازه ذرات است. روش تولید مورد استفاده (هیدراسیون لایه نازک و امواج فراصوت) در تهیه نانولیپوزومها مستقل از غلظت‌های متفاوت فسفاتیدیل کولین سویا-کلسترول، برای تولید لیپوزومهای پایدار در مقیاس نانو و توزیع اندازه ذرات یکنواخت مناسب است (Najaf Najafi et al., 2019).

سیستم نانولیپوزومی تهیه شده در این مطالعه، پراکندگی اندازه ذرات مطلوبی (شاخص پراکندگی پایین) را برای لیپوزومها نشان داد (جدول ۲). با توجه به تفاوت سهم ترکیبات تشکیل دهنده ساختار نانولیپوزومهای مورد آزمون، تفاوت معناداری ( $P < 0.05$ ) در شاخص پراکندگی اندازه ذرات مشاهده نشد. کوچک بودن این شاخص، بیانگر توزیع ذره‌ای باریک‌تر است، بنابراین قطر ذرات یکنواخت‌تر می‌باشد.

جدول ۲- میانگین قطر حجمی و شاخص پراکندگی توزیع اندازه ذرات نانولیپوزومهای حاوی اسانس کاکوتی  
Table 2- Average volume diameter and dispersion index of particle size distribution of nanoliposomes containing kakuti essential oil

| تیمار     | شاخص پراکندگی           | میانگین قطر حجمی                 | غلظت فسفاتیدیل کولین-کلسترول                  |
|-----------|-------------------------|----------------------------------|-----------------------------------------------|
| Treatment | Dispersion index        | Volumetric average diameter (nm) | Phosphatidylcholine-cholesterol concentration |
| 1         | 0.27±0.020 <sup>a</sup> | 119.9±25.7 <sup>a</sup>          | 20-80                                         |
| 2         | 0.28±0.015 <sup>a</sup> | 105.1±21.8 <sup>a</sup>          | 25-75                                         |
| 3         | 0.26±0.015 <sup>a</sup> | 94.7±16.7 <sup>a</sup>           | 30-70                                         |

\* اختلاف معنادار ( $P < 0.05$ ) بین میانگین داده‌ها در هر پارامتر مورد آزمون وجود ندارد.

لیپوزومها و نوع اسانس نسبت داد. براساس گزارشات، مقدار بین ۳۰- میلی ولت و ۳۰+ میلی ولت به عنوان پتانسیل زتای بالا و قابل قبول در نظر گرفته می‌شود (Zabihi et al., 2017).

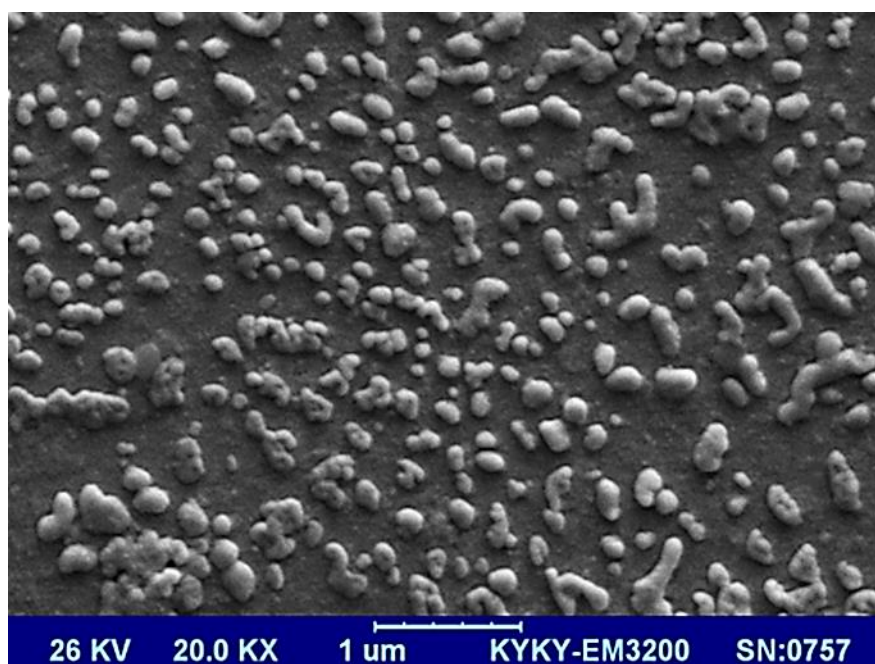
#### بررسی مورفولوژی نانولیپوزومها

ارزیابی تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان داد که مرز ذرات از یکدیگر قابل تفکیک است و چسبیدگی ذرات به یکدیگر مشهود نیست. کروی بودن نسبی نانو ذرات لیپیدی جامد باعث می‌شود که این ذرات بیشترین توانایی را جهت آزادسازی کنترل شده و محافظت از اسانس احتباس یافته داشته باشند زیرا شکل کروی دارای طولانی ترین مسیر جهت حرکت اسانس محبوس در نانو ذره و همچنین کمترین سطح تماس با محیط آبی فاز پراکنده، نسبت به سایر اشکال نانوذرات می‌باشد (Nasseri et al., 2016).

#### رهایش اسانس از درون نانولیپوزوم

برای سنجش پایداری نانوحامل‌ها از روش‌هایی از جمله اندازه گیری اندازه ذرات بعد از گذشت زمان، اندازه‌گیری پتانسیل زتا و یا اندازه‌گیری میزان رهایش نانوحامل در طول زمان می‌توان استفاده کرد (Gharenaghadeh et al., 2017). رهایش اسانس در فاصله زمانی ۱ تا ۷۲ ساعت در شکل ۴ گزارش شده است. با توجه به داده های بدست آمده می‌توان گفت که به طور کلی درصد رهایش اسانس در محلول بافر فسفات نمکی ۷/۴ نسبت به محلول بافر فسفات نمکی ۵/۴ بالاتر بوده و این اختلاف در درصد رهایش از زمان ماندگاری پس از ۳۰ ساعت شیب بیشتری پیدا کرد.

پتانسیل زتا به عنوان شاخصی از بار سطحی نانو ذرات یکی از فاکتورهای مهم در پایداری نانو ذرات بوده و هرچه مقدار آن بیشتر باشد، بار سطحی نانو ذرات بیشتر و در نتیجه دافعه الکترواستاتیک بالاتر و میزان به هم چسبیدگی ذرات کمتر خواهد بود (Sherry et al., 2013). پتانسیل زتای نانولیپوزومهای دارای بالاترین راندمان درون‌پوشانی برابر با ۵/۳- میلی ولت بود. بار منفی لیپوزومها را می‌توان به ساختار فسفولیپیدی آنها نسبت داد که به صورت عادی دارای بار منفی هستند (Gholamian et al., 2020) که این ممکن است به دلیل حضور فسفاتیدیل کولین و موقعیت قرارگیری اسیدچرب آن و یونیزاسیون گروههای فسفات و کربوکسیل باشد (Ghanbarzadeh et al., 2016). بررسی پتانسیل زتای نانولیپوزوم های حاوی اسانس‌های گیاهی در سابقه مطالعات حاکی از دامنه گسترده‌ای از مقادیر برای این پارامتر مورد مطالعه می‌باشد. بررسی سابقه مطالعات نشان می‌دهد که نانولیپوزومهای حاوی اسانس گیاهان زینان و نعناع فلفلی که با استفاده از روش و ترکیبات مورد استفاده در پژوهش حاضر تهیه شدند، به ترتیب دارای پتانسیل زتای ۶/۷- تا ۱- و ۳۴/۵۴±۰/۷۴- میلی ولت بودند (Majdizadeh et al., 2016, 2018, Haghirsadat et al., 2016). نانولیپوزومهای حاوی اسانس پونه (*M. pulegium*) و باریجه (*F. gummosa*) که با روش حرارتی (مظفری) تهیه شدند، به ترتیب دارای پتانسیل زتای برابر با ۳۴/۱۷±۱/۳۴- و ۱۴/۰۵±۱/۲۰- بودند (Faraji et al., 2020). زیبچی و همکاران (۲۰۱۷) مقدار این پارامتر را برای نانولیپوزومهای حاوی اسانس سیر (*A. sativum*) برابر با ۲۳/۲۰±۰/۸۷- گزارش کردند. تفاوت در مقادیر مربوط به این شاخص را می‌توان به دلیل تفاوت‌های موجود در روش‌های تولید، ترکیبات تشکیل دهنده



شکل ۳- تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نانولیپوزوم‌های حاوی اسانس کاکوتی

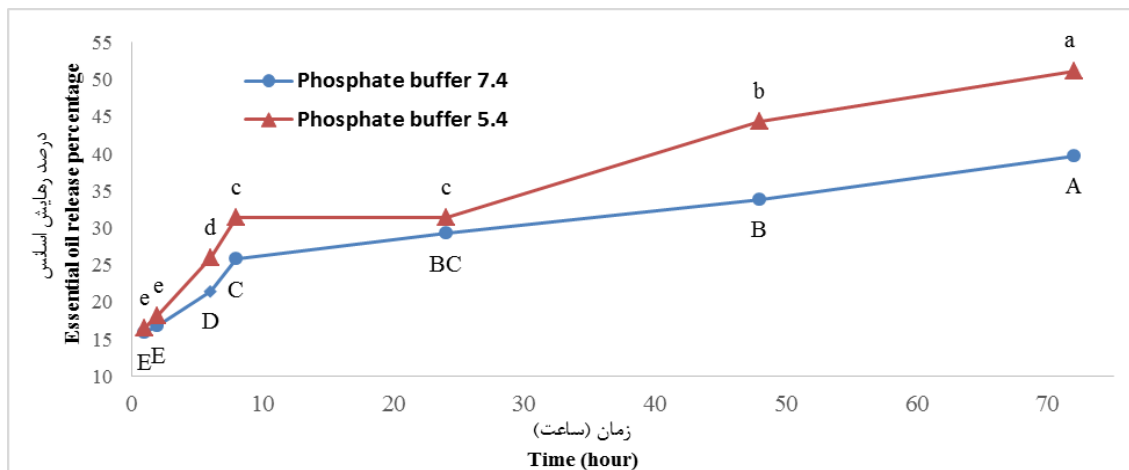
Fig. 3- Scanning electron microscope (SEM) image of nanoliposomes containing kakuti essential oil

### ویژگی‌های ضد میکروبی اسانس آزاد و نانولیپوزوم حاوی

#### اسانس

**جدول ۱** نشان دهنده غلظت‌های کشنده و مهار کننده اسانس آزاد و نانولیپوزوم‌های حاوی اسانس کاکوتی در برابر باکتری‌های مورد آزمون است. با توجه به داده‌های بدست آمده مشاهده می‌شود که باکتری *اشرشیاکلی* (به عنوان شاخصی از باکتری‌های گرم منفی) نسبت به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (به عنوان شاخصی از باکتری‌های گرم مثبت) دارای حساسیت پایین‌تری نسبت به اسانس آزاد و درون‌پوشانی شده کاکوتی است. به دلیل تفاوت ساختاری دیواره باکتری‌ها، عمدتاً باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی حساسیت بالاتری نسبت به ترکیبات ضد میکروبی گیاهی دارند. بیان شده است که مقاومت باکتری‌های گرم منفی در برابر اسانس‌ها می‌تواند به دلیل وجود غشای خارجی آب دوست آنها باشد که از نفوذ اسانس‌های آبگریز به غشای سلولی و داخل سلول جلوگیری می‌کند (Hazrati et al., 2020). اثرات ضد میکروبی گیاهان تیره *Ziziphora* بر علیه باکتری‌های *Bacillus subtilis*، *Staphylococcus aureus*، *Staphylococcus epidermidis* و *Pseudomonas aeruginosa* ثابت شده است (Sonboli et al., 2006).

**شکل ۳** نشان می‌دهد که رهائش اسانس در طول دوره زمانی با شیب نسبتاً ملایم اتفاق افتاده است و پس از گذشت بازه زمانی مورد مطالعه همچنان درصدهای نسبتاً بالایی از اسانس درون نانولیپوزوم به صورت محصور شده باقی مانده است. می‌توان نتیجه گرفت که رهائش اسانس در طول زمان در شرایط فیزیولوژیک به صورت کنترل شده و به صورت رهائش تدریجی است که این مهم در بروز اثرات مدت‌دار اسانس در بروز خواص درمانی و تاثیرات ضد میکروبی آن در برابر میکروارگانیسم‌ها اهمیت دارد. نتایج بدست آمده در خصوص رهائش تدریجی اسانس منطبق با یافته‌های حقیرالسادات و همکاران است. در پژوهش ایشان که از ترکیبات و روش مشابه با پژوهش حاضر برای تولید لیپوزوم‌ها بهره گرفته شده است، نانولیپوزوم‌های حاوی اسانس زنیان دارای رهائش تدریجی در محیط آبی بودند. ایشان گزارش کردند که نانولیپوزوم‌های حاوی اسانس زنیان در شرایط فیزیولوژیک رهائش کنترل شده دارند و به عبارت دیگر چنانچه نانولیپوزوم‌های حاوی اسانس زنیان در شرایط فیزیولوژیک به کار گرفته شود، اسانس به تدریج از وزیکول آزاد شده و تأثیر درمانی خود را اعمال می‌سازد (Haghirsadat et al., 2016). یافته‌های مشابه توسط مجدزاده و همکاران در مورد لیپوزوم‌های حاوی اسانس نعناع فلفی گزارش شده است (Majdzadeh et al., 2020).



شکل ۴- رهائش اسانس محصور شده در نانولیپوزوم‌ها

Fig. 4- Release of essential oil encapsulated in nanoliposomes

\* حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنادار ( $P < 0.05$ ) میانگین داده‌ها در غلظت‌های مختلف اسانس آزاد یا نانولیپوزوم‌های حاوی اسانس است.

کوچکتر باشد راحت‌تر می‌توانند به این حفرات وارد شده و ماده زیست فعال خود را آزاد سازند. علاوه بر این، به دلیل اینکه جنس نانولیپوزوم از فسفولیپید می‌باشد، سیالیت غشایی بیشتری داشته در نتیجه در این حالت اسانس راحت‌تر می‌تواند از غشای باکتریایی به داخل سلول نفوذ کند و سبب تخریب دیواره سلولی شود (Gharenaghadeh *et al.*, 2017). نودوست و همکاران نتیجه گرفتند که عصاره چای سبز پس از درون‌پوشانی لیپوزومی در مقایسه با عصاره آزاد خاصیت ضد میکروبی بالاتری را نشان داد (Noudoost *et al.*, 2015). مقیمی پور و همکاران گزارش کردند که درون‌پوشانی اسانس برگ اکالیپتوس منجر به افزایش ویژگی‌های ضدقارچی آن می‌شود (Moghimpour *et al.*, 2012). لیولیوس و همکاران توضیح دادند که استفاده از نانولیپوزوم‌ها از طریق برهمکنش با سلول‌های باکتریایی از طریق راه‌های مختلف از جمله انتقال بین غشایی، آزادی تماس، جذب و فاگوسیتوز، انتقال سلولی و آزادسازی ترکیبات فعال در داخل سلول‌های باکتریایی بهبود می‌بخشد لذا سبب افزایش خاصیت ضد میکروبی می‌شوند (Liolios *et al.*, 2009).

#### تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش خنثی‌سازی رادیکال های آزاد DPPH

در این پژوهش به منظور بررسی قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس آزاد و درون‌پوشانی شده کاکوتی از روش مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و محاسبه درصد مهارکنندگی آن استفاده شد. با توجه به داده‌های گزارش شده در جدول ۲ می‌توان نتیجه گرفت که غلظت اسانس یا نانولیپوزوم حاوی اسانس در درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH تأثیر معنادار دارد ( $P < 0.05$ ). با افزایش غلظت، درصد مهارکنندگی

ترکیبات عمده موجود در اسانس‌های روغنی فلفل‌ها و ترپن‌ها هستند، در نتیجه می‌توان گفت که مکانیسم اثرات ضد میکروبی اسانس‌ها مشابه اثرات ترکیبات فنلی و ترپن‌هاست. در واقع ترکیبات فنلی علاوه بر صدمه به غشای سلولی، در زنجیره انتقال الکترون، سنتز پروتئین و اسید نوکلئیک اختلالاتی ایجاد می‌کنند. ترکیب عمده موجود در اسانس کاکوتی، پولگون می‌باشد. این ترکیب یک کتون و جزء گروه مونوترپن‌هاست. ترپن‌ها قادرند به غشای سلولی صدمه زده و در ساختار لیپید دیواره سلولی باکتری‌ها نفوذ کنند که این امر منجر به دناتوراسیون پروتئین‌ها و از هم پاشیدن ساختار سلولی و تراوش سیتوپلاسم و در نهایت مرگ سلول‌ها می‌شود (Alizadeh *et al.*, 2014). میزان پولگون در گونه‌های گیاهی مختلف و تحت تأثیر سایر عوامل از جمله منطقه رشد گیاه، شرایط آب و هوایی، فصل برداشت و شرایط آزمایشگاهی استخراج اسانس متفاوت بوده و در نتیجه با متغیر بودن ترکیبات مؤثره در این گیاهان فعالیت بیولوژیکی متفاوتی نسبت به یکدیگر نشان خواهند داد (Zhang *et al.*, 2018). سزیک و همکاران مقدار پولگون در اسانس *Z. tenuior* را برابر با ۸۷/۱ درصد گزارش کرده است (Sezik *et al.*, 1991) و این درحالی است که محبوبی و همکاران در لیست ترکیبات اسانس استخراج شده از این همین گونه گیاهی پولگون را عنوان نکرده و  $\alpha$ -Terpineole را به عنوان ترکیب اصلی موجود در این اسانس گزارش کرده‌اند (Mahboubi *et al.*, 2012).

حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی نانولیپوزوم در مقایسه با اسانس آزاد در هر دو نوع باکتری گرم منفی و گرم مثبت پایین‌تر است که می‌تواند به دلیل وجود حفراتی در سطح غشای باکتری‌هایی است که محل ورود و خروج مواد می‌باشد، هرچه نانوذرات تولیدی

بررسی اثرات آنتی اکسیدانی عصاره چای سبز آزاد و درون پوشانی شده با لیپوزوم هاست که این امر به دلیل پراکندگی بالاتر نانولیپوزومها نسبت به اسانس آزاد در محیط است (Noudoost et al., 2015). مایته و همکاران نیز خاصیت آنتی اکسیدانی بالاتر کمپلکس کورکومین-فسفولیپید را نسبت به کورکومین آزاد گزارش کردند (Maiti et al., 2005).

رادیکال آزاد DPPH افزایش یافته و در بین غلظت های ۰/۷ و ۱ (میلی گرم بر میلی لیتر) از اسانس آزاد و نانولیپوزوم های حاوی اسانس، تفاوت معناداری مشاهده نشده ولی دارای اختلاف معنادار نسبت به سایر غلظت های مورد آزمون هستند ( $P < 0.05$ ). نتایج حاکی از قدرت آنتی اکسیدانی بالاتر نانولیپوزوم های حاوی اسانس نسبت به اسانس آزاد است. این یافته منطبق با نتایج نودوست و همکاران در خصوص

جدول ۱- MIC و MBC اسانس آزاد و نانولیپوزوم حاوی اسانس در برابر دو باکتری اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس

Table 1- MIC and MBC of free essential oil and nanoliposome containing essential oil against two bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

| نام ماده/باکتری<br>Microorganism<br>Antibacterial agent/ | استافیلوکوکوس اورئوس<br><i>Staphylococcus aureus</i> |         | اشرشیاکلی<br><i>Escherichia coli</i> |         |
|----------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|---------|--------------------------------------|---------|
|                                                          | MBC                                                  | MIC     | MBC                                  | MIC     |
|                                                          | (µl/ml)                                              | (µl/ml) | (µl/ml)                              | (µl/ml) |
| اسانس آزاد                                               | 125                                                  | 75      | 175                                  | 100     |
| نانولیپوزوم حاوی اسانس                                   | 100                                                  | 50      | 150                                  | 75      |

جدول ۲- درصد مهار رادیکال آزاد DPPH غلظت های مختلف اسانس آزاد و نانولیپوزوم

Table 2- DPPH free radical inhibition percentage of different concentrations of free essential oil and nanoliposome

|                                                                  | غلظت های مختلف اسانس آزاد و نانولیپوزوم (میلی گرم بر میلی لیتر)<br>Different concentrations of free essential oil and nanoliposome (mg/ml) |                          |                         |                         |                         |
|------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                                                                  | 1                                                                                                                                          | 0.7                      | 0.5                     | 0.2                     | 0.08                    |
|                                                                  |                                                                                                                                            |                          |                         |                         |                         |
| اسانس آزاد<br>Free essential oil                                 | 44.74±7.05 <sup>a</sup>                                                                                                                    | 39.49±12.55 <sup>a</sup> | 24.59±5.82 <sup>b</sup> | 22.76±7.43 <sup>b</sup> | 20.72±2.74 <sup>b</sup> |
| نانولیپوزوم حاوی اسانس<br>Nanoliposomes containing essential oil | 48.77±6.68 <sup>a</sup>                                                                                                                    | 42.93±10.75 <sup>a</sup> | 26.88±3.82 <sup>b</sup> | 24.40±5.41 <sup>b</sup> | 22.32±2.20 <sup>b</sup> |

\* حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنادار ( $P < 0.05$ ) میانگین داده ها در غلظت های مختلف اسانس آزاد یا نانولیپوزوم های حاوی اسانس است.

## نتیجه گیری

آن ها در طول زمان است. همچنین تصاویر میکروسکوپ الکترونی تاییدی بر یکنواختی توزیع اندازه ذرات است. بررسی الگوی رهایش اسانس از درون نانولیپوزومها نشان دهنده رهایش تدریجی اسانس بوده و بالاترین میزان رهایش مربوط به زمان ۷۲ ساعت در بافر فسفات نمکی ۵/۴ می باشد. باکتری اشرشیاکلی (به عنوان شاخصی از باکتری های گرم منفی) نسبت به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (به عنوان شاخصی از باکتری های گرم مثبت) دارای حساسیت پایین تری نسبت به اسانس آزاد و درون پوشانی شده کاکوتی هستند. همچنین یافته ها حاکی از قدرت آنتی اکسیدانی بالاتر نانولیپوزوم های حاوی اسانس نسبت به اسانس آزاد است.

راندمان درون پوشانی به عنوان شاخصی برای تعیین موفقیت فرایند درون پوشانی معرفی می شود. بالاترین راندمان درون پوشانی مربوط به نسبت فسفاتیدیل کولین سویا ۸۰ : ۲۰ کلسترول (۵۴/۴۱±۱/۸۲) بوده و روند کلی نشان دهنده روند افزایشی این پارامتر با افزایش سهم فسفاتیدیل کولین و کاهش کلسترول در ساختار لیپوزومهاست. نانولیپوزومها با اندازه کوچکتر دارای پایداری بیشتری هستند. میانگین اندازه نانولیپوزوم های تولید شده در این تحقیق در دامنه ۹۴/۷-۱۱۹/۹ نانومتر و شاخص پراکندگی ۰/۲ تعیین شده که تأیید کننده یکنواختی توزیع اندازه ذرات و پایداری مطلوب

## منابع

- Alavian, S.M., Ghorbani, A., & Roshani, M. (2020). Analgesic effect of *Ziziphora tenuior* essential oil and lubricant gel in patients referring for colonoscopy: A randomized double-blind clinical trial. *Govaresh*, 25(1), 51-55.

2. Alizadeh, B.B., Tabatabaei, Y.F., Shahidi, F., Mohebbi, M., & Zanganeh, H. (2014). Investigation of the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the aqueous and ethanolic *Avicennia marina* extracts on Gram positive and Gram negative bacteria "in Vitro." *Sadra Medical Sciences Journal*, 2(2), 123-134.
3. Avila-Sosa, R., Palou, E., Munguía, M.T.J., Nevárez-Moorillón, G.V., Cruz, A.R.N., & López-Malo, A. (2012). Antifungal activity by vapor contact of essential oils added to amaranth, chitosan, or starch edible films. *International Journal of Food Microbiology*, 153(1), 66-72. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.10.017>
4. Azadmehr, A., Mosalla, S., Hajiaghaee, R., & Shahnazi, M. (2014). Immunomodulatory effects of *Ziziphora tenuior* L. extract on the dendritic cells. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22(1), 1-6. <https://doi.org/10.1186/s40199-014-0063-8>
5. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils—a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446-475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
6. Coimbra, M., Isacchi, B., Van Bloois, L., Torano, J. S., Ket, A., Wu, X., Broere, F., Metselaar, J.M., Rijcken, C.J., & Storm, G. (2011). Improving solubility and chemical stability of natural compounds for medicinal use by incorporation into liposomes. *International Journal of Pharmaceutics*, 416(2), 433-442. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.01.056>
7. Entezary, A., Neamatshahi, M., Khodaparast, M., Farjam, M., Nematshahi, N., & Mohammadi, M. (2013). The effects of adding extracts of *Ziziphora* (*Ziziphora tenuir*) as flavoring to chewing gums and the study of the release of caffeine from these extracts. *Eur. Journal Exp. Biology*, 3(5), 307-312. <https://doi.org/10.3390/molecules21070826>
8. Fang, J.-Y., Hong, C.-T., Chiu, W.-T., & Wang, Y.Y. (2001). Effect of liposomes and niosomes on skin permeation of enoxacin. *International Journal of Pharmaceutics*, 219(1-2), 61-72. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(01\)00627-5](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(01)00627-5)
9. Faraji, Z., Shakarami, J., Varshosaz, J., & Jafari, S. (2020). Encapsulation of essential oils of *Mentha pulegium* and *Ferula gummosa* using nanoliposome technology as a safe botanical pesticide. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 7(4), 237-242. <https://doi.org/10.30491/JABR.2020.121704>
10. Fernandes, L.P., Turatti, I.C., Lopes, N.P., Ferreira, J.C., Candido, R.C., & Oliveira, W.P. (2008). Volatile retention and antifungal properties of spray-dried microparticles of *Lippia sidoides* essential oil. *Drying Technology*, 26(12), 1534-1542. <https://doi.org/10.1080/07373930802464034>
11. Ghanbarzadeh, B., Pezeshki, A., Hamishekar, H. and Moghaddam, M., (2017). Vitamin A palmitate-loaded nanoliposomes: study of particle size, zeta potential, efficiency and stability of encapsulation. *Iranian Journal Food Science and Technology Research*, 12(2), 261-275. <https://doi.org/10.22067/ijfstr.v1395i2.38396>
12. Gholamian, R., Nikoonahad Lotfabadi, N., & Haghiralssadat, B.F. (2020). Evaluation of antioxidant and cytotoxic effects of liposomes containing pineapple fruit extract on Melanoma skin cancer (A375 Cell Line). *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*, 28(2), 2411-2424. <https://doi.org/10.18502/ssu.v28i2.3480>
13. Haghirsadat, F., Azhdari, M., Kalantar, S.M., Naderinezhad, S., Teymourizadeh, K., Yazdani, M., Hashemi, M., & Daneshmand, F. (2016). Strategy of Improvements in the rapeutic index of medicinal herbs of Iranianin digenous: Synthesis and characterization of phospholipid lipid-based vesicles in corporated *Trachyspermum copticum*. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*, 24(6), 468-478.
14. Hazrati, S., Govahi, M., Sedaghat, M., & Kashkooli, A.B. (2020). A comparative study of essential oil profile, antibacterial and antioxidant activities of two cultivated *Ziziphora* species (*Z. clinopodioides* and *Z. tenuior*). *Industrial Crops and Products*, 157, 112942-112949. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112942>
15. Jaafar-Maalej, C., Diab, R., Andrieu, V., Elaissari, A. & Fessi, H. (2010). Ethanol injection method for hydrophilic and lipophilic drug-loaded liposome preparation. *Journal of liposome research* 20(3): 228-243. <https://doi.org/10.3109/08982100903347923>
16. Jun-Xia, X., Hai-Yan, Y., & Jian, Y. (2011). Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic. *Food Chemistry*, 125(4), 1267-1272. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.063>
17. Khatibi, S.A., Misaghi, A., Moosavy, M.H., Amoabediny, G., & Basti, A.A., (2014). Effect of preparation methods on the properties of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil loaded nanoliposomes: characterization of size, encapsulation efficiency and stability. *Pharmaceutical Sciences*, 20(4), 141-148.
18. Khatibi, S.A., Misaghi, A., Moosavy, M.H., Basti, A.A., Koohi, M.K., Khosravi, P., & Haghirsadat, F. (2017). Encapsulation of *Zataria multiflora* Bioss. essential oil into nanoliposomes and in vitro antibacterial activity against *Escherichia coli* O157: H7. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(3), 1-10. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12955>



19. Krishnan, S., Kshirsagar, A.C., & Singhal, R.S. (2005). The use of gum arabic and modified starch in the microencapsulation of a food flavoring agent. *Carbohydrate Polymers*, 62(4), 309-315. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.03.020>
20. Liolios, C., Gortzi, O., Lalas, S., Tsaknis, J., & Chinou, I. (2009). Liposomal incorporation of carvacrol and thymol isolated from the essential oil of *Origanum dictamnus* L. and in vitro antimicrobial activity. *Food Chemistry*, 112(1), 77-83. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.060>
21. Lu, S., Xing, J., Zhang, Z., & Jia, G. (2011). Preparation and characterization of polyurea/polyurethane double-shell microcapsules containing butyl stearate through interfacial polymerization. *Journal of Applied Polymer Science*, 121(6), 3377-3383. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2016.02.007>
22. Mahboubi, M., Kazempour, N., & Hosseini, H. (2012). Chemical composition, antimicrobial activity of essential oil from *Ziziphora tenuir* L. aerial parts. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15(4), 545-549. <https://dx.doi.org/10.1080/0972060X.2012.10644086>
23. Maji, T., Baruah, I., Dube, S., & Hussain, M. (2007). Microencapsulation of *Zanthoxylum limonella* oil (ZLO) in glutaraldehyde crosslinked gelatin for mosquito repellent application. *Bioresource Technology*, 98(4), 840-844. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.03.005>
24. Majdizadeh, M., Rezaei Zarchi, S., Movahedpour, A.A., Shahi Malmir, H., Sasani, E., & Haghirsadat, B.F. (2018). A new strategy in improving therapeutic indexes of medicinal herbs: preparation and characterization of nano-liposomes containing *Mentha piperita* essential oil. *SSU\_Journals*, 25(11), 853-864.
25. Maiti, K., Mukherjee, K., Gantait, A., Ahamed, H.N., Saha, B.P., & Mukherjee, P.K. (2005). Enhanced therapeutic benefit of quercetinphospholipid complex in carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats: a comparative study. *Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics*, 4(2), 84-90.
26. Marino, M., Bersani, C., & Comi, G. (2001). Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. *International Journal of Food Microbiology*, 67(3), 187-195. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00447-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00447-0)
27. Martín, Á., Varona, S., Navarrete, A., & Cocero, M. J. (2010). Encapsulation and co-precipitation processes with supercritical fluids: applications with essential oils. *The Open Chemical Engineering Journal*, 4(1), 31-41. <https://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2008.08.015>
28. Moghimipour, E., Aghel, N., Mahmoudabadi, A.Z., Ramezani, Z., & Handali, S. (2012). Preparation and characterization of liposomes containing essential oil of *Eucalyptus camaldulensis* leaf. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 7(3), 117-122.
29. Mohammed, A., Weston, N., Coombes, A., Fitzgerald, M., & Perrie, Y. (2004). Liposome formulation of poorly water soluble drugs: optimisation of drug loading and ESEM analysis of stability. *International Journal of Pharmaceutics*, 285(1-2), 23-34. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.07.010>
30. Mohammadi, M., Ghanbarzadeh, B., Hamishehkar, H., Rezayi Mokarram, R., & Mohammadifar, M.A. (2014). Physical properties of vitamin D3-loaded nanoliposomes prepared by thin layer hydration-sonication. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 8(4), 175-188.
31. Mohammadpanah, M., Mojodi, E., & Ehsani, R. (2020). The synthesis and characterization of liposomal nano-carriers loading *Lavandula angustifolia* essential oil to affect breast cancerous cell-lines. *Yafteh* 22(1): 84-95.
32. Nabiuni, M., Doostikhah, S., Panahandeh, S.R., & Karimzadeh, L. (2015). Hydro-alcoholic extract of *Ziziphora tenuir* L. on polycystic ovary syndrome in Wistar rats. *Tehran University Medical Journal*, 73(5), 324-333.
33. Najafi, N., & Mohammadi Sani, A. (2020). Evaluation of physicochemical and antimicrobial properties of nanoliposomes containing Kakuti (*Ziziphora clinopodioides*) essential oil. *Food Engineering Research*, 19(68), 169-184.
34. Najaf Najafi, M., Arianmehr, A., & Mohammadi Sani, A. (2019). Encapsulation of Barije (*Ferula gummosa*) essential oil in nanoliposomal system and evaluation of its physical and antimicrobial properties. *Innovative Food Technologies*, 7(1), 71-83. <https://dx.doi.org/10.22104/JIFT.2019.3573.1859>
35. Nasser M., Arouiee H., Golmohammadzadeh Sh., Jaafari M.R., & Neamati, H. (2016). Preparation and characterization of solid lipid nanoparticles containing zataria multiflora boiss essential oil by high-shear homogenization and ultrasound method. *Journal of Medicinal Plants*, 15(60), 132-141.
36. Noudoost, B., Noori, N., Amo Abedini, G., Gandomi, H., Akhondzadeh Basti, A., Jebeli Javan, A., & Ghadami, F. (2015). Encapsulation of green tea extract in nanoliposomes and evaluation of its antibacterial, antioxidant and prebiotic propertie. *Journal of Medical Plants*, 14(55), 66-78.
37. Ortan, A., Campeanu, G., Dinu-Pirvu, C., & Popescu, L. (2009). Studies concerning the entrapment of *Anethum graveolens* essential oil in liposomes. *Roum Biotechnol Lett*, 14(3), 4411-4417
38. Rodea-González, D. A., Cruz-Olivares, J., Román-Guerrero, A., Rodríguez-Huezo, M. E., Vernon-Carter, E.J., & Pérez-Alonso, C. (2012). Spray-dried encapsulation of chia essential oil (*Salvia hispanica* L.) in whey protein



- concentrate-polysaccharide matrices. *Journal of Food Engineering*, 111(1), 102-109 <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.01.020>.
39. Sezik, E., Tümen, G. & Başer, K. (1991). *Ziziphora tenuior* L., a new source of pulegone. *Flavour and Fragrance Journal*, 6(1), 101-103. <https://doi.org/10.1002/ffj.2730060116>
40. Shafei, M., Sharifan, A. & Aghazade, M. M. (2012). Composition of essential oil of *Ziziphora clinopodioides* and its antimicrobial activity on *Kluyveromyces marxianus*. *Journal of food technology and nutrition* 9(33): 101-107.
41. Sherry, M., Charcosset, C., Fessi, H., & Greige-Gerges, H. (2013). Essential oils encapsulated in liposomes: a review. *Journal of Liposome Research*, 23(4), 268-275. <https://doi.org/10.3109/08982104.2013.819888>
42. Sonboli, A., Mirjalili, M.H., Hadian, J., Ebrahimi, S.N., & Yousefzadi, M. (2006). Antibacterial activity and composition of the essential oil of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *bungeana* (Juz.) Rech. f. from Iran. *Zeitschrift für Naturforschung*, 61(9-10), 677-680. <https://doi.org/10.1515/znc-2006-9-1011>
43. Van Vuuren, S.F., Du Toit, L.C., Parry, A., Pillay, V., & Choonara, Y.E. (2010). Encapsulation of essential oils within a polymeric liposomal formulation for enhancement of antimicrobial efficacy. *Natural Product Communications*, 5(9), 1401-1408. <https://doi.org/10.1177/1934578X1000500912>
44. Varona, S., Martin, A., & Cocero, M.A.J. (2011). Liposomal incorporation of lavender essential oil by a thin-film hydration method and by particles from gas-saturated solutions. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 50(4), 2088-2097. <https://doi.org/10.1021/ie102016r>
45. Verma, R. S., Padalia, R. C. & Chauhan, A. (2012). Compositional analysis of the leaf and flower essential oils of Indian oregano (*Origanum vulgare* L.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15(4), 651-656. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2012.10644100>
46. Voinea, M., & Simionescu, M. (2002). Designing of 'intelligent' liposomes for efficient delivery of drugs. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 6(4), 465-474. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2002.tb00450.x>
47. Viriyaroj, A., Ngawhirunpat, T., Sukma, M., Akkaramongkolporn, P., Ruktanonchai, U., & Opanasopit, P. (2009). Physicochemical properties and antioxidant activity of gamma-oryzanol-loaded liposome formulations for topical use. *Pharmaceutical Development and Technology*, 14(6), 665-671. <https://doi.org/10.3109/10837450902911937>
48. Zabihi, A., Akhondzadeh Basti, A., Amoabediny, G., Khanjari, A., Tavakkoly Bazzaz, J., Mohammadkhan, F., Hajjar Bargh, A., & Vanaki, E. (2017). Physicochemical characteristics of nanoliposome garlic (*Allium sativum* L.) essential oil and its antibacterial effect on *Escherichia coli* O157: H7. *Journal of Food Quality and Hazards Control*, 4(1), 24-28.
49. Zhang, X., Guo, Y., Guo, L., Jiang, H., & Ji, Q. (2018). In vitro evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of *Melaleuca alternifolia* essential oil. *BioMed Research International*. <https://doi.org/10.1155/2018/2396109>



## Utilization of Fiber Obtained from Barley Malt Pulp as a Fat Substitute in the Production of Low Fat Mayonnaise

A. Mansouri Yarahmadi<sup>1</sup>, P. Rajaei<sup>2\*</sup>, S. Movahed<sup>3</sup>

Received: 2021.09.12

Revised: 2021.12.05

Accepted: 2022.01.23

Available Online: 2022.05.11

### How to cite this article:

Mansouri Yarahmadi, A., Rajaei, P., & Movahed, S. (2023). Utilization of fiber obtained from barley malt pulp as a fat substitute in the production of low fat mayonnaise. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 19(2), 247-258. <http://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.72465.1096>

### Introduction

Introduction: Mayonnaise is one types of sauces that has always been loved and preferred by consumers because of its unique texture and taste. Sauce is a semi-solid or liquid food ingredients that consists of emulsifying edible vegetable oils (at least 66%) in a liquid phase including vinegar, water, lemon juice, and egg yolk (Bortnowska and Makiewiewicz, 2006). According to the National Standard of Iran (No. 2454), if the amount of fat in mayonnaise is reduced by at least 25% (from 66% of fat), it is considered reduced fat mayonnaise, and if it is reduced by 50% in fat, mayonnaise is considered low-fat. (National Standard of Iran 2454, 1394). Fibers are edible parts of plants or similar carbohydrates that cannot be absorbed in the gut and only irritate the gut. Dietary fiber contains polysaccharides, oligosaccharides, lignin and related plant materials. Dietary fiber intake can reduce the risk of cardiovascular disease, high blood pressure, diabetes, obesity, cancer and some gastrointestinal disorders. They can alter tissue properties, eliminate hydration, stabilize high-fat foods and emulsions, and improve shelf life (Zhang *et al.*, 2017). Barley (*Avena sativa* L.) is an important crop with about 21 million tons annually production worldwide. The seed has been used to raise public awareness about the health benefits of beta-glucan, which helps lower blood cholesterol and glucose levels. Protein is the second most abundant element (12 to 20%) in barley after starch, which contains organic amino acids, due to its high lysine content because globulins make up 70 to 80% of total barley protein. Alcohol-soluble prolamins, on the other hand, are the main storage proteins in other cereals (Nito *et al.*, 2015).

### Materials and Methods

In this study, nitrate, ethanol, methanol, chloroform, ethylene glycol and acetic acid were prepared from Merck Company (Germany) and sunflower oil from Rana Company, vinegar from Somayeh Company, salt from Aali Company, sugar from Pardis Company, mustard from Bijan Company and Barley Malt Pulp was prepared from Behnoosh Company. Chemical extraction method was used to extract fiber. (Salehifar and Fadai Noghani, 2013). To prepare the mayonnaise samples, the powder ingredients including salt, mustard and sugar, vinegar and water were first mixed well and uniformly with a mixer (IKA WERK, Germany). Then, according to the formulation, the fiber extracted from barley malt pulp was gradually added to the above mixture, which was stirring, and the eggs were added to the mixture and mixed thoroughly to obtain a uniform composition. At this stage, the oil was added dropwise with continuous pouring. Finally, the samples of mayonnaise prepared were kept at refrigerator for further analysis. In all samples, the amount of sugar (11.5 g), white vinegar (23.1 g), eggs (39.45 g), salt (4.50 g), water (24.6 g) was constant (Bostani *et al.*, 2011). In this study, in order to reduce the amount of oil, it was replaced with fiber extracted from barley malt pulp at five levels of 0, 5, 10, 15 and 20% (w / w).

1, 2 and 3- Master Student of Food Science and Technology, Assistant Professor and Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Varamin Pishva Branch, Varamin, Iran, respectively.

(\*- Corresponding Author Email: [Prajaei@gmail.com](mailto:Prajaei@gmail.com))

DOI: [10.22067/ifstrj.2022.72465.1096](http://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.72465.1096)

## Results and Discussion

The effect of replacing different percentages of fibers extracted from barley malt pulp with fat at levels (5, 10, 15 and 20%) on physicochemical properties (fat, fiber, ash, viscosity and colorimetry ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) and sensory characteristics (taste, smell, color, texture and general acceptance) were determined using analysis of variance at 5% probability level. Various properties of low-fat mayonnaise showed that as the percentage of barley malt fiber increased, the amount of fat, radiance and yellowness in low-fat mayonnaise treatments ( $P < 0.05$ ) decreased, and the addition of fiber increases the viscosity, fiber, ash and redness of mayonnaise, treatments ( $P > 0.05$ ) as well as protein content. In the treatments, which was statistically significant ( $P > 0.05$ ), the results of sensory evaluation of mayonnaise samples showed that the addition of fiber extracted from barley malt pulp resulted in a significant reduction in taste, texture, color and the general acceptance of mayonnaise samples ( $P < 0.05$ ), while the decrease in odor score was not statistically significant ( $P > 0.05$ ), so that the treatment containing 20% barley malt fiber had the lowest sensory score (taste). Smell, texture, color, acceptance k Li) and treatments containing 5 and 10% barley malt fiber received the highest sensory scores (taste, odor, texture, color, general acceptance) from the panelists.

## Conclusion

According to the results, treatment 3 (containing 10% barley malt fiber) was introduced as the best treatment in the present study.

**Keywords:** Barley, Barley malt pulp, Fiber, Low fat, Mayonnaise

## مقاله پژوهشی

# استفاده از فیبر بدست آمده از تفاله مالت جو به عنوان جایگزین چربی در تولید سس مایونز کم چرب

امیر منصوری یاراحمدی<sup>۱</sup> - پیمان رجایی<sup>۲\*</sup> - سارا موحد<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۲۱

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۹/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۰۳

## چکیده

در این پژوهش اثر جایگزینی درصدهای مختلف فیبر استخراج شده از تفاله مالت جو با چربی در سطوح (۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد)، بر خواص فیزیکی و شیمیایی (چربی، فیبر، خاکستر، ویسکوزیته و رنگ سنجی ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) و خواص حسی (طعم، بو، رنگ، بافت و پذیرش کلی) مورد بررسی قرار گرفت و با استفاده از تحلیل واریانس در سطح احتمال ۵ درصد تعیین شد. مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون دانکن و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام شد. نتایج ارزیابی خصوصیات مختلف سس مایونز کم چرب نشان داد که افزایش درصد فیبر مالت جو باعث کاهش میزان چربی، روشنایی و زردی در تیمارهای سس مایونز کم چرب شد ( $P<0/05$ ). همچنین افزودن فیبر باعث افزایش میزان ویسکوزیته، فیبر، خاکستر و قرمزی در تیمارهای سس مایونز شد ( $P<0/05$ ). همچنین میزان پروتئین در تیمارها افزایش یافت که این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $P<0/05$ ). نتایج حاصل از ارزیابی حسی نمونه‌های سس مایونز نشان داد که با افزودن میزان فیبر استخراج شده از تفاله مالت جو به سس مایونز میزان امتیاز طعم، بافت، رنگ و پذیرش کلی کاهش یافت که این کاهش از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $P<0/05$ ). در حالی که امتیاز بو معنی‌دار نبود ( $P>0/05$ ). به‌طوری‌که تیمار حاوی ۲۰٪ فیبر مالت جو کمترین امتیاز حسی (طعم، بو، بافت، رنگ، پذیرش کلی) و تیمار حاوی ۵ و ۱۰ درصد فیبر مالت جو بیشترین امتیاز حسی (طعم، بو، بافت، رنگ، پذیرش کلی) را از ارزیابان دریافت کردند. با توجه به نتایج کلیه آزمون‌های انجام شده، تیمار ۳ (حاوی ۱۰ درصد فیبر مالت جو) به عنوان بهترین تیمار در تحقیق حاضر معرفی گردید.

واژه‌های کلیدی: تفاله مالت جو، جو، سس مایونز کم چرب، فیبر

## مقدمه

امولسیون نیمه جامد روغن در آب است که شامل ۷۰-۸۰ درصد چربی بوده و در روش مرسوم با مخلوط کردن تخم مرغ، سرکه، روغن و ادویه‌ها، به ویژه خردل، تهیه می‌شود (Liu et al., 2007). طبق استاندارد ملی ایران (شماره ۲۴۵۴)، چنانچه میزان چربی در سس مایونز حداقل ۲۵ درصد (از ۶۶ درصد چربی) کاهش یابد، تحت عنوان سس مایونز با چربی کاهش یافته و اگر ۵۰ درصد چربی کاهش یابد، سس مایونز کم چرب محسوب می‌شود (National Standard of Iran No. 2454, 2015). امروزه افزایش نگرانی مصرف‌کنندگان در مورد اثرات برخی ترکیبات مواد غذایی بر روی سلامت تشدید شده است که خود موجب بروز فشارهایی بر صنعت غذا جهت کاهش میزان چربی، شکر، کلسترول، نمک و سایر افزودنی‌ها در مواد غذایی شده است (Liu et al., 2007). چربی رژیم غذایی به عنوان منبع اضافی کالری، اسیدهای چرب اشباع شده و کلسترول

مایونز یکی از انواع سس‌ها بوده که همیشه به دلیل بافت و طعمش مورد علاقه و تحسین مصرف‌کنندگان قرار گرفته است. سس فرآورده غذایی نیمه جامد یا سیال است که از امولسیون شدن روغن‌های گیاهی خوراکی (حداقل ۶۶٪) در یک فاز مایع شامل سرکه، لیمو، آب، عصاره لیمو، زرده تخم مرغ تشکیل می‌گردد (Bortnowska, Makiewiewicz, 2006). سس مایونز یک نوع

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، استادیار و دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین پیشوا، ورامین، ایران

(\* - نویسنده مسئول)

(Email: Prajaei@gmail.com)

DOI: 10.22067/ifstrj.2022.72465.1096

و نیز ارتباط چربی با بروز بیماری‌های قلبی و عروقی، سرطان و چاقی باعث بروز نگرانی‌های متعدد شده است. چربی بیشترین کالری (۹ kcal/g) را در مقایسه با پروتئین و کربوهیدرات (۴ kcal/g) فراهم می‌نماید. از طرف دیگر افزایش آگاهی مردم به عنوان مصرف‌کننده محصولات دارای چربی نسبت به مسائل مربوط به سلامتی، تولیدکنندگان را بر آن داشته تا به دنبال راه چاره‌ای موثر برای غلبه بر این مشکل باشند (Dadapour and Yazdan Panah, 2020).

مهندسی مواد غذایی، جایگزین‌های کم کالری و بدون کالری متعددی را به منظور تولید محصولات کم‌چرب توسعه دادند. این ترکیبات کالری کمتری در فرمولاسیون غذایی بدون تغییر در طعم، احساس دهانی، ویسکوزیته یا دیگر خصوصیات ارگانولپتیکی ایجاد می‌کنند (Worrasinchai et al., 2006). فیبرها بخش‌های خوراکی از گیاهان یا کربوهیدرات‌های مشابه هستند که نمی‌توانند در روده جذب شوند و تنها باعث تحریک روده می‌شوند. فیبر غذایی شامل پلی ساکاریدها، الیگوساکاریدها، لیگنین و مواد گیاهی مرتبط است. بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که مصرف فیبر غذایی می‌تواند خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی، فشار خون بالا، دیابت، چاقی، سرطان و برخی اختلالات دستگاه گوارش را کاهش دهد. علاوه بر مزایای بهداشتی مختلف، فیبر غذایی همچنین می‌تواند خواص عملکردی بسیاری از محصولات غذایی مانند ظرفیت نگهداری آب، ظرفیت نگهداری روغن، قوام کف، امولسیون و یا تشکیل ژل را بهبود بخشد. فیبرهای رژیمی هنگامی که در غذاهایی (مانند محصولات ناوایی و لبنیات، مربا، گوشت و سوپ‌ها) گنجانده می‌شوند، می‌توانند خواص بافتی را تغییر دهند، آب‌اندازی را از بین ببرند، غذاهای پرچرب و امولسیون را تثبیت کنند و عمر نگهداری محصولات را بهبود بخشند. امروزه فیبرها به طور گسترده‌ای در محصولات غذایی مختلف مانند ناوایی، گوشت، شیر، سوییس، نوشیدنی‌ها، ادویه‌ها، ماکارونی، خردل، کچاپ، و خمیر یخ زده استفاده می‌شوند (Zhang et al., 2017).

جو (*Avena sativa* L.) محصولی مهم، با تولید سالیانه حدود ۲۱ میلیون تن در سراسر جهان است. کانادا، یکی از تأمین کنندگان عمده این محصول در جهان است که اکثریت تجارت جهانی جو را به خود اختصاص می‌دهد. این دانه به دلیل افزایش آگاهی عمومی در مورد مزایای سلامتی بتا-گلوکان، که به کاهش کلسترول خون و سطوح گلوکز کمک می‌کند، مورد توجه قرار گرفته است. پروتئین، دومین عنصر (۱۲ تا ۲۰ درصد) در جو بعد از نشاسته است. پروتئین جو، حاوی پروفایل اسید آمینه آلی می‌باشد که علت آن، وجود محتوای بالایی از لیزین است زیرا گلوبولین‌ها ۷۰ تا ۸۰ درصد کل پروتئین را در جو تشکیل می‌دهند، در حالی که پرولامین‌های محلول در الکل، پروتئین‌های ذخیره‌ای عمده در سایر غلات هستند (Nieto

et al., 2015). طیف وسیعی از محصولات حاوی جو مانند نوشیدنی ها، غلات و محصولات پخته مصرف می‌شوند؛ جو، در مقایسه با سایر غلات، محتوای پروتئین بالاتری دارد و همچنین حاوی ترکیبات مطلوب تر مانند اسیدهای آمینه ضروری و به همین ترتیب ارزش غذایی بالا می‌باشد. ترکیب آمینواسیدی آن تقریباً مطلوب است؛ با این حال، جو مانند سایر غلات حاوی لیزین می‌باشد (Brückner-Gühmann et al., 2018). در راستای تهیه سس مایونز کم چرب با استفاده از جایگزین‌های چربی مختلف، تاکنون پژوهش‌های متنوعی گزارش شده است. لی و همکاران (Lee et al., 2013) از نشاسته اصلاح شده برنج در سطوح ۱۰، ۳۰ و ۵۰ درصد به عنوان جایگزین چربی و هم چنین صمغ زانتان به میزان ۰/۲ درصد (در نمونه‌های حاوی ۳۰ و ۵۰ درصد نشاسته)، در فرمولاسیون سس مایونز با چربی کاهش یافته استفاده کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که تا ۳۰ درصد جایگزینی روغن، پایداری امولسیون سس مایونز به خوبی حفظ می‌شود (Lee et al., 2013). شن و همکاران (Shen et al., 2011) اثر دکسترین جو دو سر را به عنوان جایگزین چربی در سس مایونز با استفاده از روش سطح پاسخ بررسی نموده و نشان دادند که دکسترین جو دو سر پتانسیل خوبی برای جایگزینی چربی در سس مایونز دارد (Shen et al., 2011). لی و همکاران (Lee et al., 2014) به بررسی کاربرد ژل کنجاک (گلوکومانان) به عنوان شبه چربی در سس مایونز پرداخته و اثرات سطوح مختلف جایگزینی را بر خصوصیات رئولوژیکی، رنگ، مشاهدات میکروسکوپ نوری و میزان کالری بررسی نمودند؛ نتایج حاصل نشان دادند که غلظت‌های کم تر از ۳۰ درصد ژل کنجاک در سس مایونز به عنوان جایگزین چربی قابل قبول هستند (Lee et al., 2014). هدف از انجام این تحقیق استفاده از فیبر جو بدست آمده از تفاله مالت جو به عنوان جایگزین چربی در تولید سس مایونز کم چرب می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

در این تحقیق نیترات، اتانول، متانول، کلروفرم، اتیلن گلیکول و اسیداستیک از شرکت مرک آلمان تهیه شد و روغن آفتابگردان از شرکت رعنا، سرکه از شرکت سمیه، نمک از شرکت عالی، شکر از شرکت پردیس، خردل از شرکت بیژن و تفاله مالت جو از شرکت بهنوش تهیه شدند.

### استخراج فیبر به روش شیمیایی

جهت استخراج شیمیایی فیبر از تفاله مالت جو تهیه شده مقدار ۱۰۰ گرم نمونه (تفاله مالت جو) را وزن و در ظروف مخصوص قرار داده شد و رطوبت آن سریع تعیین شد. ۲ گرم از نمونه خرد شده با

## روش کار

برای تهیه سس مایونز از فرمول ارائه شده در جدول ۱ استفاده شد. جهت تهیه نمونه‌های سس مایونز در ابتدا تخم مرغ، یک سوم سرکه و مواد پودری شامل نمک، شکر، پودر خردل و اسید سیتریک با همدیگر به مدت ۶ دقیقه توسط همزن (IKA WERK، آلمان) با سرعت ۱۲۸ دور در دقیقه مخلوط شدند. سپس روغن با سرعت تقریباً ثابت به وسیله یک قیف شیاردار طی ۷ دقیقه اضافه شدند و در نهایت باقیمانده سرکه ظرف دو دقیقه به مخلوط اضافه شد. پس از کامل شدن مراحل تولید و پر کردن در ظروف شیشه‌ای، مایونزها به مدت ۲۴ ساعت تا زمان انجام آزمون‌ها در یخچال نگهداری شدند. لازم به ذکر است که در نمونه‌های حاوی فیبر استخراج شده از تفاله مالت جو، این ترکیب در زمان افزودن روغن به فرمولاسیون اضافه گردید (Bostani et al., 2011). در این تحقیق، به منظور کاهش میزان روغن، از جایگزینی آن با فیبر استخراج شده از تفاله مالت جو در سطوح ۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد (وزنی/وزنی) استفاده شد.

بالن ۶۰۰ میلی‌لیتر منتقل، ۲-۱/۵ گرم فیبر سرامیکی خشک، ۲۰۰ میلی‌لیتر  $H_2SO_4$  ۱/۲۵ درصد در حال جوش، به محتویات بالن اضافه شد. سنگ جوش نیز به بالن اضافه شد. بالن در دستگاه هضم قرار گرفت و به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شد. سپس محتویات آن توسط صافی، صاف شد. در حین صاف کردن ابتدا با آب و سپس با ۲۰۰ میلی‌لیتر  $NaOH$  ۱/۲۵٪ جوش شستشو داده شد. در نهایت با  $H_2SO_4$  ۱/۲۵٪ و الکل شستشو و به ظرف خاکستری منتقل گشت. ماده باقیمانده ۲ ساعت در دمای ۱۳۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد. سپس در دسیکاتور سرد و توزین گردید (a). در ادامه در کوره با دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد و مجدداً در دسیکاتور سرد و وزن شد (b) و اختلاف وزن محاسبه شد. درصد فیبر خام از تفاضل مقادیر به دست آمده a,b و تقسیم آن بر وزن نمونه و ضرب مجموع در عدد صد حاصل شد (Salehi Far and Fadaei Noghani, 2013).

$$\text{فیبر خام} = \frac{a - b}{\text{نمونه وزن}} \times 100$$

جدول ۱- فرمولاسیون سس مایونز (درصد)

Table 1- Mayonnaise formulation (percentage)

| ترکیبات<br>Ingredients                                | تیمار شاهد<br>Control treatment | تیمار ۱<br>Treatment1 | تیمار ۲<br>Treatment 2 | تیمار ۳<br>Treatment 3 | تیمار ۴<br>Treatment4 |
|-------------------------------------------------------|---------------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|
| روغن<br>Oil                                           | 50.5                            | 55.5                  | 60.5                   | 65.5                   | 70.5                  |
| سرکه<br>Vinegar                                       | 10                              | 10                    | 10                     | 10                     | 10                    |
| نمک<br>Salt                                           | 1                               | 1                     | 1                      | 1                      | 1                     |
| شکر<br>Suger                                          | 3                               | 3                     | 3                      | 3                      | 3                     |
| تخم‌مرغ<br>Egg                                        | 8                               | 8                     | 8                      | 8                      | 8                     |
| خردل<br>Mustard                                       | 0.3                             | 0.3                   | 0.3                    | 0.3                    | 0.3                   |
| اسید سیتریک<br>Citric acid                            | 0.13                            | 0.13                  | 0.13                   | 0.13                   | 0.13                  |
| بنزوات سدیم<br>Sodium benzoate                        | 0.07                            | 0.07                  | 0.07                   | 0.07                   | 0.07                  |
| آب<br>Water                                           | 7                               | 7                     | 7                      | 7                      | 7                     |
| فیبر استخراج شده از مالت<br>Fiber extracted from malt | 20                              | 15                    | 10                     | 5                      | 0                     |

## آزمون‌های سس مایونز

## چربی

حدود ۲۵ گرم از نمونه یکنواخت شده توزین شد، سپس درون آون  $(105 \pm 1)$  درجه سلسیوس، قرار گرفت تا کاملاً خشک شود. ۱۰

گرم نمونه در کاغذ صافی کوچک توزین شد، سپس به درون کارتوش دستگاه سوکسله منتقل گردید. بالن مخصوص سوکسله همراه با چند عدد سنگ جوش پس از این که به وزن ثابت رسید، توزین شد. پس از اتصال بالن به سیفون سوکسله، به مدت ۶ تا ۸ ساعت چربی آزمونه



### خاکستر

مقدار ۲-۵ گرم نمونه (تفاله مالت جو) با دقت در بوتله چینی که قبلاً به وزن ثابت رسیده است وزن شد. سپس در کوره قرار داده و دمای کوره بر روی ۶۰۰ درجه سلسیوس تنظیم و روشن شد. نمونه باید به رنگ سفید مایل به خاکستری درآید. بوتله از کوره خارج شده و در حرارت اطاق دسیکاتور سرد شد. ۲۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۵ نرمال به آن افزوده و با شیشه ساعت درب آن پوشیده شد و به مدت ۱۰ دقیقه روی بن ماری در حال جوش قرار گرفت. گاهیگاهی بهم زده و توسط کاغذ صافی بدون خاکستر صاف شد. کاغذ صافی را با آب مقطر شسته تا آب شستشو، عاری از اسیدکلریدریک گردد. کاغذ صافی داخل همان بوتله قرار گرفته، سوزانده و در کوره خاکستر شد. بعد بوتله در دسیکاتور سرد و سپس وزن شد. همزمان با آزمون ۲۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک را توسط یک کاغذ مشابه صاف کرده و آن را در یک بوتله چینی که قبلاً به وزن ثابت رسیده است سوزانده و در داخل کوره مانند نمونه خاکستر نموده و پس از سرد شدن در دسیکاتور وزن شد. درصد خاکستر نامحلول در اسید مطابق فرمول ذیل محاسبه شد (Vazquez-Ovando et al., 2009).

$$[S = (W1 - W0) - (W1 - W0) \times \frac{100}{W2}] \quad \text{رابطه (۳)}$$

### ویسکوزیته

برای اندازه‌گیری ویسکوزیته نمونه‌ها از ویسکومتر بروکفیلد مدل DV2 ساخت آمریکا، و دوک شماره ۳ استفاده شد. گرانروی ظاهری در سرعت‌های چرخشی ۲۰ دور در دقیقه (در محدوده گشتاوری ۱۰ تا ۱۰۰ درصد) در دمای محیط اندازه‌گیری شدند (Mirghafoori and Rahimi, 2016).

### تغییرات رنگ

رنگ بازتاب نور از ماده به چشم است که تشخیص داده می‌شود. رنگ با روش عکس‌برداری دیجیتالی و سپس آنالیز با نرم‌افزار فتوشاپ در سیستم هانتربل (D25-DP900) اندازه‌گیری شد. سیستم هانتربل رنگ را در سه بعد و شش جهت بررسی می‌کند به این ترتیب که در هر دو جهت، دو رنگ متفاوت را در مقابل هم نشان می‌دهد. در بعد L روشنی، a رنگ قرمز و b رنگ زرد را بررسی می‌کند که بر روی نمونه خام انجام شد (Ghorbanian and Nouri, 2016).

### ارزیابی کیفی (حسی)

ارزیابی کیفی نمونه‌ها، در پنج ویژگی رنگ، طعم، بو، بافت و پذیرش کلی، صورت گرفت. بررسی ویژگی‌های حسی در این تحقیق

را به وسیله اترپترولیوم، استخراج و در بالن جمع آوری شد. پس از گذشت زمان بالن محتوی چربی را جدا کرده و به مدت یک ساعت در آون  $105 \pm 1$  درجه سلسیوس قرار داده شد. سپس، آن را خارج کرده و درون دسیکاتور قرار داده و بعد از خنک شدن، وزن شد. این عمل تا رسیدن به وزن ثابت تکرار شد. وزن بالن و محتوی آن یادداشت شد. اختلاف وزن بالن پیش و پس از استخراج، میزان چربی موجود در آزمون را نشان داد. میزان روغن استخراجی بر حسب درصد در ماده خشک با استفاده از فرمول به شرح زیر به دست آمد (National Standard of Iran No. 3827, 2013).

$$\text{میزان روغن} = \frac{\text{وزن بالن خالی} - \text{وزن بالن حاوی چربی}}{\text{وزن نمونه}} \times 100$$

رابطه (۱)

### فیبر غذایی کل

ابتدا میزان ۴ گرم فیبر در ۴ ارلن مایر وزن شد. سپس میزان ۵۰ میلی‌لیتر بافر فسفات به ارلن مایر اضافه شد. نمونه‌ها در حمام بخار آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه نگهداری شدند. سپس میزان ۰/۱ میلی‌لیتر آنزیم آلفا‌آمیلاز به هر کدام از نمونه‌ها اضافه شد. نمونه‌ها در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب نگهداری گردیدند. سپس نمونه‌ها به سرعت سرد و pH با استفاده از محلول سود ۰/۲۷۵ مول‌اکی‌والان/لیتر در ۷/۵ تنظیم شد. نمونه‌ها در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه نگهداری شدند و ۰/۱ میلی‌لیتر آنزیم پروتاز به هر کدام از ارلن مایرها اضافه شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردیدند. در ادامه، دمای نمونه‌ها را کاهش داده و pH نمونه‌ها توسط اسیدکلریدریک ۰/۳۲۵ مول‌اکی‌والان/لیتر معادل ۴ تنظیم شد. سپس میزان ۰/۳ میلی‌لیتر آنزیم آمیلوگلوکوزیداز به نمونه‌ها اضافه شد. پس از این مرحله به میزان تقریبی ۴ برابر فیبر، اتانول ۹۵ درصد در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد اضافه و به مدت یک ساعت در حمام آب نگهداری شد. سپس نمونه‌ها با استفاده از فیلتر خلاء صاف شدند. محتویات روی کروژه پیرکس ۳ مرتبه با اتانول ۷۸ درصد، ۲ مرتبه با اتانول ۹۵ درصد و ۲ مرتبه با استون شستشو شد. کروژه در آون ۱۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه قرار داده شد و سپس توزین انجام شد ( $W_2$ ). ۲ کروژه دیگر در کوره ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت قرار داده و سپس توزین شد ( $W_3$ ). میزان پروتئین خام در محتویات نمونه باقی‌مانده از طریق روش کج‌لدال اندازه‌گیری شد ( $W_4$ ). وزن نمونه شاهد نیز تعیین گردید ( $W_5$ ). فیبر غذایی کل از رابطه زیر محاسبه گردید: (Vazquez-Ovando et al., 2009).

$$TDF \left( \frac{g}{100g} \right) = \frac{(W2 - W3 - W4 - W5)}{W1} \times 100 \quad \text{رابطه (۲)}$$

## نتایج و بحث

نتایج آنالیز واریانس نمونه‌ها که تاثیر تیمار بر میزان چربی، خاکستر، فیبر، ویسکوزیته در نمونه‌های سس مایونز محتوی مقادیر مختلف فیبر تفاله مالت در جدول ۲ نشان داده شده است.

### اندازه‌گیری میزان چربی

اثر افزودن فیبر مالت جو بر میزان چربی نمونه‌های سس مایونز کم چرب نتایج نشان داد که افزودن فیبر استخراج شده از تفاله مالت جو منجر به کاهش معنی‌دار چربی نمونه‌های سس مایونز شد ( $P < 0/05$ ). به طوری که تیمار حاوی ۲۰٪ فیبر مالت جو، کمترین میزان چربی و تیمار شاهد بیشترین میزان آن را داشت (جدول ۲). بتاگلوکان به عنوان نوعی جایگزین چربی مورد استفاده قرار می‌گیرد و قادر است که برخی از ویژگی‌های عملکردی چربی‌ها را، به وسیله باند کردن مولکول‌های آب درون امولسیون‌های غذایی از خود نشان دهد (Amiri Aghdaei et al., 2012).

بر اساس هدونیک ۵ نقطه‌ای (امتیاز ۱ بسیار بد تا ۵ بسیار خوب) و توسط ۱۵ نفر ارزیاب آموزش دیده بر روی نمونه‌های تولیدی سس مایونز کم چرب انجام شد (National Standard of Iran No. 2965, 2002). هدف از انجام این آزمون حسی، میزان مقبولیت کلی نمونه‌ها توسط مصرف‌کنندگان بود. از ۱۵ ارزیاب برای انجام این آزمون استفاده شد و از آن‌ها خواسته شد که به نمونه‌ها، صفت‌های کلی لذت بخشی (هدونیک)، از بسیار بد تا بسیار خوب بدهند. سپس این صفت‌ها به اعداد ۱ تا ۵ تبدیل شدند.

### روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

اختلاف بین تیمارهای مختلف، در سطوح (۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد) و با استفاده از تحلیل واریانس (ANOVA) در سطح احتمال ۵ درصد تعیین شد. مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون دانکن و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار SPSS رسم شدند.

جدول ۲- نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر فیبر بر میزان چربی، خاکستر، فیبر، ویسکوزیته در نمونه‌های سس مایونز کم چرب  
Table 2- The results of comparing the average effect of fiber on the amount of fat, ash, fiber, and viscosity in low-fat mayonnaise samples

| تیمار<br>Treatment | چربی<br>Fat               | خاکستر<br>Ash           | فیبر<br>Fiber            | ویسکوزیته<br>Viscosity   |
|--------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 1                  | 71.36 ± 0.26 <sup>a</sup> | 1.34 ± 0.8 <sup>e</sup> | 1.31 ± 17 <sup>e</sup>   | 27856 ± 143 <sup>e</sup> |
| 2                  | 66.11 ± 0.13 <sup>b</sup> | 1.71 ± 0.7 <sup>d</sup> | 4.50 ± 21 <sup>d</sup>   | 31427 ± 499 <sup>d</sup> |
| 3                  | 61.52 ± 0.21 <sup>c</sup> | 2.10 ± 0.8 <sup>c</sup> | 7.58 ± 12 <sup>c</sup>   | 35592 ± 180 <sup>c</sup> |
| 4                  | 57.74 ± 0.14 <sup>d</sup> | 2.61 ± 0.8 <sup>b</sup> | 10.63 ± 12 <sup>b</sup>  | 39405 ± 188 <sup>b</sup> |
| 5                  | 52.09 ± 0.34 <sup>e</sup> | 3.13 ± 0.8 <sup>a</sup> | 13.650 ± 19 <sup>a</sup> | 45364 ± 172 <sup>a</sup> |

۱: تیمار شاهد، ۲: تیمار حاوی ۵٪ فیبر مالت جو، ۳: تیمار حاوی ۱۰٪ فیبر مالت جو، ۴: تیمار حاوی ۱۵٪ فیبر مالت جو، ۵: تیمار حاوی ۲۰٪ فیبر مالت جو

1: control treatment, 2: treatment containing 5% barley malt fiber, 3: treatment containing 10% barley malt fiber, 4: treatment containing 15% barley malt fiber, 5: treatment containing 20% barley malt fiber

بیان نمودند که از بتاگلوکان می‌توان به عنوان مقلد چربی در فرآورده های غذایی استفاده نمود، زیرا با قابلیت افزایش ویسکوزیته و تشکیل ژل، قادراست در محصول کم چرب، قوام و بافت ایجاد نماید و حتی محتوای رطوبت را جهت حفظ تازگی محصول در طول نگهداری، نسبت به نمونه فاقد آن حفظ کند (Lazaridou et al., 2007).

### اندازه‌گیری میزان خاکستر

اثر افزودن فیبر مالت جو بر میزان خاکستر نمونه‌های سس مایونز کم چرب نتایج نشان داد که افزودن فیبر استخراج شده از تفاله مالت جو منجر به افزایش معنی‌دار خاکستر نمونه‌های سس مایونز شد ( $P < 0/05$ ). به طوری که تیمار حاوی ۲۰٪ فیبر مالت جو بیشترین میزان خاکستر و تیمار شاهد کمترین میزان آن را داشت (جدول ۲).

از طرفی ذکر این نکته ضروری است که براساس تحقیق امیرعقدايي و همکاران (Amiri Aghdaei et al., 2012)، که به بررسی اثر بتاگلوکان به عنوان جایگزین روغن در سس مایونز پرداخته‌اند و با کاهش میزان روغن در فرمولاسیون، در سطحی تقریباً برابر به فرمولاسیون اولیه سس مایونز آب افزوده‌اند، در این پژوهش نیز با افزودن فیبر استخراج شده از مالت جو، میزان چربی کاهش یافت. بنابراین به طریقی ضمن بهره‌مندی از اثر مثبت بتاگلوکان در حفظ و نگهداری رطوبت در محصول تولیدی نسبت به نمونه شاهد، افزایش میزان آب در نمونه‌های حاوی بتاگلوکان خود عاملی بر افزایش میزان رطوبت محصول بوده که در آن‌ها جایگزینی روغن صورت گرفت (Amiri Aghdaei et al., 2012). همچنین لازاریدو و همکاران (Lazaridou et al., 2007)، در پژوهش خود

فیبر مالت جو دارای حدود ۲/۵٪ خاکستر می‌باشد که در این صورت با افزایش میزان فیبر به فرمولاسیون سس مایونز کم چرب، میزان خاکستر در نمونه‌ها نیز افزایش یافت (Kuret et al., 2016). افزودن فیبر مالت جو با دارا بودن املاح زیاد، باعث شده خاکستر نیز در تمامی نمونه‌های افزایش یابد (Shahriari, 2016). نتایج این تحقیق با نتایج امیر عقدایی و همکاران (Amiri Aghdaei et al., 2012)، که تأثیر بتاگلوکان جوی دوسر بدون پوشینه به عنوان مقلد چربی بر ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی، بافتی و حسی سس مایونز کم چرب را بررسی کردند، مطابقت دارد (Amiri Aghdaei et al., 2012). همچنین در پژوهشی که زارعی و داودی (Zarei and Davoudi, 2017) بر روی بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی، تصویر، بافتی و حسی سس مایونز کم چرب حاوی آرد کامل دانه خربزه حاوی فیبر انجام دادند، بیان کردند که با افزایش میزان آرد خربزه میزان خاکستر نمونه‌های سس مایونز افزایش یافت که با نتایج این پژوهش مشابهت دارد (Zarei and Davoudi, 2017).

#### اندازه‌گیری میزان فیبر

اثر افزودن فیبر مالت جو بر میزان فیبر نمونه‌های سس مایونز کم چرب نتایج نشان داد که افزودن فیبر استخراج شده از تقاله مالت جو منجر به افزایش معنی‌دار فیبر نمونه‌های سس مایونز شد ( $P<0/05$ ). به طوری که تیمار حاوی ۲۰٪ فیبر مالت جو بیشترین میزان فیبر و تیمار شاهد کمترین میزان آن را داشت (جدول ۲). با توجه به تحقیقات انجام شده فیبر جو دارای ۸۰٪ فیبر غذایی (۷۸٪ بخش غیر محلول و ۲٪ بخش محلول) بود. ترکیب شیمیایی فیبر غذایی شامل: پروتئین ۴ درصد، کربوهیدرات ۳/۲ درصد، چربی ۱/۸ درصد و خاکستر ۲/۵ درصد بود (Kuret et al., 2016). تبادل کاتیونی یک ویژگی فیزیکی مهم فیبرهای غذایی است. این توانایی فیبر است که یون‌های فلزی را در سطح آن به همان روشی متصل کند که مواد معدنی رسی قادر به نگهداری کاتیون‌ها در خاک هستند، بنابراین بی‌تردید کاهش در دسترس بودن مواد معدنی و جذب الکترولیت به دلیل اتصال مواد معدنی و الکترولیت‌ها است. به نظر می‌رسد تعداد گروه‌های کربوکسیل آزاد روی بقایای قند و محتوای اسید اورونیک پلی-ساکاریدها به خصوصیات تبادل کاتیونی فیبرها مربوط باشد. بنابراین خاصیت تبادل کاتیونی فیبر به حضور چندین گروه عملیاتی که مسئول توانایی تبادل هستند، بستگی دارد. این ویژگی در درجه اول به حضور فلز و گروه‌های کربوکسیل از اسید سولورونیک پکتین و بخش همی سلولز، گلوکورونوکیسلان بستگی دارد. فیبرهای نامحلول دارای ظرفیت تبادل بالاتر و بعد از آن به ترتیب فیبر غذایی کل و فیبر غذایی محلول است. این ظرفیت تبادل کاتیونی بالای فیبر غذایی

نامحلول ممکن است به دلیل ترکیبات شیمیایی آن باشد. ظرفیت تبادل کاتیونی فیبر غذایی کل عمدتاً به محتوای فیبر غذایی نامحلول آن بستگی دارد. این مبادله به عنوان بانکی عمل می‌کند که  $Ca^{++}$ ،  $Na^{+}$  و  $Mg^{++}$  در هنگام کاهش pH با  $H^{+}$  مبادله می‌شوند و هنگامی که کاتیون‌های جدید موقع مخلوط شدن بزاق و بلع در دسترس هستند دوباره شارژ می‌شوند. همچنین ظرفیت تبادل کاتیونی توانایی فیبر در اتصال مواد معدنی را دارد بنابراین می‌تواند منجر به افزایش ترشح مدفوع، مواد معدنی و الکترولیت‌ها شود. با این وجود ظرفیت تبادل کاتیونی بالاتر از فیبر ممکن است به اتصال فلزات سنگین کمک کند. علاوه بر این، تمام بخش‌های فیبر خاصیت ظرفیت تبادل کاتیونی را به نمایش می‌گذارند، فیبر می‌تواند به طور موثر بدن انسان را در برابر بلعیدن فلز کاتیون سمی سنگین مانند جیوه و سرب سم‌زدایی و دفع کلسترول و اسیدهای صفراوی یا نمک‌ها را افزایش دهد. این ظرفیت برای اتصال یون‌های فلزی سنگین به آنها فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی می‌بخشد (Daou Zhang, 2013). هنگامی که آب وارد ساختار فیبر می‌شود، درشت مولکول‌ها را پراکنده می‌سازد (تورم) تا هنگامی که کاملاً پراکنده شوند مولکول‌هایی مانند سلولز به دلیل ساختار خاص خود به پراکندگی نهایی نمی‌رسند، یعنی متورم می‌شوند اما حل نمی‌شوند. بنابراین احتمالاً آمورف شدن سلولز و ایجاد فضاهای خالی در شبکه لیگنوسولزی سبب افزایش نفوذ آب به آن و افزایش تورم می‌شود (Niasti et al., 2017). ژانگ و همکاران در سال (Zhang et al., 2013) در بررسی اثر فرایند اکستروژن بر ویژگی‌های فیبر رژیمی محلول سبوس جو دوسر، قدرت تورم بالا را به حضور تعداد زیاد زنجیره‌های طویل فیبر رژیمی نسبت دادند. با توجه به غنی بودن مالت جو از فیبر به خصوص بتاگلوکان نتیجه‌گیری می‌شود که افزودن فیبر استخراج شده همانطور که انتظار می‌رفت باعث افزایش درصد فیبر در تیمارهای حاوی فیبر در سس مایونز کم چرب شد (Zhang et al., 2013).

#### اندازه‌گیری میزان ویسکوزیته

اثر افزودن فیبر مالت جو بر میزان ویسکوزیته نمونه‌های سس مایونز کم چرب نتایج نشان داد که افزودن فیبر استخراج شده از تقاله مالت جو منجر به افزایش معنی‌دار ویسکوزیته نمونه‌های سس مایونز شد ( $P<0/05$ ). به طوری که تیمار حاوی ۲۰٪ فیبر مالت جو بیشترین میزان ویسکوزیته و تیمار شاهد کمترین میزان را داشت (جدول ۲). شاید دلیل افزایش ویسکوزیته این امر باشد که در این سطح جایگزینی، هنوز روغن به مقدار کافی جهت تشکیل امولسیون مستحکم در دسترس نباشد و با افزودن فیبر مالت جو به سیستم امولسیون سس مایونز، ویسکوزیته افزایش می‌یابد. از سوی دیگر در

موجب افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته شده و ویژگی‌های بافتی آن را بهبود می‌بخشد. نتایج مشابهی در پژوهش حاضر نیز گزارش شده است (Golchoobi and Nouri, 2015; Mun et al., 2009).

#### اندازه‌گیری میزان رنگ‌سنجی ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ )

اثر افزودن فیبر مالت جو بر میزان رنگ‌سنجی ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) نمونه‌های سس مایونز کم چرب نتایج نشان داد که افزودن فیبر استخراج شده از تفاله مالت جو منجر به کاهش معنی‌دار میزان روشنایی و زردی و افزایش میزان قرمزی نمونه‌های سس مایونز شد ( $P < 0/05$ ). به طوری که تیمار حاوی ۲۰٪ فیبر مالت جو بیشترین میزان قرمزی و کمترین میزان روشنایی و زردی و تیمار شاهد بیشترین میزان زردی و روشنایی و کمترین میزان قرمزی را داشت (جدول ۳).

سس مایونز، افزایش سطح تماس قطرات روغن با یکدیگر منجر به افزایش نیروی اصطکاک بین ذرات می‌شود، همین امر تاثیر بسزایی بر ویسکوزیته مایونز دارد (Nikzade et al., 2012). از طرفی فیبرها به دلیل قابلیت جذب آب بالایی که دارند موجب اتصال مقدار بیشتری از آب با فیبر شده باعث ایجاد ویسکوزیته بیشتر در فاز پیوسته آبی امولسیون گردیده است (Eronen et al., 2010). امیری در سال (2010, Amiri)، گزارش کرد، استفاده از بتاگلوکان جو بدون پوشینه به عنوان جایگزین چربی در مقادیر ۲۰ درصد موجب افزایش میزان ویسکوزیته در سس مایونز کم‌چرب شد ولی با افزایش درصد جایگزینی تا مقدار ۳۰ درصد، ویسکوزیته نمونه کاهش و دوباره با افزایش درصد جایگزینی، ویسکوزیته افزایش یافت که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (Amiri, 2010). گلچوبی و همکاران (Golchoobi and Nouri, 2015) و مان و همکاران (Mun et al., 2009) نیز نشان دادند که افزودن صمغ گزانتان به مایونز کم چرب

جدول ۳- نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر فیبر بر میزان رنگ ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) نمونه‌های سس مایونز کم چرب

Table 3- The results of comparing the average effect of fiber on the amount of color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) of low-fat mayonnaise samples

| تیمار<br>Treatment | روشنایی<br>$L^*$        | قرمزی<br>$A^*$            | زردی<br>$B^*$            |
|--------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|
| 1                  | 24.99 ± 34 <sup>a</sup> | -2.12 ± 0.09 <sup>d</sup> | 1.31 ± 17 <sup>a</sup>   |
| 2                  | 21.15 ± 38 <sup>b</sup> | 7.69 ± 0.50 <sup>c</sup>  | 4.50 ± 21 <sup>b</sup>   |
| 3                  | 16.83 ± 48 <sup>c</sup> | 8.25 ± 0.02 <sup>c</sup>  | 7.58 ± 12 <sup>c</sup>   |
| 4                  | 15.12 ± 15 <sup>d</sup> | 9.02 ± 0.08 <sup>b</sup>  | 10.63 ± 12 <sup>d</sup>  |
| 5                  | 13.72 ± 15 <sup>e</sup> | 10.20 ± 0.62 <sup>a</sup> | 13.650 ± 19 <sup>e</sup> |

۱: تیمار شاهد، ۲: تیمار حاوی ۵٪ فیبرمالت جو، ۳: تیمار حاوی ۱۰٪ فیبر مالت جو، ۴: تیمار حاوی ۱۵٪ فیبر مالت جو، ۵: تیمار حاوی ۲۰٪ فیبر مالت جو

1: control treatment, 2: treatment containing 5% barley malt fiber, 3: treatment containing 10% barley malt fiber, 4: treatment containing 15% barley malt fiber, 5: treatment containing 20% barley malt fiber

رنگ فرآورده موجب کاهش اندازه ذرات مایونز شده و همین امر باعث کاهش روشنایی نمونه‌ها شود (Amiri Aghdaei et al., 2012). در همین راستا امیر عقدایی و همکاران (Amiri Aghdaei et al., 2012)، گزارش کردند که افزودن میزان بتاگلوکان جو دوسر موجب کاهش روشنایی در مایونز می‌شود. وراسینچای و همکاران (Worrasinchai et al., 2006) با بررسی ویژگی‌های رنگی سس مایونز کم چرب تهیه شده با استفاده از بتاگلوکان استخراج شده از مخمر ساکاروماسیس سرویزیه با کاهش میزان روغن کاهش روشنی را گزارش نمودند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (Worrasinchai et al., 2006).

اندازه‌گیری میزان ارزیابی حسی (طعم، بو، بافت، رنگ، پذیرش کلی)

به طور کلی یکی از وظایف روغن در فرمولاسیون محصولات غذایی ایجاد برایت یا درخشندگی در سطح نمونه می‌باشد که با کاهش میزان روغن، چربی و یا شورتینینگ مصرفی، در فرمولاسیون از میزان درخشندگی کاسته می‌شود حتی به گونه‌ای که ممکن است این محصول بازارپسندی خود را از دست بدهد. از این رو این انتظار وجود داشت که با کاهش سطح روغن در فرمولاسیون سس و جایگزین نمودن آن با فیبر مالت جو از میزان مولفه رنگی  $L^*$  کاسته می‌شود. از سوی دیگر نتایج ارزیابی مولفه رنگی  $a^*$  بیانگر افزایش میزان این مولفه رنگی با افزایش سطح بتاگلوکان و فیبر مالت جو در فرمولاسیون سس مایونز کم چرب بود. همچنین علت کاهش میزان مولفه رنگی  $b^*$  می‌تواند به دلیل کاهش مصرف روغن در فرمولاسیون که منجر به کاهش زردی شد که به احتمال زیاد این امر تحت تاثیر رنگدانه‌های موجود در روغن بوده است (Naghipour et al., 2017). از طرفی شاید بتا گلوکان علاوه بر تاثیر مستقیم بر

معنی‌دار نبود ( $P>0/05$ ). به طوری‌که تیمار حاوی ۲۰٪ فیبر مالت جو کمترین امتیاز حسی (طعم، بو، بافت، رنگ، پذیرش کلی) و تیمار حاوی ۵ و ۱۰ درصد فیبر مالت جو بیشترین امتیاز حسی (طعم، بو، بافت، رنگ، پذیرش کلی) را از ارزیابان دریافت کردند (جدول ۴).

اثر افزودن فیبر مالت جو بر میزان ارزیابی حسی (طعم، بو، بافت، رنگ، پذیرش کلی) نمونه‌های سس‌مایونز کم چرب نتایج نشان داد که افزودن فیبر استخراج شده از تفاله مالت جو منجر به کاهش معنی‌دار امتیاز طعم، بافت، رنگ و پذیرش کلی نمونه‌های سس مایونز شد ( $P<0/05$ ). اما کاهش امتیاز بو از لحاظ آماری برای بو

جدول ۴- نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر فیبر بر امتیاز حسی نمونه‌های سس مایونز کم چرب

Table 4- The results of comparing the average effect of fiber on the sensory score of low-fat mayonnaise samples

| تیمار<br>Treatment | طعم<br>Taste              | بو<br>Odor                | بافت<br>Texture           | رنگ<br>Color              | پذیرش کلی<br>General acceptance |
|--------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------------|
| 1                  | 4.33 ± 0.58 <sup>ab</sup> | 5.0 ± 0.0 <sup>a</sup>    | 3.67 ± 0.58 <sup>bc</sup> | 4.33 ± 0.58 <sup>ab</sup> | 4.67 ± 0.58 <sup>a</sup>        |
| 2                  | 5 ± 0.0 <sup>a</sup>      | 4.67 ± 0.58 <sup>ab</sup> | 4.33 ± 0.58 <sup>ab</sup> | 4.67 ± 0.58 <sup>a</sup>  | 4.67 ± 0.58 <sup>a</sup>        |
| 3                  | 4.33 ± 0.58 <sup>ab</sup> | 4.67 ± 0.58 <sup>ab</sup> | 4.67 ± 0.58 <sup>a</sup>  | 4.0 ± 0.1 <sup>abc</sup>  | 4.67 ± 0.58 <sup>a</sup>        |
| 4                  | 3.67 ± 0.58 <sup>b</sup>  | 4.33 ± 0.58 <sup>ab</sup> | 3.33 ± 0.58 <sup>c</sup>  | 3.33 ± 0.58 <sup>bc</sup> | 4.0 ± 0.58 <sup>a</sup>         |
| 5                  | 3.33 ± 0.58 <sup>b</sup>  | 4.0 ± 0.0 <sup>b</sup>    | 3.0 ± 0.0 <sup>c</sup>    | 3.0 ± 0.0 <sup>c</sup>    | 3.0 ± 0.0 <sup>b</sup>          |

۱: تیمار شاهد، ۲: تیمار حاوی ۵٪ فیبرمالت جو، ۳: تیمار حاوی ۱۰٪ فیبر مالت جو، ۴: تیمار حاوی ۱۵٪ فیبر مالت جو، ۵: تیمار حاوی ۲۰٪ فیبر مالت جو

1: control treatment, 2: treatment containing 5% barley malt fiber, 3: treatment containing 10% barley malt fiber, 4: treatment containing 15% barley malt fiber, 5: treatment containing 20% barley malt fiber

پژوهشی که بر روی تأثیر سطوح چربی و افزودن صمغ گوار در امولسیون‌های مایونز بر ادراک حسی طعم دود و طعم شور انجام دادند، گزارش نمودند که با توجه به یکسان بودن ویسکوزیته نمونه های مایونز، کاهش عطر و طعم و مزه در مایونز کم چرب ناشی از افزودن صمغ گوار بوده است. که نتایج این پژوهش را تایید می‌کند (Kostyra and Barylko-Pikielna, 2007).

### نتیجه‌گیری

در این تحقیق اثر جایگزینی درصدهای مختلف فیبر استخراج شده از تفاله مالت جو با چربی در سطوح (۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد)، بر خواص فیزیکوشیمیایی (پروتئین، چربی، فیبر، خاکستر، ویسکوزیته و رنگ‌سنجی ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ )) و خواص حسی (طعم، بو، رنگ، بافت و پذیرش کلی) مورد بررسی قرار گرفت. به طور کلی نتایج نشان داد که جایگزین‌های حاوی فیبر مثل جو می‌توانند به دلیل کم کردن میزان کالری ناشی از چربی در فرمولاسیون سس مایونز کم چرب کمک به رژیم غذایی کنند و میزان فیبر رژیمی را افزایش دهند که در این صورت می‌توان از خواص فیبرها نیز در این محصول بهره برد. استفاده از جایگزین‌های چربی یکی از این شرایط بهبود یافته است که علاوه بر کاهش میزان کالری دریافتی، خواص مطلوبی مانند افزایش فیبر و خواص حاصل از آن را در محصول به‌همراه دارد. در نهایت تیمار ۳ (حاوی ۱۰ درصد فیبر مالت جو) به عنوان تیمار برتر شناخته شد.

از آنجا که کمترین امتیاز رنگ مربوط به تیمار حاوی ۲۰ درصد فیبر استخراج شده از مالت جو بود، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که افزایش درصد جایگزینی فیبر با روغن موجب کاهش میزان روشنایی و تاثیر نامطلوب بر رنگ فرآورده شده است. همچنین افزودن فیبر تا ۲۰ درصد به دلیل طعم خود فیبر تا حدودی باعث کاهش امتیازات این پارامترها شد. و بافت نمونه‌های سس مایونز از آنجایی که با افزودن میزان فیبر، ویسکوزیته افزایش یافت امتیازات کمتری در تیمار حاوی ۲۰ درصد فیبر گرفت (Arabshahi et al., 2014). در همین راستا امیر عقدایی و همکاران (Amiri Aghdaei et al., 2012)، در تحقیقی که بر روی تاثیر بتاگلوکان جو بدون پوشینه به عنوان مقلد چربی بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، بافتی و حسی سس مایونز کم چرب انجام دادند گزارش کردند که امتیازات حسی نمونه‌ها با افزایش جایگزینی بتاگلوکان، کاهش یافت (Amiri Aghdaei et al., 2012). همچنین طی تحقیقی که عربشاهی و همکاران (Arabshahi et al., 2014)، بر روی تاثیر موسیلاژ دانه ریحان به عنوان جایگزین چربی بر روی سس مایونز کم چرب انجام دادند، نتایج مشابهی را گزارش کردند. گلوچوبی و همکاران (Golchoobi et al., 2015)، نیز در تحقیقی که بر روی کاربرد توأم نانوفیبر سلولز و صمغ گوار به عنوان پایدار کننده در مایونز کم چرب انجام دادند گزارش کردند که افزودن میزان غلظت صمغ گوار و نانو فیبر سلولز موجب کاهش امتیاز طعم و مزه و رنگ در نمونه‌های سس مایونز کم چرب شد و امتیاز بو در تیمارها از لحاظ آماری معنی‌دار نبود که در راستای پژوهش حاضر بود (Golchoobi et al., 2015). همچنین کاستیرا و بارلیکو (Kostyra and Barylko-Pikielna, 2007) در



## منابع

1. Amiri Aghdaei, S.S., Alami, M., Sadeghi Mahonek, A., & Jafari, S.M. (2012). Effect of hull -less barley beta -glucan as a fat mimetic on physicochemical, textural and sensory properties of low fat mayonnaise. *Food Industry Research (Agricultural Knowledge)*, 22(2), 141-154. SID. <https://sid.ir/paper/148466/fa>.
2. Amiri, S. (2010). *Extraction of beta-glucan from hulled barley and its use in mayonnaise formulation*, Master's thesis, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.
3. Arabshahi, S., Aalami, M., & Amir Aghdaei, S. (2014). Effect of basil seed mucilage as a fat replacer on physicochemical, rheological and sensory properties of low fat mayonnaise. *Journal of Food Industry Research*, 42(4).
4. Bortnowska, G., & Makiewiewicz, A. (2006). Technological utility of guar gum and xanthan for the productio of low fat inulinenriched mayonnaise. *Acta Science Poland Tecnology*, 5, 135-146.
5. Bostani, A.N., Ahmed, M.G., & Salem, A.A. (2011). Development of light mayonnaise formula using carbohydrate based fat replacement. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(9), 673-682.
6. Brückner-Gühmann, M., Benthin, A., & Drusch, S. (2018). Enrichment of yoghurt with oat protein fractions: Structure formation, textural properties and sensory evaluation. *Food Hydrocolloids*, S0268-005X(17)31679-X.
7. Dadapour, S., & Yazdan Panah, P. (2020). Production of low -fat mayonnaise with using nano -emulsion of Cordia myxal extract. *Food Science and Industry*, 104(17), 1. <http://doi.org/10.52547/fsct.17.104.135>.
8. Daou, Ch, & Zhang, H. (2013). Functional and physiological properties of total, soluble, and insoluble dietary fibres derived from defatted rice bran. *Journal Food Science Technology*, 51(12), 3878–3885.
9. Eronen, P., Junka, K., Haggblom, M., Laine, J., & Osterberg, M. (2010). *Polysaccharide interactions with nanocellulose as a platform for biomimetic modifications*. In Proceeding of the International Conference on Nanotechnology for the Forest Products Industry (pp. 1099-1122). Georgia: TAPPI Press.
10. Ghorbanian, N., & Nouri, L. (2016). Investigating the possibility of using sodium actinyl succinate modified starch (E1450) as an egg substitute in mayonnaise. *Innovation in Food Science and Technology (Food Science and Technology)*, 8(3), 65-75. <https://sid.ir/paper/502243/fa>.
11. Golchoobi, L., Alimi, M., & Yousefi, H. (2015). The effects of the addition of nanofiber cellulose and carboxy methyl cellulose on physicochemical and sensory properties of low-fat Mayonnaise, *New Journal of Modern Food Technologies*, 3(2), 23-32. <http://doi.org/10.22104/JIFT.2015.227>.
12. Kostyra, E., & Barylko-Pikielna, N. (2007). The effect of fat levels and guar gum addition in mayonnaise-type emulsions on the sensory perception of smoke-curing flavour and salty taste. *Food Quality and Preference*, 18, 872–879.
13. Kuret, M., Wyrwicz, J., Piwinska, M., & Wierzbicka. (2016). The effect of oat fibre powder particle size on the physical properties of wheat bread rolls. Wheat Bread Rolls with Oat Fibre, *Food Technology Biotechnology*, 54(1), 45–51.
14. Lazaridou, A., Biliaderis, C.G., & Izydorczyk, M.S. (2007). *Cereal b-glucans: Structures, physical properties, and physiological functions*. In C. G. Biliaderis and M. S. Izydorczyk (Eds.), *Functional food carbohydrates* (pp. 1–72). Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group.
15. Lee, I., Lee, S., Lee, N., & Ko, S. (2013). Reducedfat mayonnaise formulated with gelatinized rice starch and xanthan gum. *Cereal Chemistry*, 1, 29-34.
16. Li, J., Yuntao, W., Bin, Z., & Bin, L. (2014). Application of micronized konjak gel for fat analog in mayonnaise. *Food Hydrocolloid*, 35, 375-382.
17. 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.
18. Mirghafoori, S., & Rahimi, S. (2016). Evaluation of the physicochemical, emulsion and rheological properties of mayonnaise containing soy milk and Aloe vera gel. *Journal of Innovative Food Technologies*, 3(11), 73-83. <http://doi.org/10.22104/JIFT.2016.296>.
19. Mun, S., Kim, Y.L., Kang, C., Kang, C., Shim, J., & Kim, Y. (2009). Development of reduced-fat mayonnaise using 4-alpha GTase-modified rice starch and xanthan gum. *International Journal of Biological Macromolecules*, 44(5), 400-407.
20. Naghipour, F., Tabatabaei Yazdi, F., Karimi, M., Mortazavi, S.A., & Mohebbi, M. (2017). Effect of sorghum  $\beta$ -Glucan as fat replacer in low fat GlutenFree cup cake production. *Journal of Food Sciences and Industries. JFST* 61(13).
21. National Standard of Iran No. 2454, (2015). Publications of the Organization of Standards and Industrial Research of Iran, Mayonnaise and salad dressings - characteristics and methods.
22. National Standard of Iran No. 2965, (2002). Characteristics and methods of microbiological test of mayonnaise sauce and salad dressing.



23. National Standard of Iran No. 3827, (2013). Publications of the Organization of Standards and Industrial Research of Iran, Soup Characteristics and Method.
24. Niasi, S., Haddad Khodaparast, M., Milani, M., & Koocheki, A. (2017). Production and optimization of functional fiber supplement based on food by-products using extrusion technology. *Research and Innovation in Food Science and Industry*, 7(2), 14-133.
25. Nieto-Nieto, T., Wang, Yi., Ozimek, L., & Chen, L. (2015). Inulin at low concentrations significantly improves the gelling properties of oat protein e A molecular mechanism study. *Food Hydrocolloids*, 50, 116e127.
26. Nikzade, V., Mazaheri Tehrani, M., & Saadatmand-Tarzjan, M. (2012). Optimization of low-cholesterol low-fat mayonnaise formulation: effect of using soy milk and some stabilizer by a mixture design approach. *Food Hydrocolloids*, 28(2), 344–352.
27. Salehi Far, M., & Fadai Noghani, V. (2013). Investigating the possibility of extracting dietary fiber from rice bran and comparing its functional properties with commercial wheat fiber. *Food Technology & Nutrition*, 10(3). <https://sid.ir/paper/143270/fa>.
28. Shahriari, K. (2016). *Effect of wheat and barley malt flour supplementation in increasing the fiber and protein of sponge cake*. The 23rd National Congress of Food Sciences and Industries of Iran focusing on the food industry and applied research, November 20 and 21.
29. Shen, R., Luo, S., & Dong, J. (2011). Application of oat dextrine for fat substitute in mayonnaise. *Food Chemistry*, 126, 65-71.
30. Vazquez-Ovando, A., Rosado-Rubio, G., Chel Guerrero, L., & Betancur-Ancona, D. (2009). Physicochemical properties of a fibrous fraction from chia (*Salvia hispanica* L.). *Journal Food Science Technology*, 42, 168-173.
31. Worrasinchai, S., Supphantharika, M., Pinjai, S., & Jamnong, P. (2006). Glucan prepared from spent brewer,s yeast as a fat replacer in mayonnaise. *Food Hydrocolloids*, 20(1), 68-78.
32. Zarei, A, & Davoudi, M. (2017). Evaluation of physicochemical, image, textural and sensory properties of low fat mayonnaise containing melon seed flour. *Iran Food Science and Industry*, 13(61), 177-184. <https://sid.ir/paper/71869/fa>.
33. Zhang, H., Zhang, Y., Wang, X., Qisen, X., Bai, Y., Li, S., & Yang, L. (2017). Effects of Bamboo shoot dietary fiber on mechanical properties, moisture distribution, and microstructure of frozen dough. *Journal of Chemistry*, 4513410, 7 pages.



## Identification of Bioactive Compounds in the Extracts of Brown Algae *Sargassum* (*Sargassum angustifolium*) and *Padina* (*Padina distromatic*) and Evaluation of Antimicrobial, Antioxidant and Enzymatic Properties

Kh. Shirani-Bidabadi<sup>1</sup>, Sh. Safaeian<sup>2\*</sup>, R. Mousavi-Nodoshan<sup>3</sup>, N. Rahimifard<sup>4</sup>

Received: 2021.10.23

Revised: 2021.11.20

Accepted: 2021.11.24

Available Online: 2022.05.15

### How to cite this article:

Shirani-Bidabadi, Kh., Safaeian, Sh., Mousavi-Nadoshan, R., & Rahimifard, N. (2023). Identification of bioactive compounds in the extracts of brown algae *Sargassum* (*Sargassum angustifolium*) and *Padina* (*Padina distromatic*) and evaluation of antimicrobial, antioxidant and enzymatic properties. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 19(2), 259-277. <http://doi.org/10.22067/ifstrj.2021.73113.1104>

### Introduction

*Sargassum* and *Padina* are two genera of brown algae that are widely scattered in temperate regions. *Sargassum* species are categorized as tropical and sub-tropical brown seaweed which are valuable sources of bioactive compounds including dietary fibers, carotenoids, vitamins, and minerals. These brown algae demonstrate diverse biological activities such as antioxidant, antimicrobial, and anti-Alzheimer, due to the presence of flavonoids, triterpenoids, flavonoids, sterols, polyphenols, and pheophytine. The genus *Padina* is scattered in many environmental conditions, mainly in the tropical marine waters, and belongs to the family *Dictyotaceae*. Some bioactive components isolated from *Padina* species have been demonstrated hypoglycemic, hypolipidemic, anti-obesity, hepatoprotective, cardioprotective, immunostimulatory, and antimicrobial activities. The aim of this study was to prepare an extract from two species of algae *Padina* and *Sargassum* by massaging and ultrasound assisted-methods as well as analyzing their compounds and investigating the antioxidant, antimicrobial and enzymatic properties of the extracts. According to the obtained results, ultrasound assisted method was a suitable method for extraction. This extract can be used as a combination of antioxidant, antimicrobial, anti-Alzheimer's and nitrate reducing agent in food additives.

### Materials and Methods

Chemical materials were supplied by Sigma-Aldrich GmbH (Sternheim, Germany). The algal species utilized in the current investigation; namely, *Padina distromatic* and *Sargassum angustifolium* were collected from the coastal region of Chabahar bandar, Sistan and Baluchistan Province, Iran. To eliminate all the impurities and extraneous materials, they were washed by using distilled water and then dried at ambient temperature (24-48 h) until the constant weight. Extraction by maceration was compared with the extraction using ultrasonic assisted method. Determination of chemical compounds was performed using GC-MS device. Investigation of antioxidant properties and total polyphenol and flavonoid content were also performed. The degree of free radical scavenging was done according to DPPH method. Evaluation of antimicrobial effect of algae extracts were the main challenges in our research. *S. aureus* ATCC25923, *Listeria innocua* ATCC 33090, *E. coli* ATCC 25922 and *S. typhi* ATCC 6539 were used for antimicrobial test. Determination of minimum growth inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were performed using wells in agar. The enzymatic activity was also determined. In this study, the activity of acetylcholinesterase was investigated using the method introduced by Ellman et al. (1961) and also the activity of nitric oxidase was determined using a kit protocol (Nvand-Iran). Factorial experiment in the form of a completely randomized

1, 2, 3 and 4- Ph.D Student, Associate Professors and Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Biological Science, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, respectively.

(\*- Corresponding Author Email: [shilla2462462@yahoo.co.in](mailto:shilla2462462@yahoo.co.in))

4- Professor, Faculty of Paramedicine, Iran University of Medical Science, Tehran, Iran

DOI: [10.22067/ifstrj.2021.73113.1104](https://doi.org/10.22067/ifstrj.2021.73113.1104)

design was used to analyze the data. Duncan's multiple range test was used to determine the difference between the means at the 95% confidence level, and SAS software version 2.9 will used for statistical analysis.

## Results and Discussion

The current study investigated the antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory, and anti-Alzheimer's attributes of two brown algae namely *Padina distromatic* and *Sargassum angustifolium* which were collected from the coastal region of Chabahar Bandar, Iran. The results clearly indicated that the type of algae and extraction techniques used in this investigation highly affected phytochemical compositions, antioxidant, AChE inhibitory, scavenging, and antimicrobial activities. Considering both extraction yield and phytochemical components, extraction by ultrasound assisted method provided better results. Among all algal extracts, UPE presented the highest AChE inhibitory activity, and antibacterial activity and USE presented the highest antioxidant activities, total phenols and flavonoids, reflecting the presence of various bioactive components. The extracts of two various seaweeds utilized in the current study highlighted considerable inhibitory action against four pathogenic bacteria. According to the observations of the antibacterial assay, *S. aureus* was the most sensitive microorganism, while *L. innocua* was revealed as the most resistant bacteria to the extracts of *P. distromatic* and *S. angustifolium*. Further, the chemical components responsible for the antioxidant, AChE inhibitory, and antibacterial power were confirmed by GC-MS analysis. The findings of the current investigation confirmed the potential of the health benefits and therapeutic effect of brown marine algae. Thus, the extract of *P. distromatic* and *S. latifolium* could be an effective supplement to be incorporated into the products' formulation in the food and pharmaceutical industries as well as in medication to alleviate several disorders such as Alzheimer.

**Keywords:** Algae, Antimicrobial, Enzymatic properties, Extraction, GC-MS

## مقاله پژوهشی

# شناسایی ترکیبات زیست فعال موجود در عصاره جلبک‌های قهوه‌ای سارگاسوم (*Sargassum angustifolium*) و پادینا (*Padina distromatic*) و بررسی اثرات ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و خواص آنزیمی آن‌ها

خدیدجه شیرانی بیدآبادی<sup>۱</sup> - شیلا صفاییان<sup>۲\*</sup> - رضوان موسوی ندوشن<sup>۳</sup> - ناهید رحیمی فرد<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۰۱

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۸/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۰۳

## چکیده

جلبک‌های دریایی جز منابع غنی گیاهی محسوب می‌شوند که در طب سنتی کاربردهای گوناگونی دارند. هدف از این مطالعه عصاره‌گیری دو گونه جلبک پادینا و سارگاسوم به دو روش ماسیراسیون و اولتراسوند به همراه آنالیز ترکیبات آن‌ها و بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و خواص آنزیمی عصاره‌ها بوده است. نتایج حاکی از آن است که بازده عصاره‌گیری جلبک سارگاسوم به روش ماسیراسیون از باقی عصاره‌ها بالاتر بوده است (۳/۰۹ g/100g) و عصاره اولتراسوندی این جلبک خواص آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بالاتری داشته است. مهار آنزیم استیل کولین استراز و میزان فعالیت آنزیم نیتریک اکساید در عصاره اولتراسوندی پادینا در بالاترین مقدار بود. به طور کلی در همه عصاره‌ها باکتری‌های *Escherichia coli* و *Listeria innocua* از بقیه میکروارگانیسم‌ها مقاوم تر بودند و نتایج آزمون میکروبی نشان داد عصاره اولتراسوند پادینا از باقی عصاره‌ها به طور معناداری خاصیت ضد میکروبی بیشتری داشته است. با توجه به نتایج به دست آمده روش اولتراسوند روش مناسبی جهت عصاره‌گیری می‌باشد و همچنین از این عصاره می‌توان به عنوان ترکیب آنتی‌اکسیدان، ضد میکروب، ضد آلزایمر و کاهش‌دهنده نیترات در افزودنی‌های غذایی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: جلبک، GC-MS، خواص آنزیمی، عصاره‌گیری، ضد میکروبی

## مقدمه

ترکیبات فعال زیستی مثل ترپنوئیدها، فلاونوئیدها، استرول‌ها، پلی ساکاریدهای سولفات‌دار، پلی فنول‌ها، سارگاکوئینوئیک اسیدها، سارگاکرومنول، فتوفیتین از گونه‌های مختلف جلبک ایزوله شده است. این ترکیبات ایزوله شده فعالیت‌های زیستی گوناگونی مانند فعالیت آنتی‌اکسیدانی، حفاظت عصب، ضد میکروب، حفاظت از کبد، ضد ویروسی و غیره نشان می‌دهند (Cox et al., 2010). کشت جلبک به دلیل مصارف بسیار زیاد در زمینه‌های دارویی و غذایی از اهمیت بسیاری برخوردار است. وجود سواحل گسترده در ایران امکان کاشت انواع جلبک‌های دریایی موجود در این اکوسیستم را فراهم می‌آورد. سواحل جنوب کشور ایران به خصوص سواحل غنی استان سیستان و بلوچستان به طول حدود ۳۰۰ کیلومتر یکی از مهم‌ترین مناطق کشت

در میان ارگانیسم‌های دریایی، جلبک‌های دریایی منبع غنی ترکیبات متعدد با فعالیت‌های بیولوژیک هستند. این جلبک‌ها منبعی مغذی و غنی از ترکیبات بیواکتیو مثل ویتامین‌ها، کاروتنوئیدها، فیبرهای غذایی، پروتئین‌ها و مواد معدنی هستند. هم چنین بسیاری از

۱، ۲، ۳ - به ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیاران و استاد گروه صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران  
(\*) - نویسنده مسئول: (Email: shilla2462462@yahoo.co.in)

۴ - استاد دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران  
DOI: 10.22067/IFSTRJ.2021.73113.1104

و پرورش جلبک‌ها می‌باشد. تاکنون بیش از ۱۸۰ گونه از جلبک‌ها در سواحل استان سیستان و بلوچستان شناسایی گردیده است که قسمت اعظم آن دارای ارزش اقتصادی و تجاری بالا و تعدادی نیز خوراکی بوده و به مصرف انسان، دام، طیور و آبزیان می‌رسد و بعضی از گونه‌ها نیز پرورشی می‌باشند (Latifi et al., 2015). جلبک سارگاسوم دارای گونه‌های متعددی است که حاوی پلی‌ساکاریدهای قندی با پایه سوکروز هستند و می‌توانند فعالیت‌های بیولوژیکی متعددی از خود بروز دهند. سارگاسوم دارای شاخه‌های منشعب و انبوه استوانه‌ای شکل است. که از یک محور به تمامی جهات گسترده شده است. شاخه‌های این جلبک به وسیله برآمدگی‌هایی شبیه برگ احاطه گردیده که باعث شناور شدن این جلبک در آب می‌شوند. گونه‌های سارگاسوم جلبک‌های قهوه‌ای (علف دریایی) حاره‌ای و زیرحاره‌ای دریایی کم عمق هستند (Duarte et al., 2001). این جلبک متابولیت‌های ساختاری مثل مروترینئیدها، پلی کوئینون‌ها، استروئیدها، سارگاکوئینوتیک اسیدها، سارگاکرومنول، پلاستوکوئینون-ها، استروئیدها، گلیسیریدها و غیره را تولید می‌کنند که می‌توانند فعالیت‌های درمانی داشته باشند (Yende et al., 2014). پادینا، جلبک دریایی قهوه‌ای متعلق به خانواده Dictyotaceae است که به طور گسترده در سراسر آب‌های گرمسیری وجود دارد و معمولاً در امتداد صخره‌های مرجانی قرار دارند. تاکنون حدود ۸۰ گونه از جنس پادینا در دنیا شناسایی شده است. محل زیست این جلبک دریایی در نواحی جزر و مدی عمق ۱۰-۰۰ متری آب‌های گرم گزارش شده و به دلیل شکل خاص، اندازه و رنگ بخصوص برگ‌های آن به راحتی از سایر جلبک‌های دریایی قابل شناسایی است. در سواحل شمالی خلیج فارس ۶ گونه از جنس پادینا از جمله *Padina borergeresenii* شناسایی شده است. این جلبک جزء فراوان‌ترین جلبک‌های سواحل شمالی دریای عمان و خلیج فارس می‌باشند (Amini et al., 2013; Rohani-Ghadikolaei et al., 2012). داوی و همکاران (Devi et al., 2014) به بررسی خصوصیات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی جلبک *S. wightii* پرداختند. عصاره گیری با استفاده از ۳ حلال استون، اتانول و متانول انجام گرفت. عصاره استخراج شده با استون بیشترین فعالیت ضد میکروبی را علیه ۸ پاتوژن نشان داد. همچنین نتایج GC-MS نشان داد دو ترکیب عمده ۲۴-متلین کلسترول و متیل اولئات در عصاره استخراج شده وجود دارند و دارای بیشترین فعالیت فنولی و فلاونوئیدی بودند. کردجازی و همکاران (Kordjazi et al., 2019) ترکیبات شیمیایی، فعالیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی دو گونه از جلبک سارگاسوم جزیره قشم را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که این جلبک‌های دریایی دارای سطح قابل قبولی از مواد معدنی و پروتئین هستند. همچنین اسید پالمیتیک، اسید

چرب غالب در پروفایل اسیدهای چرب گزارش شد. فعالیت ضد باکتریایی با استفاده از روش انتشار دیسک علیه *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus* (باکتری‌های گرم مثبت) و *Escherichia coli* و *Salmonella enteritidis* (باکتری‌های گرم منفی) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این محققین نشان داد عصاره این ترکیبات هیچ فعالیت ضد میکروبی در برابر باکتری‌های گرم منفی نداشتند. تنها در غلظت ۵ میلی گرم در میلی لیتر هاله کوچکی علیه *B. subtilis* و *S. aureus* مشاهده گردید (Kordjazi et al., 2019). هیلا و همکاران (Hila et al., 2017) به بررسی خصوصیات مختلف عصاره جلبک پادینا به دست آمده از ساحل مدیترانه کشور تونس پرداختند و گزارش کردند این جلبک دارای محتوای بالایی از ترکیبات فنولی و ضد میکروبی است. *Padina australis* دارای مقدار قابل توجهی از پلی‌فنل‌ها با خواص آنتی اکسیدانی و ضد AChE (استیل کولین استراز) می باشد که می توان آنها را در درمان اختلالات نورونیک تاثیرگذار باشند (Hila et al., 2017). همبستگی مثبت قوی بین کل فنولیک و فعالیت آنتی اکسیدانی قسمت‌ها یافت شده است که قسمت کریستال‌های قطبی دارای فعالیت مهار کننده AChE و آنتی اکسیدانی بالاتر هستند (Franco et al., 2008). استیل کولین (ACh) یک انتقال دهنده عصبی تحریک کننده است که در اتصالات عصبی عضلانی و سیناپس گانگلیونی (ganglionic) یافت می شود که توسط آنزیم هیدرولیز کننده استیل کولین استراز (AChE) به استات و کولین هیدرولیز شده است. هیدرولیز ACh توسط AChE موجب خاتمه انتقال عصبی کولینرژیک می شود. بنابراین، مهار AChE ممکن است به میزان قابل توجهی باعث بهبود سطح ACh کاهش یافته در بیماران آلزایمر می شود. در حال حاضر سازمان غذا و دارو، پنج دارو برای استفاده درمانی را تأیید کرده است که ممکن است وضعیت بیمار AD را بهبود بخشد. افق درمان آلزایمر هرگز روشن تر نبوده است. با توجه به مشکلات زیستی و برخی از عوارض جانبی داروها مانند اختلالات دستگاه گوارش و سمیت کبد، هنوز هم علاقه زیادی به پیدا کردن مهار کننده های ChE بهتر از منابع طبیعی وجود دارد (Uysal et al., 2017). هدف از این تحقیق بررسی ترکیبات شیمیایی و خصوصیات مختلف ترکیبات زیست فعال موجود در عصاره استخراج شده ۲ نوع جلبک سارگاسوم و پادینا به دست آمده از استان سیستان و بلوچستان می‌باشد. با توجه به ضرورت به کار گیری ترکیبات طبیعی زیست فعال در محصولات دارویی و غذایی، اهمیت پروژه مشخص می گردد. همچنین قابلیت استفاده از جلبک‌های مورد پژوهش با توجه به پسماند بالای آن‌ها و آلودگی‌های زیست محیطی توجیه قابل قبولی خواهد داشت.

## مواد و روش‌ها

### تهیه جلبک و عصاره‌گیری

جلبک‌های قهوه‌ای پادینا و سارگاسوم از استان سیستان و بلوچستان (بندر چابهار) جمع‌آوری شد. جلبک‌ها به قطعات ریز تبدیل شده و سپس تحت فرایند عصاره‌گیری با دو روش ماسیراسیون و اولتراسونیک قرار گرفتند.

### عصاره‌گیری به روش ماسیراسیون

در این روش ۱۰ گرم از جلبک با ۵۰ میلی‌لیتر حلال‌های متانول، آن-هگزان و آن-بوتانول مخلوط شد. مخلوط به مدت ۲۴ ساعت در محیط قرار داده شد. روز بعد فاز آلی جدا و مجدداً حلال جدید اضافه شد. این عمل برای سه بار تکرار شد. در روز آخر، مخلوط حلال آلی توسط دستگاه تبخیرکننده چرخان حذف گردید (Vieitez et al., 2018).

### عصاره‌گیری روش اولتراسونیک

در این روش، از امواج غیر مستقیم اولتراسونیک با فرکانس ۷۰ کیلو هرتز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت استفاده شد. ۱۰ گرم جلبک به همراه حلال متانول، آن-هگزان و آن-بوتانول در بشر قرار داده شد. مخلوط به مدت یک ساعت در حمام اولتراسونیک قرار گرفت. سپس محلول صاف گردید و متانول و حلال‌های دیگر به دست آمده توسط دستگاه تبخیرکننده چرخان حذف گردید (Pezeshkpour et al., 2018).

### تعیین ترکیبات شیمیایی با استفاده از دستگاه GC-MS

عصاره اتانولی پس از تغلیظ و آماده‌سازی با روش زیر، جهت شناسایی ترکیبات زیست فعال مورد استفاده قرار گرفت. عصاره به مدت ۴۸ ساعت در دمای فریزر قرارداد شد تا ترکیبات موم و چربی آن جدا شود. سپس عصاره اتانولی در همان دما با استفاده از کاغذ صافی جدا شد. عصاره اتانولی با میزان برابری از هگزان مخلوط شده و در یک ارلن ریخته شد. ۱ ساعت مخلوط حاصل بر روی شیکر با دور ۱۸۰ rpm قرار داده شد تا یکنواخت و همزده شود. آن را در یک جداکننده ریخته و ۲۰ دقیقه در دمای محیط و به صورت ثابت قرار داده شد تا دوفاز گردد. در نهایت فاز هگزانی جهت تزریق به GC/MS مورد استفاده قرار گرفت (Hameed et al., 2015).

### بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی

#### تعیین محتوای کلی پلی‌فنول

نمونه‌ها با آب مقطر استریل شسته و در سایه خشک شدند. سپس به قطعات کوچک برش داده و در یک میکسر آسیاب پودر شد. آن‌ها در کیسه‌های پلی اتیلن یا ظرف هوادهی در دمای اتاق ذخیره شدند. ۱۰۰ گرم نمونه (پودر) به مدت ۶ ساعت با ۵۰۰ میلی‌لیتر متانول (۲:۱) در یک استخراج سوکسله (SOX406/Hanon) استخراج شدند. استخراج سه بار تکرار شد. عصاره‌های کل فیلتر شده و فیبرها به دست آمده (عصاره‌های خام) تحت فشار کاهش یافته به خشکی متمرکز شدند. این عصاره‌های متمرکز به عنوان پلی‌فنول دریایی خام برای تجزیه و تحلیل بیشتر مورد استفاده قرار گرفت. ۱۰۰ میکرولیتر نمونه خام با ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲ درصد مخلوط شده و به مدت ۲ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی قرار گرفت. جذب تمام محلول‌های نمونه با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. اسید گالیک به عنوان یک استاندارد مورد استفاده قرار گرفت و منحنی کالیبراسیون در غلظت‌های ۱۰ تا ۲۰۰ میلی گرم در لیتر تهیه شد. محتوای فنل برحسب گرم گالیک اسید در یک کیلوگرم گزارش شد (Papandreou et al., 2009).

### تعیین محتوای کل فلاونوئید

محتوای کل فلاونوئید هر عصاره با استفاده از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم توصیف شده توسط چانگ و همکاران با تغییرات جزئی تعیین شد. به طور خلاصه، نمونه عصاره تا ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر با متانول رقیق شد. منحنی کالیبراسیون با رقت‌سازی کوئرتستین در متانول تهیه شد (۱۰۰-۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر). عصاره رقیق شده یا کوئرتستین (۲ میلی‌لیتر) با ۰/۱ میلی‌لیتر محلول کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد و ۰/۱ میلی‌لیتر محلول استات پتاسیم ۰/۱ میلی‌مولار مخلوط شد. این مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری گردید. سپس حداکثر جذب مخلوط با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. محتوای کل فلاونوئید به صورت گرم کوئرتستین در هر کیلوگرم عصاره جلبک بدون چربی بیان شد (Chang et al., 2002).

### روش ارزیابی میزان مهار رادیکال آزاد

در این روش، رادیکال چربی دوست DPPH با آنتی‌اکسیدان‌هایی که دهنده هیدروژن هستند، واکنش داده و رنگ محلول به زرد روشن تبدیل شده و میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر کاهش می‌یابد. نتایج به صورت IC<sub>50</sub> (مقداری از آنتی‌اکسیدان که لازم است تا غلظت DPPH به ۵۰ درصد مقدار اولیه برسد) بیان گردید (Brand-Williams et al., 1995).



## ارزیابی اثر ضد میکروبی عصاره‌های جلبک

برای این آزمون از باکتری‌های شاخص *S. aureus* ATCC 25923، *E. coli* ATCC 33090، *Listeria innocua* ATCC 33090 و *S. typhi* ATCC 6539 استفاده گردید.

## انتشار چاهک در آگار

در روش چاهک در آگار برای بررسی اثر عصاره جلبک غلظت‌های ۳/۱۷۵ تا ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا با استفاده از سمپلر ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون ۰/۵ مک فارلند از هر کدام از سویه‌های پاتوژن را در محیط کشت مولر هینتون آگار ریخته و کشت انجام گردید. در مرحله بعدی و با استفاده از پیت پاستور استریل ۵ چاهک با قطر ۶ میلی‌متر در محیط کشت ایجاد گردید. جهت جلوگیری از نفوذ عصاره به کف پلیت، انتهای چاهک‌ها توسط آگار مذاب مسدود شد. داخل ۴ عدد از چاهک‌ها ۲۰ میکرولیتر غلظت‌های تهیه شده از عصاره ریخته شد و چاهک پنجم نیز به عنوان شاهد استفاده شد. پس از گرم خانه گذاری محیط کشت به ترتیب در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، هاله بازدارندگی یا عدم رشد در محیط اطراف چاهک‌ها اندازه‌گیری و به‌صورت میلی‌متر گزارش شد (Behbahani et al., 2018).

## تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (MIC)

ابتدا یک محلول مادر از عصاره با غلظت ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه گردید. برای این منظور ۵/۱۲ گرم از عصاره با ۹/۵ میلی‌لیتر محیط کشت‌های مولر هینتون براث و ۰/۵ میلی‌لیتر دی متیل سولفوکساید مخلوط گردید و با استفاده از فیلتر سرنگی ۰/۴۵ میکرون استریل شد. ۵ میلی‌لیتر از این محلول با ۵ میلی‌لیتر محیط کشت، درون یک شیشه استریل مخلوط گردید و به این ترتیب ادامه داده تا غلظت‌ها نصف گردند و غلظت‌های متوالی ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸ و ۲۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. در این روش از پلیت ۹۶ خانه‌ای استریل استفاده گردید. به هر خانه ۲۰۰ میکرولیتر از رقت‌های تهیه شده و در نهایت ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی (معادل ۰/۵ مک فارلند) اضافه شد. از چاهک‌های حاوی محیط کشت و سوسپانسیون میکروبی فاقد عصاره به عنوان کنترل مثبت و خانه‌های حاوی عصاره و محیط کشت به عنوان کنترل منفی استفاده گردید. پس از گرم خانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، ۲۰ میکرولیتر معرف تری فیل ترزازولیوم کلراید ۵ درصد به هر چاهک افزوده و پلیت به مدت نیم ساعت انکوبه گردید. در چاهک‌هایی که رشد میکروبی اتفاق افتاده باشد، رنگ قرمز تیره یا ارغوانی ایجاد می‌گردد. اولین غلظتی

که در آن رشد میکروبی روی نداده و رنگ قرمز تشکیل نشد به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی رشد گزارش گردید (Noshad et al., 2018).

## تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)

با توجه به نتایج آزمون قبل، از چاهک‌هایی که فاقد رنگ قرمز بودند، ۱۰۰ میکرولیتر بر پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد و سپس محیط‌های کشت گرم خانه گذاری شدند. غلظت‌هایی که فاقد رشد میکروارگانیسم بودند، به عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شدند (Ferrazzano et al., 2017).

## تعیین فعالیت آنزیمی

در این مطالعه فعالیت استیل کولین استراز با استفاده از روش معرفی شده توسط المن و همکاران (Ellman et al., 1961) و همچنین فعالیت نیتریک اکساید بر اساس پروتکل کیت خریداری شده (نوند-ایران) مورد بررسی قرار گرفت.

## طرح آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. از آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای تعیین تفاوت بین میانگین‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد، همچنین برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار Mini-Tab17 استفاده گردید.

## نتایج و بحث

در حال حاضر تحقیقات زیادی به منظور بررسی و شناسایی محصولات طبیعی انجام شده است که می‌تواند جهت بهبود شرایط برخی از بیماری‌ها به کار گرفته شود. توسعه و تبیین مواد تشکیل‌دهنده مکمل‌های غذایی دارویی یک موضوع داغ در صنایع غذایی می‌باشد. در جستجو غذاهای دارویی، توجه بیشتری به منابع دریایی شده است. در میان ارگانیک‌های دریایی، جلبک‌های دریایی منبع غنی ترکیبات با ساختار گوناگون و بیواکتیو با فعالیت‌های بیولوژیکی مختلف هستند. این جلبک‌ها منبعی مغذی و غنی از ترکیبات بیواکتیو مثل ویتامین‌ها، کاروتنوئید، فیبرهای غذایی، پروتئین‌ها و مواد معدنی هستند. هم چنین بسیاری از ترکیبات فعال زیستی مثل ترپنوئیدها، فلاونوئیدها، استرول‌ها، پلی‌ساکاریدهای سولفات دار، پلی فنول‌ها، سارگاکوئینوئیک اسیدها، سارگاکرومنول، فئوفیتین از گونه‌های جلبک‌ها ایزوله شده است. این ترکیبات ایزوله شده فعالیت‌های زیستی گوناگونی نشان می‌دهند مثل آنتی اکسیدان،

شده و انتقال جرم را بهبود می‌دهند (Chemat et al., 2017). اولتراسوند طی استخراج می‌تواند دیواره‌های سلولی را نیز تخریب کند و باعث تسهیل آزادسازی محتوای آن شود. بنابراین، تخریب سلولی کارآمد و انتقال جرم مؤثر، دو فاکتور اصلی هستند که باعث افزایش استخراج با اولتراسوند می‌شود. فرکانس اولتراسوند تأثیرات زیادی روی بازده و سرعت استخراج دارد. همچنین اثرات اولتراسوند روی بازده و سرعت استخراج اولتراسوند بسته به ماهیت مواد گیاهی استخراجی متفاوت می‌باشد. استخراج به کمک اولتراسوند یک روش ساده بوده و جایگزین مناسبی برای روش‌های سنتی استخراج است. فواید اصلی استفاده از اولتراسوند در استخراج شامل افزایش بازده استخراج و سرعت استخراج است. اولتراسوند امکان استخراج ترکیبات حساس به حرارت را فراهم سازد. در مقایسه با تکنیک‌های استخراج جدید دیگر هم چون استخراج با مایکروویو، دستگاه اولتراسوند ارزان‌تر است و اجرای آن راحت‌تر می‌باشد. استخراج به کمک اولتراسوند مشابه استخراج با سوکسله می‌تواند با هر حلالی برای استخراج دامنه وسیعی از ترکیبات طبیعی استفاده شود (Wen et al., 2018).

#### تعیین ترکیبات شیمیایی با استفاده از دستگاه GC-MS

بیشترین ترکیبات موجود در عصاره هر دو جلبک Butanoic acid, butul ester و n-Hexadecanoic acid بوده است. درصد ترکیبات عمده در عصاره جلبک پادینا به روش ماسیراسیون اولتراسوند در جدول ۱ آمده است:

در عصاره جلبک‌ها در مجموع ۱۵ ترکیب شناسایی شد که ۱۰۰ درصد کل عصاره استخراجی را تشکیل می‌داد. با مقایسه نتایج ترکیبات شناسایی شده (شکل ۱) با مطالعات پیشین، هرچند اجزای اصلی عصاره‌ها تا حدودی مشابه با یافته‌های سایر محققین بود، اما تفاوت‌هایی بویژه در غلظت ترکیبات وجود داشت.

حفاظت عصب، ضد میکروب، حفاظت از کبد، ضد فعالیت ویروسی و غیره، بنابراین گونه‌های جلبک‌ها، پتانسیل زیادی برای استفاده از حوزه‌های داروسازی و غذا دارو دارند (Mekinić et al., 2019).

#### عصاره‌گیری

جلبک‌های دریایی به طور گسترده در سراسر آب‌های دریای گرمسیری توزیع شده و معمولاً در ناحیه بی‌نهایت یا در امتداد صخره‌های مرجانی قرار دارد. تاکنون حدود ۸۰ گونه از جنس پادینا و سارگاسوم در سطح دنیا شناسایی شده است. بازده عصاره‌گیری جلبک سارگاسوم به روش ماسیراسیون ۳/۰۹ گرم بر ۱۰۰ گرم و بازده این عصاره به روش اولتراسوند ۱/۶۸، جلبک پادینا به روش ماسیراسیون ۰/۹۲ و روش اولتراسوند ۰/۷۴ گرم بر ۱۰۰ گرم بود. فوجی و همکاران (Fujii et al., 2004) به منظور عصاره‌گیری از گیاه *Mesembryanthemum edule*، از روش استخراج اولتراسونیک استفاده کردند. از اهداف این مطالعه بررسی تأثیر عوامل مختلف در روش اولتراسونیک بر روی کیفیت عصاره‌های حاصل از این روش بود. متغیرها شامل حلال (متانول و اتانول) و زمان عصاره‌گیری ۵ و ۱۰ دقیقه بود. تایج نشان داد که نوع حلال نسبت به زمان عصاره‌گیری تأثیر بارزتری روی بازده عصاره‌گیری دارد (Fujii et al., 2004). همچنین نتایج نشان داد عصاره اتانولی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به عصاره متانولی نشان داد. در روش اولتراسوند امواج صوتی که فرکانس‌های بالاتر از ۲۰ کیلو هرتز دارند، نوسان‌های مکانیکی در یک ماده ایجاد می‌کنند. در حالت انبساط، حباب‌هایی در یک مایع ایجاد می‌شود و فشار منفی تولید می‌کند. حباب‌های تشکیل شده، رشد و در نهایت متلاشی می‌شوند. دو حالت کلی استخراج، حمام‌های اولتراسوند و سیستم پروب اولتراسوند می‌باشند. تأثیرات مکانیکی اولتراسوند، باعث نفوذ بیشتری از حلال به درون مواد سلولی

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی عصاره پادینا (ماسیراسیون)

Table 1- The chemical compounds of Padina extract (maceration)

| ترکیبات                     | زمان بازدارندگی | درصد  |
|-----------------------------|-----------------|-------|
| Compounds                   | Retention time  | (%)   |
| 1 4- Heptanol               | 8.3             | 2.82  |
| 2 4- Heptanone,3-methyl     | 9.022           | 1.17  |
| 3 Butanoic acid,butul ester | 10.80           | 9.45  |
| 4 3-Deoxy-d-mannitol        | 11.65           | 1.6   |
| 5 Butane,1,1-dibutoxy       | 18.05           | 36.12 |
| 6 Tetradecanoic acid        | 30.15           | 5.11  |
| 7 Palmitoleic acid          | 32.52           | 3.95  |
| 8 n-Hexadecanoic acid       | 32.82           | 27.16 |
| 9 Cis-13-Octadecanoic acid  | 34.27           | 9.29  |
| 10 Phytol                   | 34.64           | 3.34  |

جدول ۲- درصد برخی ترکیبات شیمیایی عصاره پادینا (اولتراسونیک)

Table 2- The chemical compounds of Padina extract (ultrasonic)

| ترکیبات                                          | زمان بازدارندگی | درصد  |
|--------------------------------------------------|-----------------|-------|
| Compounds                                        | Retention time  | (%)   |
| 1 1-Butanol-2-methyl-(S)-                        | 6.219           | 1.18  |
| 2 4- Heptanol                                    | 8.382           | 5.99  |
| 3 4- Heptanone,3-methyl                          | 9.091           | 3.56  |
| 4 Butanoic acid,butul ester                      | 10.831          | 23.58 |
| 5 3-Deoxy-d-mannitol                             | 11.666          | 5.04  |
| 6 Silane,dimethylisobutoxybutoxy                 | 13.772          | 2.59  |
| 7 Butane,1,1-dibutoxy                            | 17.994          | 7.32  |
| 8 Tetradecanoic acid                             | 30.074          | 3.78  |
| 9 Hexadecanoic acid,methyl ester                 | 32.191          | 2.02  |
| 10 Palmitoleic acid                              | 32.465          | 5     |
| 11 n-Hexadecanoic acid                           | 32.751          | 22.97 |
| 12 Cis-Vaccenic acid                             | 34.594          | 8.02  |
| 13 Phytol                                        | 34.622          | 4.67  |
| 14 Stigmasta-5,24(28)-dien-3-ol(3 $\beta$ ,24Z)- | 47.46           | 4.27  |

جدول ۳- درصد برخی ترکیبات شیمیایی عصاره سارگاسوم (ماسیراسیون)

Table 3- The chemical compounds of Sargassum extract (maceration)

| ترکیبات                                          | زمان بازدارندگی | درصد  |
|--------------------------------------------------|-----------------|-------|
| Compounds                                        | Retention time  | (%)   |
| 1 1-Butanol-2-methyl-(S)-                        | 6.301           | 2.71  |
| 2 4- Heptanol                                    | 8.424           | 8.45  |
| 3 4- Heptanone,3-methyl                          | 9.128           | 3.06  |
| 4 Butanoic acid,butul ester                      | 10.85           | 32.43 |
| 5 Silane,dimethylisobutoxybutoxy                 | 13.78           | 2.48  |
| 6 Butane,1,1-dibutoxy                            | 18.008          | 20.1  |
| 7 Palmitoleic acid                               | 32.451          | 1.62  |
| 8 n-Hexadecanoic acid                            | 32.70           | 13.81 |
| 9 Cis-Vaccenic acid                              | 34.579          | 7.98  |
| 10 Stigmasta-5,24(28)-dien-3-ol(3 $\beta$ ,24Z)- | 47.471          | 7.36  |

جدول ۴- درصد برخی ترکیبات شیمیایی عصاره سارگاسوم (اولتراسونیک)

Table 4- The chemical compounds of Sargassum extract (ultrasonic)

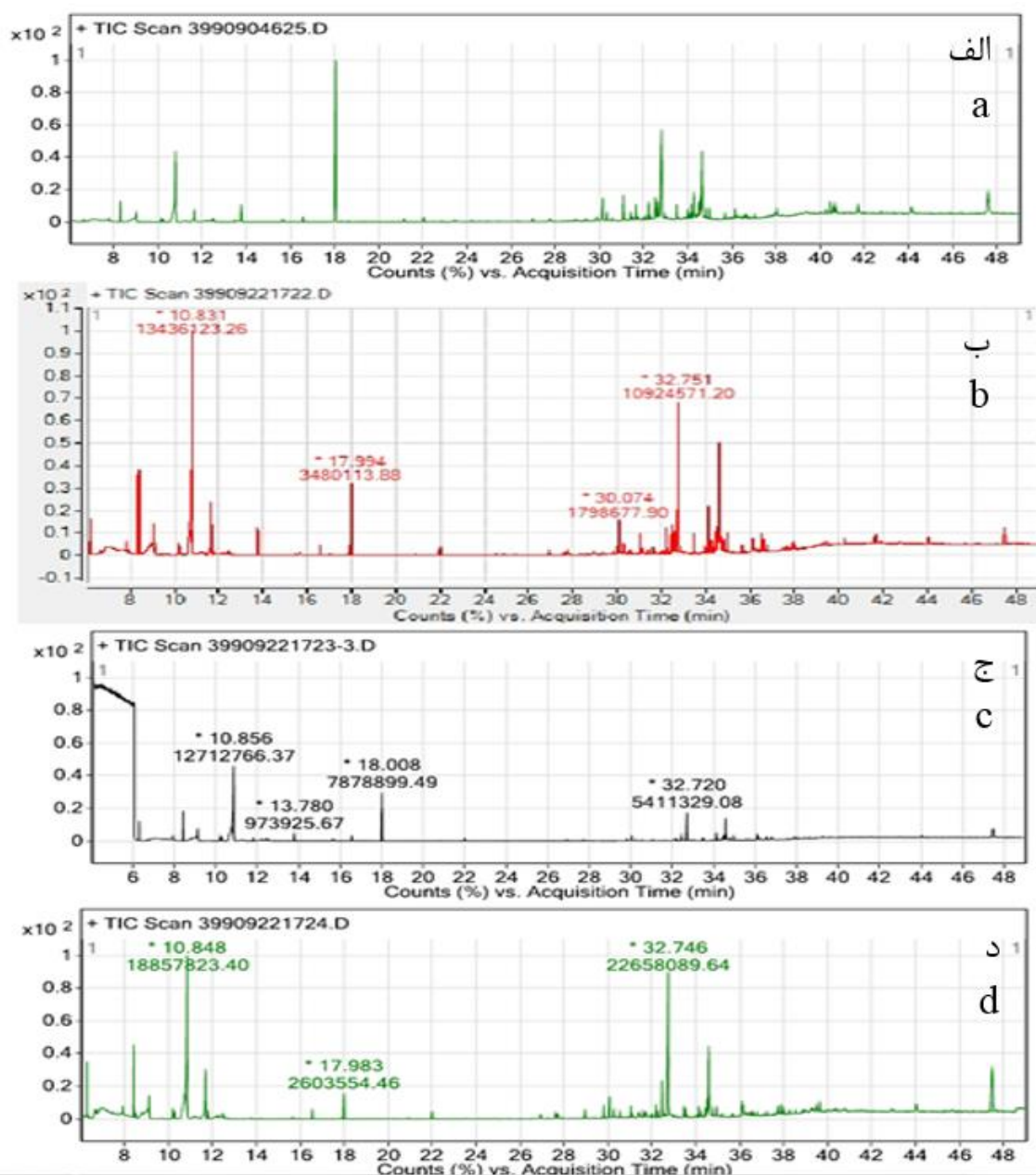
| ترکیبات                                                              | زمان بازدارندگی | درصد  |
|----------------------------------------------------------------------|-----------------|-------|
| Compounds                                                            | Retention time  | (%)   |
| 1 1-Butanol-2-methyl-(S)-                                            | 6.21993         | 2.65  |
| 2 4- Heptanol                                                        | 8.424           | 6.65  |
| 3 4- Heptanone,3-methyl                                              | 9.120           | 1.85  |
| 4 Butanoic acid,butul ester                                          | 10.848          | 23.13 |
| 5 Dodecane                                                           | 16.547          | 0.94  |
| 6 Butane,1,1-dibutoxy                                                | 17.983          | 3.19  |
| 7 Tetradecane                                                        | 21.994          | 1.09  |
| 8 Acetic acid(2,4-dichlorophenoxy)-ethyl ester                       | 28.958          | 1.01  |
| 9 6-Hydroxy-4,4,7a-trimethyl-5,6,7,7a-tetrahydrobenzofuran-2(4H)-one | 29.816          | 1.43  |
| 10 Tetradecanoic acid                                                | 30.073          | 3.16  |
| 11 Neophytadiene                                                     | 31.046          | 1.01  |
| 12 Palmitoleic acid                                                  | 32.465          | 4.55  |
| 13 n-Hexadecanoic acid                                               | 32.746          | 27.79 |
| 14 Cis-Vaccenic acid                                                 | 34.588          | 6.92  |
| 15 Stigmasta-5,24(28)-dien-3-ol(3 $\beta$ ,24Z)-                     | 47.48           | 14.63 |

dibutoxy به ترتیب با ۳۸/۵۳ و ۱۴/۲۴ درصد ترکیبات اصلی عصاره می‌باشند. در مطالعه‌ای دیگر مشخص گردید که ترکیبات اصلی تشکیل‌دهنده عصاره جلبک قرمز به ترتیب عبارتند بودند از:

عبدالله و همکاران (Abdel-Aal et al., 2015) ترکیبات شیمیایی نوعی جلبک قهوه‌ای را مورد مطالعه قرار دادند و نتایج این محققین نشان داد که 1-Butanol-2-methyl-(S)- و Butane,1,1-

۲۰۱۵، *al.* ترکیبات شناسایی شده گروه‌های مهمی از پلی‌ساکاریدهای سولفات شده است که از جلبک‌های دریایی پادینا معمولاً جدا می‌شوند. ساختارهای انتخابی این ترکیبات بر اساس گونه‌ها متفاوت است، و ساختار و قابلیت زیستی هنوز نامشخص است. تحقیقات نشان می‌دهد بوتیل‌ها دارای خواص ضد التهابی، ضد انعقاد، آنتی‌اکسیدان، و خواص ضد ویروس می‌باشند (Wen et al., 2018).

Cis-Vaccenic acid (۳۵/۸۳ درصد) و 4- Heptanol (۱۰/۶۷ درصد). تفاوت در میزان ترکیبات اصلی عصاره‌ها می‌تواند ناشی از مناطق جغرافیایی، واریته‌های کشت شده، مرحله برداشت گیاه، روش‌های استخراج و شرایط آنالیز مختلف باشد. یکی از مهمترین عوامل تفاوت در درصدهای ترکیبات شناسایی شده مربوط به روش استخراج عصاره و حلال‌های مورد استفاده می‌باشد (Abdel-Aal et



شکل ۱- کروماتوگرام ترکیبات شیمیایی (GC-MS) مربوط به عصاره جلبک پادینا ماسیراسیون (الف) اولتراسوند (ب) و عصاره جلبک سارگاسوم ماسیراسیون (ج) اولتراسوند (د)

Fig. 1- Chromatogram of chemical compounds (GC-MS) of maceration (a) and ultrasonic (b) Padina extract and maceration (c) and ultrasonic (d) Sargassum extract

DPPH می‌شود را اندازه‌گیری می‌کند و قدرت رنگبری بالاتر بیانگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر می‌باشد.

فنول کل عصاره ماسیراسیونی و اولتراسوندی جلبک پادینا به ترتیب ۴۰۵۵ و ۴۳۶۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم (برحسب اسید گالیک) و فنول کل عصاره ماسیراسیونی و اولتراسوندی جلبک سارگاسوم برابر با ۳۳۹۷ و ۴۶۶۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم (برحسب اسید گالیک) بود. محتوای فلاوونوئید کل عصاره ماسیراسیونی و اولتراسوندی جلبک پادینا به ترتیب ۲۴۵۹ و ۴۵۶۹ میکروگرم بر گرم (برحسب کوئرستین) فلاوونوئید کل عصاره ماسیراسیونی و اولتراسوندی جلبک سارگاسوم به ترتیب ۱۶۳۰ و ۵۵۳۹/۳۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم (برحسب کوئرستین) بدست آمد.

استرس اکسیداسیونی ناشی از عدم توازن بین هموستازی پرواکسید و آنتی‌اکسیدان است که منجر به تولید گونه‌های اکسیژن راکتیو سمی (ROS) می‌شود. ROS مثل رادیکال‌های هیدروکسیل، سوپراکسید، و پروکسیل در سلول‌های بافت انسان تشکیل می‌شود که به ماکرومولکول‌هایی مثل لیپیدهای غشا، پروتئین‌ها و DNA حمله می‌کنند و منجر به اختلالات سلامتی زیادی مثل سرطان، دیابت، شرایط تحلیل مربوط به سن، تحلیل عصبی، و بیماری‌های التهابی می‌شوند که به بافت‌های آسیب شدیدی وارد می‌کند (Moein et al., 2015). آنتی‌اکسیدان‌ها ممکن است تاثیر مثبت بر سلامت انسان داشته باشند زیرا می‌توانند از بدن انسان در برابر آسیب ROS حفاظت کنند. در بدن سلول‌ها سیستم دفاعی ذاتی آنتی‌اکسیدانی خود را به شکل مسیرهای مختلف آنزیمی و غیرآنزیمی برای رفع ROS دارند. در میان مسیرهای آنزیمی،  $O_2$  با دیسموتاز سوپراکسید (SOD) به  $H_2O_2$ ، رداکتاز کاتالاز (CAT)  $H_2O_2$  به آب و اکسیژن مولکولی تبدیل می‌شود. پروکسیداز گلوتاسیون (GPX) کاهش  $H_2O_2$  به آب و پروکسید آلی به الکل را به بهای گلوتاسیون تقلیل یافته (GSH) کاهش می‌دهد، در حالیکه گلوتاسیون -S- ترانسفراز بیگانه‌زی‌ها (مواد مضر) را برای رفع با گلوتاسیون هم یوغ می‌کند. در میان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، جلبک‌های دریایی منبع غنی آنتی‌اکسیدان محسوب می‌شوند. فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی گونه‌های سارگاسوم با روش‌های مختلف تایید شده است، مثل پاکسازی رادیکال 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH)، پاکسازی رادیکال 2,2'-azinobis-3-ethylbenzo thizoline-6-sulfonate (ABTS)، پاکسازی NO، بازدارنده پروکسید لیپید، ارزیابی پاکسازی رادیکال سوپراکسید و هیدروکسیل (Otero et al., 2018).

گیاهان به طور سنتی در درمان و پیشگیری اختلالات گوناگون به کار می‌روند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان را می‌توان عمدتاً به حضور ترکیبات فنولی در آن نسبت داد. ترکیبات فنولی شامل

در پژوهش سارپال و کاستا (Sarpal and Costa, 2016) ترکیبات موجود در اسانس گیاهان دریایی ناشی از تفاوت‌های اکولوژیکی مانند طول و عرض جغرافیایی، ارتفاع، دما، رطوبت، اقلیم و خاک، مسیرهای متابولیکی و بیوسنتز مواد مؤثره در این گیاهان شناسایی شد که در نتیجه متابولیک‌های ثانویه متنوعی تحت شرایط محیطی متفاوت، بیوسنتز می‌شود (Sarpal and Costa, 2016). پاتیل و همکاران (Patil et al., 2018) به بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک دریایی قهوه‌ای سارگاسوم پرداختند. فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی که از عصاره سارگاسوم گونه سیلیکواستروم با استفاده از مهار سلول‌های قرمز خون (RBC) همولیز ناشی از رادیکال دی هیدروکلراید آمینو پروپان AAPH، سرکوب پراکسیداسیون لیپیدی با استفاده از هموژن مغز موش صحرایی و فعالیت رادیکال‌های سوپراکسید مشخص شد. قسمت دی کلرومتان جدا شده از عصاره خام متانول با استفاده از استخراج حلال‌ها، قوی‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در هر دو آزمایش همولیز RBC و پراکسیداسیون لیپید نشان داد. این قسمت به وسیله کروماتوگرافی ستون سیلیکاژل در مواجهه با RBC در برابر رادیکال‌های AAPH و در مهار پراکسیداسیون لیپید موثرتر بود. بر اساس کروماتوگرافی نازک UV و تجزیه و تحلیل طیف‌های IR، تمام زیر فرکانس‌ها شامل ترکیبات فنلی است. با این حال، بین قدرت قوی آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی بالا تخمین زده می‌شود، ارتباط مستقیم وجود دارد (Patil et al., 2018). آلو و همکاران (Avula et al., 2017) به بررسی فعالیت بازدارندگی کولین‌استراز دو مشتق فارنسیلاستون حاصل از جلبک قهوه‌ای *Sargassum sagamianum* پرداختند. نتایج نشان دادند که ترکیب یک -6,10,14-(5E, 10Z)-trimethylpentadeca-5,10-dien-2,12-dione و ترکیب دو -6,10,4-trimethylpentadeca 5,9,13-trien-2,12-dione هر دو ترکیب فعالیت بازدارندگی متوسط استیل کولین‌استراز و آنتی‌اکسیدانی قوی از خود نشان دادند (Avula et al., 2017).

### بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی

عصاره جلبک پادینا به روش ماسیراسیون و اولتراسونیک به ترتیب دارای  $IC_{50}$  برابر با ۳۰۷/۷۲ و ۹۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم و عصاره جلبک سارگاسوم به روش ماسیراسیون و اولتراسونیک به ترتیب دارای  $IC_{50}$  برابر با ۳۷۶/۹۹ و ۴۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر پایه مهار رادیکال آزاد DPPH بودند. روش DPPH قابلیت عصاره در اهدای هیدروژن به رادیکال آزاد DPPH که سبب زوال رنگ محلول



گیاه، روش عصاره‌گیری با سوکسله و ماسیراسیون مناسب‌تر از اولتراسونیک تعیین شد. بالاترین راندمان عصاره‌گیری مربوط به سوکسله بود. این عصاره بالاترین میزان فنلی تام و فلاونوئید تام را نیز دارا بود ( $P < 0.001$ ). در به دام اندازی رادیکال DPPH عصاره حاصل از روش سوکسله ( $IC_{50} = 11/3 \pm 0/3 \mu g/ml$ ) اختلاف معنی‌داری با عصاره‌های حاصل از دو روش دیگر داشت ( $P < 0.05$ ). هر سه عصاره قوی‌تر از BHA بودند ( $P < 0.001$ ) (Moein et al., 2015). ماچو و همکاران (Machu et al., 2015) به بررسی فعالیت ضد رادیکال و حفاظت عصبی عصاره پلی فنلی درون جلبک دریایی *Padina australis* H پرداختند و نتایج نشان دادند که همبستگی مثبت قوی بین کل فنولیک و فعالیت آنتی اکسیدانی وجود دارد و *Padina australis* H دارای مقدار قابل توجهی از پلی فنل‌ها با خواص آنتی اکسیدان می‌باشد که می‌تواند به طور امیدوار کننده در درمان اختلالات نورونیک موثر باشد (Machu et al., 2015). فرانکو و همکاران (Franco et al., 2008) به بررسی فعالیت آنتی اکسیدان و ضد سرطان پلی ساکارید سولفات حاوی فوکوز (FCSP) از جلبک دریایی هاوایی پرداختند. این FCSP خام نیز فعالیت آنتی اکسیدانی را نشان داد. مطالعات جلبک دریایی هاوایی نشان می‌دهد فعالیت‌های آنتی اکسیدانی بیشتری از سه جلبک قهوه ای، بیش از جلبک‌های دیگر، که پادینا را به عنوان یک کاندیدای بالقوه برای ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدان ایجاد می‌کند (Franco et al., 2008).

#### ارزیابی اثر ضد میکروبی عصاره‌های جلبک

نتایج آزمون ضد میکروبی نشان داد به طور کلی در همه عصاره‌ها باکتری‌های *Escherichia coli* و *Listeria innocua* بقیه میکروارگانیسم‌ها مقاوم‌تر بودند و همچنین عصاره اولتراسوند پادینا از باقی عصاره‌ها به طور معناداری خاصیت ضد میکروبی بیشتری داشته است. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره اولتراسوندی جلبک پادینا در ۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر بر روی باکتری *Staphylococcus aureus* به دست آمد و این باکتری از باقی باکتری‌ها مقاومت کمتری داشته است. عصاره اولتراسوندی جلبک پادینا در ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر و بر روی باکتری *Staphylococcus aureus* اثر باکتری کشی داشت. بررسی نتایج آماری داده‌های به دست آمده به وسیله آنالیز واریانس به روش چاهک نشان داد بیشترین اثر ضد میکروبی در غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر برای عصاره اولتراسوندی جلبک پادینا بر روی باکتری *Staphylococcus aureus* می‌باشد (جدول ۵ و شکل ۲).

فنول‌های ساده، با یک حلقه آروماتیک که حداقل دارای یک گروه هیدروکسی روی آن است و ترکیبات پلی فنولی می‌باشند. ترکیبات پلی فنولی که دارای دو بخش فنولی باشند، فلاونوئیدها را تشکیل می‌دهند. ترکیبات فنولی تقریباً در تمام بخش‌های گیاه وجود دارند و در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیک مانند رشد سلولی و جوانه‌زنی نقش دارند. از مهم‌ترین خصوصیتی که به این گروه نسبت داده می‌شود، خاصیت آنتی اکسیدانی بوده که به آن‌ها امکان از دست دادن هیدروژن و به دام انداختن رادیکال آزاد را می‌دهد. علاوه بر این پلی فنول‌ها فعالیت‌های بیولوژیکی متفاوتی از جمله: فعالیت ضد قارچی، ضدباکتریایی، ضد ویروسی، ضد التهاب، ضد آلرژی و گشادکننده عروق گزارش شده است (Kordjazi et al., 2019). معرف فولین سیو کالتیو واکنشگری است که به طور گسترده در سنجش ترکیبات فنولی به کار می‌رود. گروه هیدروکسی فنولی با واکنشگر ترکیب شده و بخش رنگ‌سازی را تولید می‌کند که در ۷۶۰ نانومتر تعیین مقدار می‌گردد. روند استخراج ترکیبات فنولی یک فاکتور مهم در تعیین خصوصیات آنتی اکسیدانی عصاره است. دما، حلال، زمان عصاره‌گیری، قدرت استخراج و روش استخراج تاثیر بارزی در محتویات عصاره خواهد گذاشت. این تفاوت‌ها وابسته به تمایل این ترکیبات به حلال مورد نظر برای عصاره‌گیری و مخصوصاً قطبیت آن است. علاوه بر این‌ها استخراج ترکیبات فنولی از سایر ترکیبات بیولوژیک گیاه، به وسیله روش‌های استخراج قدیمی در واقع هدر دادن حلال و زمان است. تکنیک‌های پیشرفته استخراج مانند عصاره‌گیری به کمک امواج مایکروویو و یا اولتراسوند از طریق افزایش کارایی و انتخابیت، موجب غلبه بر دشواری‌های روش قدیمی شده است. در این زمینه استفاده از امواج اولتراسوند جهت شکستن غشا سلولی باعث کاهش زمان عصاره‌گیری و افزایش بازده شده است (Boi, Cuong, and Khanh Vinh 2016).

مارک و آنیک (Gaysinski Marc and Ortalo-Magné Annick, 2015) گزارش کردند که پلی ساکاریدهای سولفات دار *Sargassum fulvellum* در پاکسازی NO و پاکسازی DPPH قویتر از آنتی اکسیدان‌های تجاری مثل آلفا توکوفرول هستند (Gaysinski Marc and Ortalo-Magné Annick 2015). معین و همکاران (Moein et al., 2015) به بررسی مقایسه اهمیت روش‌های مختلف استخراج بر فعالیت آنتی اکسیدانی برگ گیاه مورد *Myrtus communis* پرداختند. این مطالعه به منظور بررسی تاثیر روش استخراج بر محتوای تام فنلی، فلاونوئیدی و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی برگ گیاه این گیاه طراحی شده است. نتایج به وضوح نشان داد که استفاده از روش استخراج، تاثیر زیادی بر فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوای تام فنلی و فلاونوئیدی دارد. در مورد این



راستای اثبات خواص ضد میکروبی این گیاه همسویی دارد (Kausalya and Rao, 2015). نتایج به دست آمده از مطالعه‌ای نشان داد که عصاره متانولی جلبک‌های و سارگاسوم *Padina gymnospora* پادینا گیمنوسپورا اثر متوسطی بر *Sargassum dentifolium* دنتیفولیوم روی باکتری *E. coli* دارند. مطالعات پیشین، اثر ضد باکتریایی جلبک‌های قهوه‌ای را نشان داده‌اند. جلبک‌های قهوه‌ای دارای متابولیت‌های ثانویه فعال زیستی و دیگر مواد طبیعی هستند که این مواد مسئول خاصیت ضد باکتریایی آن‌ها می‌باشند. همچنین در تحقیق دیگری نتایج به دست آمده از آزمون آنتی‌بیوگرام نشان داد که جلبک پادینا گیمنوسپورا نسبت به جلبک سارگاسوم ویتی اثر بیشتری بر روی ویبریوکلرا داشته‌است (Silva et al., 2020). در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که جلبک‌های قهوه‌ای سواحل جنوبی ایران، منابع بالقوه از مواد فعال زیستی هستند و می‌توانند برای تولید آنتی‌بیوتیک‌های طبیعی مورد استفاده قرار گیرند. با این حال مطالعات بیشتری برای شناسایی ترکیبات فعال زیستی در جلبک‌های دریایی مورد نیاز است.

### تعیین فعالیت آنزیمی

با توجه به روند افزایشی شیوع بیماری آلزایمر در بین سالمندان و مؤثر بودن داروهای مهارکننده آنزیم استیل کولین استراز در بهبود بیماری، یافتن داروهای جدید مهارکننده این آنزیم از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. همان طور که در جدول ۶ و ۷ مشخص شده است بیشترین درصد مهار آنزیم استیل کولین استراز توسط جلبک پادینا و عصاره اولتراسوندی آن می‌باشد.

در تحقیق هلشر و همکاران (Hielscher-Michael et al., 2016) که، با استفاده از ترکیب زیست فعالی در درمان آلزایمر جهت یافتن ترکیبات غیر آلكالوئیدی با منشاء گیاهی و خاصیت مهار آنزیم استیل کولین استراز انجام شد، مشخص گردید که دو ترکیب کومارینی، سه مشتق داکان استری، دو ترکیب فنلی و نیز یک ترکیب پلی‌استیلنی جدا شده از گیاه دارند. ولی دوزهای مؤثر عصاره‌های گیاهی که حاوی ترکیبات مختلف هستند قابل مقایسه با ترکیبات استاندارد نبود (Hielscher-Michael et al., 2016).

در تعیین نوع مهار، عصاره‌های گیاهی می‌توانند تقریباً رفتار سینتیکی مشابه با ترکیبات دارویی را داشته باشد. مطابق نتایج، عصاره جلبک‌ها به صورت رقابتی باعث مهار می‌شود و به نظر می‌رسد که ساختار شیمیایی جزء فعال ممکن است شبیه سوبسترای استیل کولین استراز یا مهارکننده‌هایی رقابتی آن مثل گالاتامین - Km باشد که به جایگاه فعال اتصال می‌یابد و باعث افزایش درصد مهار می‌شوند. در برخی عصاره‌ها مهار ترکیبی (رقابتی - غیررقابتی) باعث

علت تأثیر متفاوت عصاره‌ها بر رشد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی ممکن است به دلیل تفاوت ساختاری موجود بین دیواره این دو گروه از باکتری‌ها باشد. باکتری‌های گرم منفی واجد غشای خارجی هستند که مانند سدی از عبور مولکول‌های بزرگ و آب گریز جلوگیری می‌کند. از آنجایی که اکثر ترکیبات مؤثر موجود در اسانس و عصاره‌ها ماهیت آب‌گریزی دارند بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری نمود که این مواد امکان ورود و دسترسی به نقاط فعال درون باکتری‌های گرم منفی را ندارند و به همین دلیل معمولاً باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با انواع گرم مثبت مقاومت بیشتری نسبت به این ترکیبات نشان می‌دهند (Kausalya and Rao, 2015). در مطالعه حاضر نیز مشخص گردید که بیشترین اثر ضدباکتریایی عصاره‌ها بر علیه باکتری‌های گرم مثبت مشاهده می‌شود. به گونه‌ای که ترکیبات فعال موجود در این عصاره‌ها بر روی *S. typhi* که واجد غشاء خارجی همراه با پورین‌هایی با منافذ بسیار کوچک است در غلظت‌های پایین هیچگونه اثر باز دارندگی رشد ندارد. با توجه به اثر ضدباکتریایی قابل ملاحظه‌ای عصاره بر روی باکتری‌های بیماری‌زا به ویژه نمونه‌های گرم مثبت که در ایجاد انواع عفونت‌های مخرب و بیمارستانی نقش دارند، این عصاره می‌تواند به عنوان یک فرآورده گیاهی طبیعی مدنظر قرار گیرد (Silva et al., 2020). مطالعات زیادی پیرامون خواص دارویی و درمانی از جمله اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد توموری، ضد ویروسی و آنتی‌اکسیدانی جلبک‌ها صورت گرفته است. سیلوا و همکاران (Silva et al., 2020) به بررسی فعالیت‌های ضد باکتری جلبک دریایی قهوه‌ای از (*Sargassum wightii*) و (*Turbinaria ornata*) از خلیج مانار پرداختند. تحقیقات حاضر ثابت کرده است که پلی‌فنول‌های جلبک دریایی (*T. ornata* و *S. wightii*) دارای فعالیت ضد میکروبی هستند تا نتایج عالی را برای مهار رشد حداکثر باکتری‌های بیماری‌زا انسان به دست آورند. این امر ممکن است به علت پراکندگی فعالیت ضد باکتری توسط حضور برخی از ترکیبات مهار کننده در عصاره‌های خام باشد (Silva et al., 2020). کاسالیا و راتو (Kausalya and Rao, 2015) به بررسی فعالیت ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدان و ضدسرطان عصاره‌های *Padinna*, *Laurencia majuscula*, *Laurencia catarinensis* پرداختند و بالاترین فعالیت ضدباکتری بر روی *Klebsiella pneumonia* توسط *Laurencia catarinensis* و *Padinna pavonica* به دست آمد. با این حال، *Padinna pavonica* فعالیت ضد باکتری عالی را نسبت به *Streptococcus baumannii*, *Bacillus subtilis*, *Acinetobacter*, *Staph. aureus*، *pyogenes* نشان دادند. با توجه به ترکیبات فعال جدا شده از جلبک‌های سارگاسوم و پادینا، با نتایج حاصل از این مطالعه در

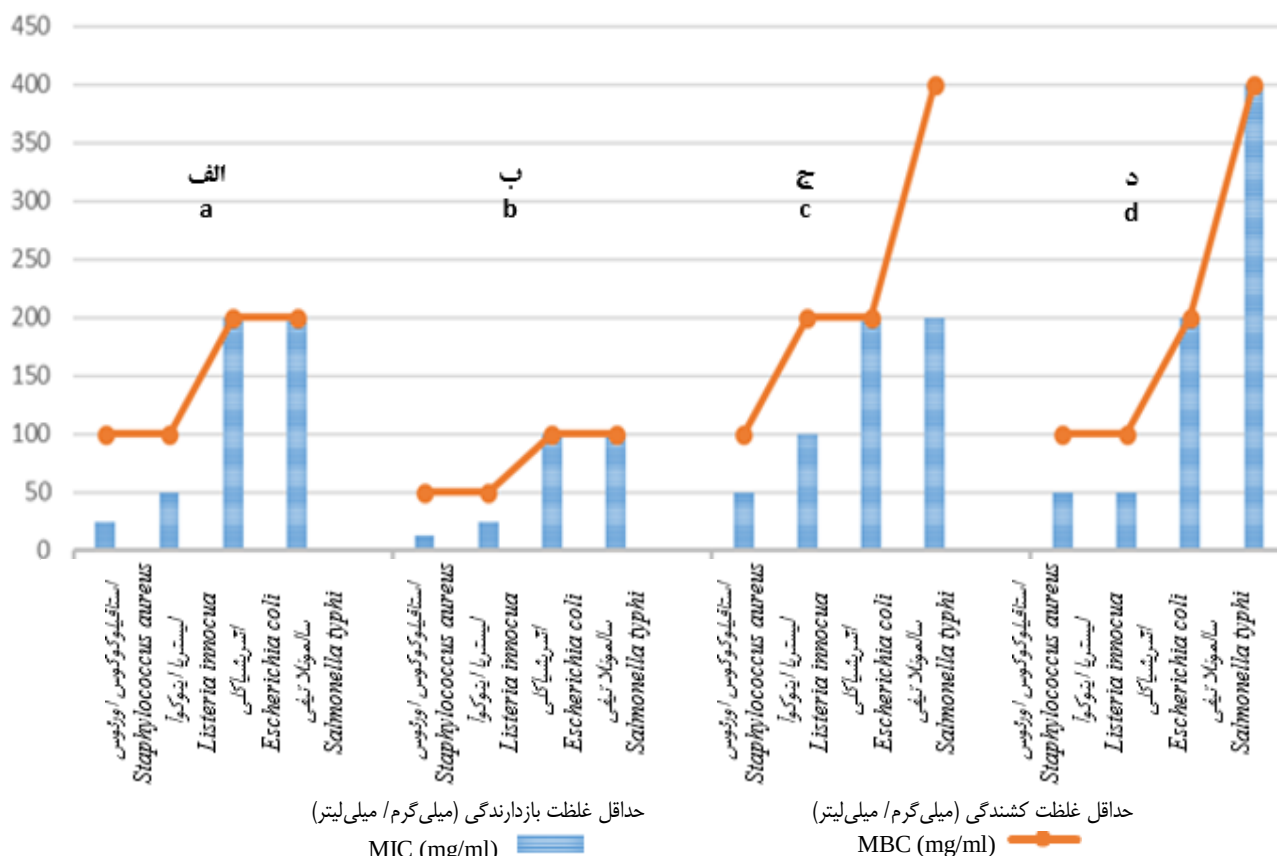
بیماری آلزایمر (AD) اختلال پیشرونده و تحلیل برنده مغزی است و شایع‌ترین شکل زوال عقل در میان سالمندان است. آلزایمر یکی از بیماری‌های در حال رشد در ایران و سراسر دنیاست. AD با از بین رفتن سیستم کولینرژیک با کاهش سطح استیل‌کولین در قسمت‌های مغز مرتبط است که به یادگیری، حافظه، عکس‌العمل رفتاری و عاطفی مربوط است.

مهار آنزیم شده است، در این نوع مهار، مهارکننده‌ها می‌توانند به Peripheral anionic site (PAS) جایگاه آنیونی پیرامونی آنزیم متصل و از طریق تغییرات آلوستریکی باعث مهار آنزیم شوند. بنابراین رفتار سینتیکی عصاره‌های فوق می‌توانند در شناسایی اجزای فعال و خالص‌سازی آن‌ها کمک نموده و مبنای مطالعات بعدی باشد (Barbalace et al., 2019).

جدول ۵- میانگین هاله عدم رشد ۴ نمونه عصاره جلبک در برابر پاتوژن‌های غذایی در روش چاهک

Table 5- Mean inhibition zone (mm) of four samples alga extract on pathogenic bacteria (well diffusion agar)

| نمونه‌ها<br>Samples                           | میکروارگانیزم‌ها<br>Microorganisms            | غلظت<br>Concentration (mg/ml) |            |            |            | کنترل مثبت<br>Control +<br>(کلرامفنیکل)<br>(chloramphenicol) |
|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------|-------------------------------|------------|------------|------------|--------------------------------------------------------------|
|                                               |                                               | 50                            | 100        | 150        | 200        |                                                              |
|                                               |                                               |                               |            |            |            |                                                              |
| پادینا-ماسیراسیون<br>Maceration- Padina       | استافیلوکوکوس اورئوس<br>Staphylococcus aureus | 12.45±0.63                    | 13.10±0.31 | 13.20±0.42 | 14.05±0.12 | 20                                                           |
|                                               | لیستریا اینوکوا<br>Listeria innocua           | 11.60±0.43                    | 12.42±0.18 | 13.00±0.44 | 15.40±0.37 | 23                                                           |
|                                               | اشریشیا کلی<br>Escherichia coli               | 9.51±0.03                     | 9.90±0.13  | 10.10±0.21 | 11.52±0.23 | 25                                                           |
|                                               | سالمونلا تیفی<br>Salmonella typhi             | 0                             | 9.30±0.29  | 10.20±0.36 | 9.30±0.35  | 18                                                           |
| پادینا-اولتراسونیک<br>Ultrasonic- Padina      | استافیلوکوکوس اورئوس<br>Staphylococcus aureus | 13.36±0.53                    | 16.42±0.17 | 17.54±0.41 | 18.30±0.25 | 20                                                           |
|                                               | لیستریا اینوکوا<br>Listeria innocua           | 14.46±0.53                    | 15.22±0.32 | 16.50±0.23 | 17.00±0.42 | 23                                                           |
|                                               | اشریشیا کلی<br>Escherichia coli               | 8.60±0.41                     | 8.40±0.15  | 11.00±0.45 | 12.23±0.34 | 25                                                           |
|                                               | سالمونلا تیفی<br>Salmonella typhi             | 7.11±0.01                     | 8.94±0.53  | 9.00±0.30  | 11.64±0.24 | 18                                                           |
| سارگاسوم-ماسیراسیون<br>Maceration- Sargassum  | استافیلوکوکوس اورئوس<br>Staphylococcus aureus | 10.51±0.03                    | 9.30±0.30  | 10.20±0.21 | 11.30±0.35 | 20                                                           |
|                                               | لیستریا اینوکوا<br>Listeria innocua           | 9.16±0.33                     | 10.42±0.17 | 11.12±0.71 | 11.30±0.25 | 23                                                           |
|                                               | اشریشیا کلی<br>Escherichia coli               | 0                             | 0          | 7.17±0.24  | 8.00±0.42  | 18                                                           |
|                                               | سالمونلا تیفی<br>Salmonella typhi             | 7.53±0.25                     | 8.40±0.15  | 8.06±0.34  | 8.40±0.42  | 25                                                           |
| سارگاسوم-اولتراسونیک<br>Ultrasonic- Sargassum | استافیلوکوکوس اورئوس<br>Staphylococcus aureus | 10.51±0.13                    | 8.70±0.64  | 9.01±0.15  | 10.60±0.22 | 20                                                           |
|                                               | لیستریا اینوکوا<br>Listeria innocua           | 9.51±0.02                     | 9.36±0.25  | 9.46±0.25  | 10.30±0.35 | 18                                                           |
|                                               | اشریشیا کلی<br>Escherichia coli               | 7.42±0.51                     | 7.45±0.14  | 8.30±0.74  | 9.69±0.36  | 23                                                           |
|                                               | سالمونلا تیفی<br>Salmonella typhi             | 0                             | 8.20±0.36  | 8.10±0.22  | 9.08±0.44  | 25                                                           |



شکل ۲- حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره جلبک پادینا ماسیراسیون (الف) اولتراسوند (ب) و عصاره جلبک سارگاسوم ماسیراسیون (ج) اولتراسوند (د)

Fig. 2- Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of of maceration (a) and ultrasonic (b) Padina extract and maceration (c) and ultrasonic (d) Sargassum extract

استیل کولین استراز (AChE) در محدوده میکرومول (IC<sub>50</sub> 23.2 و 32/7  $\mu$ m به ترتیب) دارند (Barbalace et al., 2019).  
اولاسهیند و همکاران (Olasehinde et al., 2019) گزارش کردند که عصاره متانولیک سارگاسوم بازدارنده قوی در مقدار IC<sub>50</sub> یک میلی گرم بر میلی لیتر و ۰/۶ میلی گرم بر میلی لیتر در فعالیت کولین استراز با استیل کولین یدید (ATCI) و بیوتریل تیول کولین یدید (BTCD) به عنوان سوپسترا نشان داد و دو مشتق فرانسیل استون (تحت عنوان  
(5E,10Z)-6,10,14-trimethylpentadeca-5,10-dien-2,12-dione و (5E,9E,13E)-6,10,4-trimethylpentadeca-5,9,13-trien-2,12-DIONE) از جلبک قهوه‌ای کره‌ای (*Sargassum sagamianum*) ایزوله شد و فعالیت بازدارندگی متوسط استیل کولین استراز و بیوتریل کولین استراز را با مقادیر IC<sub>50</sub> به ترتیب 65.0-48.0 و 34.0-23.0 Mm نشان دادند (Olasehinde et al., 2019). راتنایاکا و همکاران (Rathnayake et al., 2019) به بررسی

از نظر آسیب‌شناسی عصبی، AD با وجود پلاک‌های بتا آمیلوئید (A $\beta$ )، کلاف رشته‌ای عصبی و تحلیل رفتن نرون‌های کولینرژیک قاعده پیش مغز همراه است بنابراین، نویدبخش‌ترین روش برای درمان نشانه‌های AD افزایش سطح سیناپسی ACh در مغز با بازدارنده از آنزیم استیل کولین استراز (AChE) است که عامل اصلی هیدرولیز و توقف واکنش است. بنابراین بازدارنده‌های AChE مثل گلانتامین، دونپزیل، ریواستیگمین و تاکارین داروهای اصلی برای مدیریت بالینی AD هستند ACh آزاد شده به دلیل وجود میزان زیادی استیل کولین استراز (AChE) که آنزیمی است که پیوند استر را در مولکول هیدرولیز می‌کند، نیمه عمر بسیار کوتاهی دارد، در نتیجه فعالیت انگیزشی از بین می‌رود. طی جستجوی ترکیبات آنتی کولین استراز از موجودات دریایی، دو پلاستوکوئینون شناخته شده، اسید سارگاکوئینوئیک (۱) و سارگاکرومنول (۲) از *Sargassum sagamianum* جدا شدند. هر دو ترکیب نشان داد فعالیت مهار کننده

درمان جدید بیماری آلزایمر با توجه به بوتیریل کولین استراز پرداختند و به این نتیجه رسیدند که تنها درمان علائم اثبات شده موثر است، تا به امروز استفاده از مهارکننده‌های کولین استراز (ChE) برای تقویت فعالیت‌های کولینرژیک باقی مانده است. مهارکننده‌های ChE بر روی آنزیم‌هایی که هیدرولیز استیل کولین (ACh) را پس از انتشار سیناپسی عمل می‌کنند، اثر می‌کند. در مغز سالم، استیل کولین استراز (AChE) غالباً ۸۰ درصد و بوتیریل کولین استراز نقش جزئی در تنظیم سطح ACh مغز دارند. در مغز AD، فعالیت بوتیریل کولین استراز افزایش می‌یابد در حالی که فعالیت AChE بدون تغییر یا کاهش می‌یابد. بنابراین هر دو آنزیم‌ها احتمالاً در تنظیم سطوح ACh نقش دارند و اهداف درمانی را برای کاهش کولینرژیک کاهش می‌دهند. توسعه مهارکننده‌های بوتیریل کولین استراز و ادامه استفاده از مهارکننده‌های کولین استراز با توانایی مهار بوتیریل کولین استراز علاوه بر استیل کولین استراز منجر به نتایج بالینی بهبود یافته شد (Rathnayake et al., 2019). اولاسه‌هیند و همکاران (Olasehinde

(et al., 2019) به بررسی پتانسیل درمانی و مزایای سلامتی گونه‌های سارگاسوم پرداختند. تحقیقات زیادی گزارش شده است که نشان می‌دهند گونه‌های سارگاسوم حاوی پلی ساکاریدهای سولفات، پلاستوکوئینون، فلوزانتین، فوکوئیدان، سارگاکوئینوئیک اسید، سارگاکرومنول، استروئیدها، ترپنوئیدها و فلاونوئیدها و غیره هستند (Olasehinde et al., 2017). بعلاوه، این ترکیبات بیواکتیو و عصاره های مختلف پتانسیل درمانی معنی‌داری نشان دادند که می‌توان برای تهیه مواد کاربردی جدید در داروسازی برای درمان یا پیشگیری از اختلالات مختلف بکار برد. بنابراین، تحقیقات بیشتری لازم است تا از حداکثر پتانسیل درمانی آن‌ها در حوزه علوم پزشکی و داروسازی برای کاربری متمر ثمر جدید بهره‌گیری شود.

در تست قدرت به دام‌اندازی رادیکال آزاد نیتربک اکساید، نتایج نشان داد عصاره پادینا حاصل از روش اولتراسونیک دارای بالاترین فعالیت بود (شکل ۳).

جدول ۶- میزان جذب آنزیم استیل کولین استراز و ترکیب آنزیم و عصاره‌های جلبک

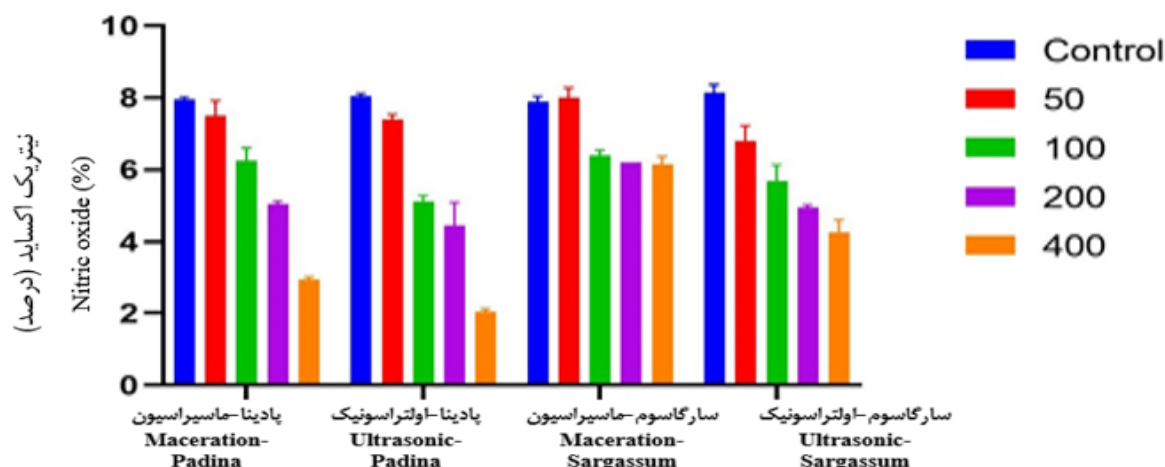
Table 6- The amount of acetylcholinesterase enzyme absorption and the combination of enzyme and algae extracts

| زمان (ثانیه)<br>Time (S) | آنزیم<br>Enzyme | جذب<br>Absorption                          |                                          |                                                 |                                               |
|--------------------------|-----------------|--------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
|                          |                 | آنزیم+عصاره جلبک<br>Enzyme+algae extract   |                                          |                                                 |                                               |
|                          |                 | پادینا-ماسیراسیون<br>Maceration-<br>Padina | پادینا-اولتراسونیک<br>Ultrasonic- Padina | سارگاسوم-ماسیراسیون<br>Maceration-<br>Sargassum | سارگاسوم-اولتراسونیک<br>Ultrasonic- Sargassum |
|                          |                 |                                            |                                          |                                                 |                                               |
| 0                        | 1.058           | 0.976                                      | 0.927                                    | 1.027                                           | 0.949                                         |
| 20                       | 1.112           | 1.030                                      | 0.954                                    | 1.012                                           | 1.009                                         |
| 40                       | 1.163           | 1.081                                      | 1.031                                    | 1.096                                           | 1.056                                         |
| 60                       | 1.242           | 1.112                                      | 1.069                                    | 1.140                                           | 1.112                                         |
| 80                       | 1.309           | 1.127                                      | 1.060                                    | 1.168                                           | 1.130                                         |
| 100                      | 1.317           | 1.166                                      | 1.087                                    | 1.241                                           | 1.174                                         |
| 120                      | 1.369           | 1.209                                      | 1.109                                    | 1.288                                           | 1.186                                         |

جدول ۷- درصد مهار آنزیم استیل کولین استراز توسط عصاره‌های جلبک‌ها

Table 7- The inhibition percentage of acetylcholinesterase enzyme by algae extracts

| نوع عصاره جلبک<br>Type of algae extract       | مهار آنزیم استیل کولین استراز<br>AChE nhibitory (%) |
|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| پادینا-ماسیراسیون<br>Maceration- Padina       | 31.2±0.72 <sup>b</sup>                              |
| پادینا-اولتراسونیک<br>Ultrasonic- Padina      | 42.56±0.40 <sup>a</sup>                             |
| سارگاسوم-ماسیراسیون<br>Maceration- Sargassum  | 11.63±0.81 <sup>d</sup>                             |
| سارگاسوم-اولتراسونیک<br>Ultrasonic- Sargassum | 25.06±0.11 <sup>c</sup>                             |



شکل ۳- فعالیت مهار نیتریک اکسید در حضور غلظت‌های مختلف (میلی گرم بر میلی لیتر) عصاره جلبک

Fig. 3- Nitric oxide scavenging activity of different concentration of algae extract (mg/ml)

و رگ‌زایی ارتباط و اثرات متقابل پیچیده‌ای دارد (Varshney et al., 2018).

لین و همکاران (Lin et al., 2017) گزارش کردند که پلی‌ساکاریدهای سولفات‌دار *Sargassum fulvellum* در پاکسازی NO پاکسازی DPPH قویتر از آنتی‌اکسیدان‌های تجاری مثل آلفا توکوفرول هستند. استفاده از مهارکننده‌های ساخت نیتریک اکسید باعث تضعیف اثرات فوق‌گردیده و تحریک‌پذیری نورون‌های بعد سیناپسی افزایش می‌یابد. با توجه به آثاری که سیر از طریق تنظیم نیتریک اکسید در بدن دارد. مطالعاتی مختلف، اثر آن را بر نیتریک اکسید در نمونه‌ها و مدل‌های گوناگون بررسی کرده‌اند (Lin et al., 2017). فوجی و همکاران (Fujii et al., 2004) اثر عصاره سیر و ماده ایمونو مدولاتور آن را بر میزان تولید نیتریک اکسید و IL-۱۲ توسط ماکروفاژهای صفاقی موش‌های balb/c آلوده به لشمایوز بررسی کردند؛ در این مطالعه، موش‌های آلوده به انگل با گذراندن دوره درمانی هفت روزه با عصاره سیر و ماده ایمونو مدولاتور آن درمان شدند. ماکروفاژهای صفاقی کشت داده شد. نتایج سنجش نیتریک اکسید با روش گریس نشان دادند، ماکروفاژهای صفاقی در گروهی که عصاره سیر را دریافت کردند، تولید نیتریک اکسید را تا دو برابر گروه کنترل افزایش دادند؛ اغلب مطالعات انجام شده، اثر زودگذر و آبی عصاره‌ها را بر سطح نیتریک اکسید سنجیده‌اند و کمتر مطالعاتی، آثار بلند مدت بر سطح این متابولیت را مورد بررسی قرار داده است. با توجه به آثاری که سیر بر سیستم ایمنی و اعصاب دارد، نیاز تعیین ماندگاری اثر عصاره در بدن و لزوم مشخص کردن اثر دراز مدت بر سطح نیتریک اکسید، به خوبی روشن است (Fujii et al., 2004). نتایج آزمایش ما نشان می‌دهند که در روش گریس

نیتریک اکسید واسطه مولکولی بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند گشادی عروق، التهاب، ترومبوز، ایمنی و انتقال عصبی شده و به وسیله‌ی مهار NADPH آرژنین، اکسیژن، و NOS می‌باشد. نیتریک اکسید، توسط آنزیم نیتریک اکسید سنتاز ساخته انقباض عضله صاف عروق، تجمع پلاکتی و چسبندگی لکوسیت‌ها به اندوتلیوم در هومئوستاز عروق شرکت دارد. تشخیص NO با اسپکتروفتومتری است که نیتريت تولید شده توسط اکسیداسیون نیز می‌تواند برای آنالیز نیتريت از طریق کاهش کاتالیزوری آن به نیتريت استفاده شود (Lin et al., 2017). بر اساس روش گریس، کیت Natrix™ شناسایی ترکیباتی مانند سرم، پلاسما، بافت هموژنه و لیزلولی را فراهم می‌کند. در این روش مقدار نیتریک اکسید به طور غیرمستقیم سنجیده می‌شود بدین صورت که اسیدسولفانیلیک به واسطه واکنش با نیتريت در محلول اسیدی یک رنگ آزو را تشکیل می‌دهد که می‌تواند در جذب نوری ۵۲۰ تا ۵۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شود. نیتریک اکسید توسط سلول‌های اندوتلیال و با استفاده از اسید آمینه آرژنین و ملکول اکسیژن و به وسیله آنزیم نیتریک اکسید سنتاز ساخته می‌شود. نیتریک اکسید رادیکال آزادی است که به وسیله آنزیم‌های نیتریک اکسید سنتاز تولید می‌شود. نیتریک اکسید از اکسیداسیون درون سلولی اسید آمینه آرژنین به وسیله نیتریک اکسید سنتازها تولید می‌شود. نیتریک اکسید در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک از جمله تنظیم گشادی و تنگی عروق، ارتباط سلول‌های عصبی و پاسخ‌های ایمنی شرکت دارد. نیتریک اکسید به شدت ناپایدار است و در اثر اکسیداسیون به نیتريت و نیتريت تبدیل می‌شود. مطالعه‌ها نشان می‌دهند که نیتریک اکسید با بیولوژی تومور

اولتراسوندی پادینا به مراتب بیشتر بود. از آنجایی که باکتری لیستریا یکی از مهم‌ترین باکتری‌های عامل مسمومیت غذایی است، و با توجه به ترکیبات شناسایی شده و خواص آنتی‌اکسیدانی، به نظر می‌توان از ترکیب عصاره جلبک‌ها به عنوان نگهدارنده طبیعی در صنایع غذایی بهره گرفت. پیشنهاد می‌شود پژوهش‌های گسترده‌ای چه در شرایط آزمایشگاهی و چه در ماده غذایی انجام گیرد. در یک جمع بندی کلی می‌توان بیان کرد که عصاره‌های جلبک دارای فعالیت ضد میکروبی بودند. وجود ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در عصاره‌ها تایید شد. پیشنهاد می‌گردد با آزمون‌های بالینی به صورت گسترده‌تر انجام گیرد تا بتوان از پتانسیل بالقوه جلبک‌های پادینا و سارگاسوم در صنایع غذایی و داروسازی بهره‌مند شد.

به تنهایی، حجمی بالا از نیتریک اکساید موجود در نمونه سرمی قابل تشخیص و سنجش نیست و با توجه به نقش استونیتریل، هم به عنوان احیاکننده نیترات به نیتريت و هم به عنوان رسوب‌دهنده پروتئین موجود در سرم، می‌توان ادعا کرد که روش گریس همراه با استونیتریل، روشی مناسب‌تر و قابل استناد تر برای سنجش نیتریک اکساید در ترکیبات است.

## نتیجه‌گیری

براساس نتایج پژوهش حاضر می‌توان ذکر کرد که هر دو روش عصاره‌گیری دو جلبک به خوبی در شرایط آزمایشگاهی توانستند از رشد سوبه‌های بیماری‌زا جلوگیری کنند که البته روش اولتراسونیک بر روش ماسیراسیون برتری داشت. فعالیت ضد میکروبی عصاره

## منابع

1. Cox, S., Abu-Ghannam, N., & Gupta, S. (2010). An assessment of the antioxidant and antimicrobial activity of six species of edible Irish seaweeds. *International Food Research Journal*, 17(1), 205-220. <https://doi.org/10.21427/D7HC92>.
2. Duarte, M.E., Cardoso, M.A., Noseda, M.D., & Cerezo, A.S. (2001). Structural studies on fucoidans from the brown seaweed *Sargassum stenophyllum*. *Carbohydrate Research*, 333(4), 281-293. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(01\)00149-5](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(01)00149-5).
3. Yende, S.R., Harle, U.N., & Chaugule, B.B. (2014). Therapeutic potential and health benefits of *Sargassum* species. *Pharmacognosy Reviews*, 8(15), 1. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.125514>.
4. Latifi, A. M., Sadegh Nejad, E., & Babavalian, H. (2015). Comparison of extraction different methods of sodium alginate from brown alga *Sargassum* sp. localized in the Southern of Iran. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 2(2), 251-255.
5. Amini, F., Riahi, H., & Zolgharnain, H. (2013). Metal concentrations in *Padina* species and associated sediment from Nayband Bay and Bostaneh Port, northern coast of the Persian Gulf, Iran.
6. Rohani-Ghadikolaei, K., Abdulalian, E., & Ng, W.K. (2012). Evaluation of the proximate, fatty acid and mineral composition of representative green, brown and red seaweeds from the Persian Gulf of Iran as potential food and feed resources. *Journal of Food Science and Technology*, 49(6), 774-780. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0220-0>.
7. Devi, K.N., Kumar, T.T., & Balasubramanian, T. (2014). Antibacterial and antioxidant effects from seaweed, *Sargassum wightii* (Greville, 1848) against marine ornamental fish pathogens. *Journal of Coastal Life Medicine*, 2(10), 773-83.
8. Kordjazi, M., Etemadian, Y., Shabanpour, B., & Pourashouri, P. (2019). Chemical composition antioxidant and antimicrobial activities of fucoidan extracted from two species of brown seaweeds (*Sargassum ilicifolium* and *S. angustifolium*) around Qeshm Island. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 18(3), 457-475. <https://doi.org/10.22092/IJFS.2018.11549>.
9. Hlila, M.B., Hichri, A.O., Mahjoub, M.A., Mighri, Z., & Mastouri, M. (2017). Antioxidant and antimicrobial activities of *Padina pavonica* and *Enteromorpha* sp. from the Tunisian Mediterranean coast. *Journal of Coastal Life Medicine*, 5, 336-342.
10. Vieitez, I., Maceiras, L., Jachmanián, I., & Alborés, S. (2018). Antioxidant and antibacterial activity of different extracts from herbs obtained by maceration or supercritical technology. *The Journal of Supercritical Fluids*, 133, 58-64. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.09.025>.
11. Pezeshkpour, V., Khosravani, S.A., Ghaedi, M., Dashtian, K., Zare, F., Sharifi, A., & Zoladl, M. (2018). Ultrasound assisted extraction of phenolic acids from broccoli vegetable and using sonochemistry for preparation of MOF-5 nanocubes: Comparative study based on micro-dilution broth and plate count method for synergism antibacterial effect. *Ultrasonics Sonochemistry*, 40, 1031-1038. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.09.001>.
12. Hameed, I.H., Hussein, H.J., Kareem, M.A., & Hamad, N.S. (2015). Identification of five newly described bioactive chemical compounds in methanolic extract of *Mentha viridis* by using gas chromatography-mass



- spectrometry (GC-MS). *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 7(7), 107-125. <https://doi.org/10.5897/JPP2015.0349>.
13. Papandreou, M.A., Dimakopoulou, A., Linardaki, Z.I., Cordopatis, P., Klimis-Zacas, D., Margarity, M., & Lamari, F.N. (2009). Effect of a polyphenol-rich wild blueberry extract on cognitive performance of mice, brain antioxidant markers and acetylcholinesterase activity. *Behavioural Brain Research*, 198(2), 352-358. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.11.013>.
14. Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., & Chern, J.C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3). <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>.
15. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., & Berset, C.L.W.T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
16. Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres Jr, V., & Featherstone, R.M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88-95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9).
17. Behbahani, B.A., Yazdi, F.T., Vasiee, A., & Mortazavi, S.A. (2018). Oliveria decumbens essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some clinical and standard strains causing infection. *Microbial Pathogenesis*, 114: 449-452. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.12.033>.
18. Noshad, M., Hojjati, M., & Behbahani, B.A. (2018). Black Zira essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some pathogenic strain causing infection. *Microbial Pathogenesis*, 116, 153-157. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.01.026>.
19. Ferrazzano, G.F., Scioscia, E., Sateriale, D., Pastore, G., Colicchio, R., Pagliuca, C., & Pagliarulo, C. (2017). In vitro antibacterial activity of pomegranate juice and peel extracts on cariogenic bacteria. *BioMed Research International*. <https://doi.org/10.1155/2017/2152749>.
20. Abdel-Aal, E.I., Haroon, A.M., & Mofeed, J. (2015). "Successive solvent extraction and GC-MS analysis for the evaluation of the phytochemical constituents of the filamentous green Alga *Spirogyra longata*." *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 41(3), 233-46. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2015.06.001>.
21. Sarpal, A.S., & Costa, I.C.R. (2016). Investigation of Biodiesel Potential of Biomasses of Microalgae Chlorella, Spirulina and Tetraselmis by NMR and GC-MS Techniques. *Journal of Biotechnology & Biomaterials*, 06(01), 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2015.06.001>.
22. Avula, S.G.C., Belovich, J.M., & Xu, Y. (2017). Determination of fatty acid methyl esters derived from Algae *Scenedesmus dimorphus* Biomass by GC-MS with one-step esterification of free fatty acids and transesterification of glycerolipids. *Journal of Separation Science*, 40(10), 2214-27. <https://doi.org/10.1002/jssc.201601336>.
23. Barbalace, M. C., Malaguti, Giusti, L., Lucacchini, A., Hrelia, S., & Angeloni, C. (2019). Anti-inflammatory activities of marine algae in neurodegenerative diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(12), <https://doi.org/10.3390/ijms20123061>.
24. Boi, V.N., Dang, X. C., & Phan, T. K. V. (2016). Effects of extraction conditions over the Phlorotannin content and antioxidant activity of extract from brown algae *Sargassum serratum* (Nguyen Huu Dai 2004). *Free Radicals and Antioxidants*, 7(1), 115-22. <https://doi.org/10.5530/fra.2017.1.17>.
25. Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.S., & Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, Techniques, Combinations, Protocols and Applications. A Review." *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540-60. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>.
26. Franco, D., Sineiro, J., Rubilar, M., Sánchez, Jerez, M., Pinelo, M., Costoya, N., & Núñez, M. J. (2008). Polyphenols from plant materials: extraction and antioxidant power. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 7(8), 3210-16.
27. Fujii, T., Y. Gao, R., Sharma, E.L., Hu, DenBaars, S.P., & Nakamura, S. (2004). Increase in the extraction efficiency of GaN-based light-emitting diodes via surface roughening. *Applied Physics Letters*, 84(6), 855-57. <https://doi.org/10.1063/1.1645992>.
28. Gaysinski, M., Ortalo-Magné, A., Thomas O.P., & Culioli, G. (2015). *Springer Protocols, Natural Products from Marine Algae*, 2, 207-223. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2684-8-13>.
29. Hielscher-Michael, S., Griehl, C., Buchholz, M., Ulrich Demuth, H., Arnold, N., & Ludger, A.W. (2016). Natural products from microalgae with potential against Alzheimer's disease: Sulfolipids Are Potent Glutaminyl Cyclase inhibitors. *Marine Drugs*, 14(11), 203. <https://doi.org/10.3390/md14110203>.
30. Hlila, M.B., Majouli, K., Jannet, H.B., Mahjoub, A., Mastouri, M., & Selmi, B. (2017). Antimicrobial activity of Tunisian *Euphorbia paralias* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(7), 629-32. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.06.008>.

31. Kausalya, M., & Narasimha Rao, G. M. (2015). Antimicrobial activity of marine algae. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 6(1), 78–87.
32. Lin, H.W., Liu, C.W., Yang, D.J., Chen, C.C., Shih Yin, C., Jung Kai T., Tien Jye C., & Yuan Yen, C. (2017). Dunaliella salina alga extract inhibits the production of Interleukin-6, Nitric Oxide, and Reactive Oxygen species by regulating nuclear factor-KB/Janus Kinase/Signal Transducer and activator of transcription in Virus-infected RAW264.7 Cells. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(4), 908–18. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.11.018>
33. Machu, L., Misurcova, L., Ambrozova, J.V., Orsavova, J., Mlcek, J., Sochor, J., & Jurikova, T. (2015). Phenolic content and antioxidant capacity in Algal food products. *Molecules*, 20(1), 1118–33. <https://doi.org/10.3390/molecules20011118>
34. Mekinić, I. G., Skroza, D., Šimat, V., Hamed, I., Čagalj, M., & Perković, Z.P. (2019). Phenolic content of brown algae (Pheophyceae) species: extraction, identification, and quantification. *Biomolecules*, 9(6), 244. <https://doi.org/10.3390/biom9060244>.
35. Moein, S., Moein, M., Ebrahimi, N., Farmani, F., Sohrabipour, J., & Rabiei, R. (2015). Extraction and determination of protein content and antioxidant properties of ten algae from Persian Gulf. *International Journal of Aquatic Science*, 6(2), 29–38.
36. Olasehinde, T. A., Olaniran, A. O., & Okoh, A. I. (2019). Macroalgae as a valuable source of naturally occurring bioactive compounds for the treatment of Alzheimer's disease. *Marine Drugs*, 17(11), 609. <https://doi.org/10.3390/md17110609>.
37. Olasehinde, T.A., Olaniran, A.O., Okoh, A.I., & Koulen, P. (2017). Therapeutic potentials of microalgae in the treatment of Alzheimer's disease. *Molecules*, 22(3), 480. <https://doi.org/10.3390/molecules22030480>.
38. Otero, P., Quintana, S. E., Reglero, G., Fornari, T., & García-Risco, R. M. (2018). Pressurized liquid extraction (PLE) as an innovative green technology for the effective enrichment of Galician algae extracts with high quality fatty acids and antimicrobial and antioxidant properties. *Marine Drugs*, 16(5), 156. <https://doi.org/10.3390/md16050156>.
39. Patil, P.D., Dandamudi, K.P.R., Wang, J., Deng, Q., & Deng, S. (2018). Extraction of bio-oils from Algae with supercritical carbon dioxide and co-solvents. *Journal of Supercritical Fluids*, 135, 60–68. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.12.019>.
40. Rathnayake, A.U., Abuine, R., Kim, Y.J., & Byun, H.G. (2019). Anti-Alzheimer's materials isolated from marine bio-resources: a review. *Current Alzheimer Research*, 16(10), 895–906. <https://doi.org/10.2174/1567205016666191024144044>.
41. Silva, A., Silva, S.A., Carpena, M., Garcia-Oliveira, P., Gullón, P., Barroso, M.F., Prieto, M.A., & Simal-Gandara, J. (2020). Macroalgae as a source of valuable antimicrobial compounds: extraction and applications. *Antibiotics*, 9(10), 1–41. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9100642>.
42. Uysal, S., Aktumsek, A., Picot, C.M.N., Sahan, A., Mollica, A., Zengin, G., & Mahomoodally, M.F. (2017). A comparative: in vitro and in silico study of the biological potential and chemical fingerprints of *Dorcycinum pentapylum* Subsp. Haussknechtii using three extraction procedures. *New Journal of Chemistry*, 41(22), 13952–60. <https://doi.org/10.1039/C7NJ03497K>.
43. Varshney, P., Beardall, J., Bhattacharya, S., & Wangikar, P.P. (2018). Isolation and biochemical characterisation of two thermophilic green algal species- asterarcys Quadricellulare and Chlorella Sorokiniana, which are tolerant to high levels of carbon dioxide and nitric oxide. *Algal Research*, 30, 28–37. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.12.006>.
44. Wen, C., Zhang, J., Zhang, H., Dzah, C. S., Zandile, M., Duan, Y., Ma, H., & Luo, X. (2018). Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops – a review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 48(May), 538–49. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.07.018>.



## Investigating the Effect of Roasting Temperature and Storage Time of Hazelnut Seed on the Color and Quality of its Dough

S.H. Seyed Qavami<sup>1</sup>, A. Nasrollah Zadeh<sup>2\*</sup>

Received: 2021-11-07

Revised: 2021-12-23

Accepted: 2022-01-16

Available Online: 2022-05-15

### How to cite this article:

Seyed Qavami, S.H., & Nasrollah Zadeh, A. (2023). Investigating the effect of roasting temperature and storage time of hazelnut seed on the color and quality of its dough. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 19(2), 279-290. (In Persian with English abstract). <http://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.72914.1111>

### Introduction

All the different species of hazelnut trees produce edible nuts. Hazelnuts are one of the most nutritious nuts, with a protein content of about 12%. They are also a good source of energy, with a fat content of about 60%, and an excellent source of carbohydrates, half of which are dietary fiber. Hazelnuts also contain minerals (Ca, Mg, P, K), vitamins (E and B), and antioxidants. Hazelnut kernels may be eaten raw or roasted. Roasting alters and significantly enhances the color, texture, and appearance of nuts. These changes increase the overall palatability of the nuts and are mainly related to non-enzymatic browning. Non-enzymatic browning, however, causes a decrease in nutritional value due to decrease in protein digestibility and loss of essential amino acids. The most widely used nut roasting method is the convective heat transfer process, which is performed in a hot air oven working either in continuous mode or in batch systems. Therefore, modifying this process for improving product quality is very important. Color is among the most important quality attributes of dehydrated foods for consumers. Empirically, color is also an effective quality indicator because the brown pigments increase as the browning and caramelization reactions progress. Therefore, this study aimed to investigate the effect of high roasting temperature and storage time on color changes and oxidation of hazelnut paste oil.

### Materials and Methods

After getting hazelnut kernels, the Roasting process was performed with hot air at 130 and 170 °C for 20 minutes. Hazelnut paste is produced as practiced in the industry. Quality analysis was roasted hazelnut paste color changes and fat oxidation. L \*, a \*, b \* color index, ( $\Delta E$ ), acidity, and peroxide value were measured in three intervals (0, 10, 30 days). All experiments were performed in three replications. Average Data was compared using one-way ANOVA and done by SPSS version 21.

### Results and Discussion

The main purpose of roasting is to improve the flavor, the color, and the crispy and crunchy texture of the product. The roasting process is very important to determine the characteristic roasted flavor and color of the product: in particular, temperature modulation is an important independent variable significantly affecting the quality features of hazelnut. In this study, ANOVA analysis results showed a significant difference between the treatments. Both roasting temperature and storage time affect the acidity and peroxide value. The increased temperature and storage increased the acidity and peroxide index, which indicated fat oxidation at higher temperatures. For ten days, the sample's peroxide value increased. After that, these parameters decreased because the first autooxidation products changing to the second product. Due to the release of free fatty acids after the basic hydrolysis of triglycerides, the acidity of the samples increased. The Browning color of roasted products was desirable. Discoloration during the roasting process of hazelnut kernels is mainly related to non-enzymatic browning. The brown pigments increase with the development of browning

1 and 2- Master's Student and Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran, respectively.

(\*- Corresponding Author Email: [azinnasr@yahoo.com](mailto:azinnasr@yahoo.com))

DOI: [10.22067/ifstrj.2022.72914.1111](http://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.72914.1111)

reactions. Results showed that the color index includes the  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , and  $\Delta E$  values of the samples only affected by roasting temperature. With increasing the temperature, the  $L^*$  value decreased but other values increased. Color indicators significantly changed and are not desirable for the consumers. The rate of color changes increased, including browning, indicating a non-enzymatic browning reaction in the samples during roasting.

### **Conclusion**

According to the results, hazelnuts roasted at 130°C introduced as the best treatment. It is recommended that the storage time does not exceed ten days.

**Keywords:** Color changes, Hazelnut, Oxidation, Peroxide, Roasting

## مقاله پژوهشی

# بررسی تاثیر دمای برشته کردن و زمان نگهداری دانه فندق بر رنگ و کیفیت خمیر آن

سید حسین سید قوامی<sup>۱</sup> - آذین نصرالله زاده<sup>۲\*</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۱۶

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۱۰/۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۲۶

## چکیده

برشته کردن از جمله مراحل فرآوری مغزها، به منظور افزایش پذیرش کلی آنها، بهبود طعم، رنگ، بافت و ظاهر محصول می‌باشد. بنابراین، بهینه‌سازی و اصلاح این فرآیند و بهبود کیفیت محصول از این طریق، بسیار با اهمیت است. این تحقیق با هدف بررسی تاثیر دمای بالای برشته کردن و مدت زمان نگهداری (روز ۱، ۱۰ و ۲۰) بر تغییرات رنگ و اکسیداسیون روغن خمیر فندق انجام شد. فرآیند برشته کردن فندق با هوای داغ در آون با دمای  $130^{\circ}\text{C}$  و  $170^{\circ}\text{C}$  به مدت زمان ۲۰ دقیقه انجام شد. تغییرات رنگ فندق و اکسیداسیون چربی خمیر فندق برشته شده مطالعه شد. آزمون‌های کیفی تغییرات شاخص‌های رنگی شامل اندازه گیری شاخص  $L^*$ ،  $a^*$ ،  $b^*$ ، تغییرات کلی رنگ ( $\Delta E$ )، همچنین اسیدیته و اندیس پراکسید تیمارها بررسی شد. نتایج تجزیه واریانس ANOVA نشان داد، تفاوت آماری معنی‌دار بین تیمارها وجود داشت. با افزایش دما برشته کردن، شاخص‌های رنگی تغییر کردند و این تغییرات معنی‌دار در رنگ محصول از دیدگاه مصرف کننده مطلوب نیست. با افزایش دما، سرعت تغییرات رنگی از جمله قهوه‌ای شدن افزایش یافت که نشان‌دهنده ایجاد واکنش‌های قهوه‌ای شدن در نمونه‌ها طی برشته شدن بود. مدت زمان نگهداری تأثیر معناداری بر پارامترهای رنگی نداشت. دما برشته کردن و مدت زمان نگهداری باعث افزایش شاخص اسیدیته و پراکسید فندق شد که نشان دهنده اکسیداسیون چربی در دماهای بالاتر بود.

**واژه‌های کلیدی:** اکسیداسیون، برشته کردن، پراکسید، تغییرات رنگی، خمیر فندق

## مقدمه

طرفی، علاوه بر ارزش غذایی بالای فندق و فواید سلامتی‌بخش آن، طعم منحصر به فرد، متمایز و همچنین تردی دلپذیری را به محصول می‌دهد. فندق غنی از ترکیبات مغذی شامل پروتئین‌ها، روغن، ویتامین‌ها و مواد معدنی است (Sarica et al., 2021). در میان ترکیبات مغذی، روغن از نظر کمی و کیفی مهم‌ترین ترکیب فندق است. میانگین محتوای روغن فندق ۶۰٪ است. بیشترین مقدار روغن فندق را اولئیک اسید تشکیل داده است که اثرات سلامتی‌بخش آن برای انسان ثابت شده است با این حال، فندق بسیار مستعد فساد است. در طول ذخیره‌سازی، بخش چربی می‌تواند تحت هیدرولیز و اکسیداسیون قرار گیرد، که منجر به بو و طعم نامطلوب و کاهش ارزش تغذیه‌ای آن می‌شود (Król et al., 2017; al., 2019). مغز فندق ممکن است به صورت خام یا برشته شده مصرف شود. فرآیند حرارتی صنعتی به منظور حذف پوست مغز، کاهش رطوبت، ایجاد عطر و طعم بهتر انجام می‌شود. ترکیبات مسئول

فندق با تولید بیش از ۸۶۳ هزار تن در سال، رتبه سوم در بازار جهانی آجیل را دارد که به صورت خام، با یا بدون پوست به بازار عرضه می‌شود؛ به دلیل غلظت بالای ترکیبات زیست فعال از جمله استرول‌ها، توکوفرول‌ها، اسیدهای فنولیک و فلاونول‌ها در فندق، به عنوان یک غذای فراسودمند<sup>۳</sup> بر چسب گذاری شده است (Król and Gantner, 2020). خواص ارگانولپتیکی منحصر بفرد فندق سبب شده که از جمله اجزاء مهم فرمولاسیون در بسیاری از محصولات غذایی مانند شکلات، اسنک‌ها، کیک، سالاد، لبنیات و ... بشمار آید. از

۱ و ۲- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران  
(\*)- نویسنده مسئول:  
(Email: azinnasr@yahoo.com)

DOI: 10.22067/ifstrj.2022.72914.1111

3- Functional food

ایجاد می‌شود. تا کنون تحقیق در داخل کشور بر خمیر فندق برشته شده منتشر نشده است بنابراین این مطالعه تعیین دمای بهینه برشته کردن خمیر فندق و مدت زمان نگهداری آن بر ویژگی‌های کیفی، به ویژه رنگ انجام شده است.

### مواد و روش‌ها

**تهیه تیمارهای تحقیق:** نمونه‌های مغز فندق بطور تصادفی از شرکت زرین دانه اشکور (ایران) خریداری شدند. دانه‌های فندق حاوی ۱۵/۰۹٪ پروتئین، ۶۵/۶٪ چربی، ۰/۹٪ رطوبت بودند. پس از خنک شدن در دمای محیط، مغزهای برشته شده در سه دوره زمانی ۰، ۱۰ و ۲۰ روز نگهداری شدند. خمیر فندق به روش رایج در کارخانه به کمک دستگاه کره گیر آزمایشگاهی (پارس البرز- ایران) تهیه شد. برای این منظور، بعد از جدا کردن و پوست دانه‌ها، خشک شدند. سپس عمل برشته کردن و آنزیم‌بری فندق‌ها در آون (شیماز- ایران) با دماهای ۱۷۰ و ۱۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. بعد از آسیاب شدن دانه‌ها برای انجام آزمون مورد استفاده قرار گرفتند (Radfer and Fatemi, 2003).

**استخراج روغن از خمیر فندق:** حدود ۵۰ گرم از نمونه همگن شده درون بشر ریخته و ۵۰ میلی‌لیتر محلول N-هگزان (Merck - آلمان) به آن اضافه شد و بخوبی تا حل شدن کامل چربی مخلوط شدند. سپس مخلوط صاف و حلال درون حمام آب (Jisio - کره) °C ۷۰ تبخیر شد. روغن بدست آمده برای انجام آزمون اسیدیته و پراکسید استفاده شد (استاندارد ملی ایران، شماره ۱۵۸۱۳، ۱۳۹۷).

### آزمون‌ها

**آزمون عدد پراکسید:** ۵ گرم از نمونه روغن را توزین و ۳۰ میلی‌لیتر از محلول استیک اسید + کلروفرم (Merck - آلمان) که به نسبت ۳ به ۲ درست شده بود، به نمونه روغن اضافه شد. ۰/۵ میلی لیتر یدید پتاسیم اشباع (Sigma - آمریکا) به محلول اضافه و سپس به مدت ۱ دقیقه در تاریکی (کابینت تاریک) گذاشته شد. نهایتاً ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر را به محلول اضافه شدند و چند قطره چسب نشاسته (Merck - آلمان) ۵٪ بعنوان معرف به آن افزوده شد. محلول با سدیم تیوسولفات ۰/۱ نرمال (Merck - آلمان) عیارسنجی شد (Iranian Institute of Standards and Industrial Research, 2018).

$$\text{عدد پراکسید} = \frac{(V_2 - V_1) \times N \times 1000}{m}$$

رابطه (۱)

که در آن،

بوی مشخص فندق با روش بو دادن از پیش‌سازهای موجود در دانه خام طی تغییرات شیمیایی و قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی تولید می‌شوند؛ همچنین برشته کردن، با غیرفعال کردن آنزیم‌ها و میکروارگانیسم‌های نامطلوب مدت ماندگاری فندق را افزایش می‌دهد (Yousefi et al., 2021). خشکی و قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی علل اصلی تغییر بافت، ایجاد عطر و رنگ در غذاهای برشته شده است. قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی بین گروه کربونیل قندهای احیاء کننده و گروه آمینو آزاد آمینو اسیدها بدون بار یا پروتئین‌ها با از دست دادن یک مول آب رخ می‌دهد. انجام واکنش قهوه‌ای شدن وابسته به حرارت، فعالیت آبی ماده غذایی و همچنین عوامل ترکیبی (مانند نسبت قند و آمینو اسید و pH) است. بنابراین، کنترل دما و توزیع رطوبت برای طراحی فرآیند برشته کردن بسیار مهم است. متداول‌ترین روش برشته کردن مغز دانه‌ها استفاده از فرآیند حرارتی به صورت جابه‌جایی<sup>۱</sup> است که بصورت مداوم یا بصورت بچ تحت زمان و دماهای مختلف، مورد استفاده قرار می‌گیرد. بطور خاص، نوسانات دما به عنوان یک متغیر مستقل بطور قابل توجهی بر ویژگی‌های کیفی فندق تأثیر گذار است. مطالعات نشان داده که استفاده از هوای گرم سبب پایداری اکسیداتیو فندق برشته شده می‌شود (Tepe et al., Lamberti et al., 2021; 2020). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از واکنش غیر آنزیمی طی فرآیند برشته کردن تشکیل می‌شوند و غیر فعال کردن آنزیم‌های تجزیه کننده چربی درون‌زا<sup>۲</sup> برای محافظت از لیپیدها در برابر اکسیداسیون اتفاق می‌افتد. علاوه بر این، باید تأکید کرد که فندق منبع غنی از توکوفرول است که تا حد زیادی در عملیات حرارتی برشته کردن سالم می‌مانند. استفاده از یک فرآیند حرارتی مناسب سبب حفظ ساختار فندق و کاهش میزان تبخیر آب در مرحله اول خواهد شد، بنابراین منجر به کاهش تخریب در پایان فرآیند برشته می‌شود (Alamprese et al., 2009). ساریکا (Sarica et al., 2021)، طی بررسی تأثیر برشته شدن بر ویژگی‌های اکسیداسیون رقم فندق ترکی نشان دادند میزان آب و رطوبت فندق کاهش یافت در حالیکه شاخص L\* و b\* نمونه‌های فندق در حین برشته شدن افزایش می‌یابد. همچنین بینلو (Binello et al., 2018)، نشان دادند که استفاده از آون جهت برشته کردن فندق ترکیبات آنتی‌اکسیدانی آن را نسبت به سایر سیستم‌ها بهتر حفظ کرد. دهشتی و همکاران (Deheshti et al., 2021) طی بررسی تأثیر دماهای مختلف برشته کردن با هوای داغ در دمای °C ۱۲۰، ۱۴۰ و ۱۶۰ و مدت زمان ۲۰، ۳۰ و ۵۰ دقیقه بر رنگ و اکسیداسیون روغن پسته نشان دادند با افزایش دما و مدت زمان برشته کردن، تغییرات معنی‌دار در شاخص‌های رنگی محصول نهایی



$v_2$  = حجم تیوسولفات سدیم مصرفی برای نمونه  $v_1$  / حجم تیوسولفات مصرفی برای شاهد  $N$  = نرمالیه تیوسولفات مصرفی  $m$  / وزن روغن مصرفی به گرم

**آزمون اسیدیتیه:** ابتدا ۵ گرم از روغن استخراج شده درون ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری ریخته و به آن ۵۰ میلی لیتر اتانول (Merck - آلمان) خنثی شده جوشان همراه با ۱ میلی لیتر معرف فتل الفثالین (Merck - آلمان) اضافه شد. مخلوط حاصله با سود ۰/۱ نرمال (Merck - آلمان) تیترا شد. اسیدیتیه بر حسب اولتیک اسید گزارش شد (Iranian Institute of Standards and Industrial Research, 2019):

رابطه (۲) 
$$\text{درصد اسیدیتیه روغن استخراجی} = \frac{v \times N \times 28.2 \times 100}{w}$$
 که در آن:  $v$  = حجم سدیم هیدروکسید مصرفی بر حسب میلی لیتر /  $N$  = نرمالیه سدیم هیدروکسید مصرفی /  $w$  = وزن جری استخراج شده به گرم

**رنگ سنجی:** جهت تعیین رنگ نمونه از دستگاه رنگ سنج هانتر لب استفاده شد و سه مولفه  $a^*$  (قرمزی)،  $b^*$  (زردی) و  $L^*$  (روشنایی) اندازه گیری شد. توصیف تغییرات رنگ بین نمونه های فندق برشته، کل تفاوت رنگی که به عنوان فاصله اقلیدسی ( $\Delta E$ ) بین تیمارهای فندق معروف است که از رابطه زیر محاسبه شد (Tepe et al., 2020):

$$\Delta E = ((\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2)^{1/2} \quad \text{رابطه (۳)}$$

**تجزیه و تحلیل آماری داده ها:** میانگین داده ها با استفاده از روش تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ مقایسه شدند. به منظور کاهش خطا کلیه آزمایشات در سه مرحله تکرار و سطح معنی داری ۵٪ انجام و همچنین رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار اکسل ۲۰۱۶ صورت پذیرفت.

## نتایج و بحث

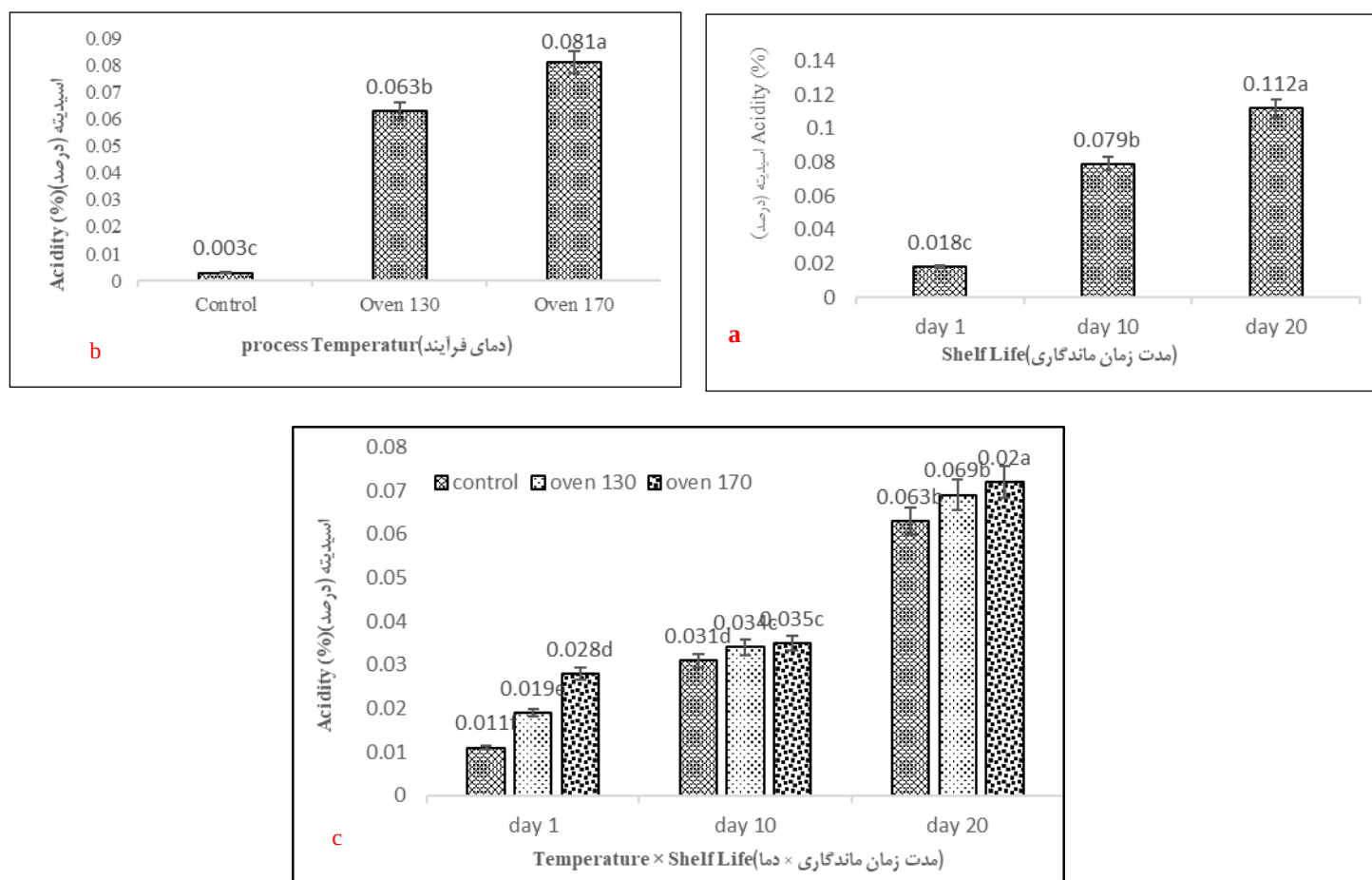
**بررسی اسیدیتیه تیمارها:** نتایج نشان می دهد تغییرات دما و زمان نگهداری و همچنین اثرات متقابل آن ها تغییرات معناداری بر میزان اسیدیتیه ایجاد می کند ( $p < 0.05$ ). بررسی روند تغییرات اسیدیتیه تیمارها با تغییرات درجه حرارت در **شکل ۱** نشان داده شده است. بر اساس این نمودار با افزایش دمای برشته کردن از ۱۳۰ به ۱۷۰ درجه سانتی گراد، اسیدیتیه افزایش چشمگیری داشته و از ۰/۰۶۳ به ۰/۰۸۱٪ رسید ( $p < 0.05$ ). میزان اسیدیتیه کلی تیمارهای مورد بررسی نشان دهنده هیدرولیز ناچیز تری گلیسریدها است (Budryn and Nebesny, 2013). افزایش اسیدیتیه را می توان به رهایی اسیدهای

چرب آزاد پس از هیدرولیز اصلی تری گلیسریدها، بعنوان اجزاء اصلی تشکیل دهنده روغن های گیاهی در اثر فعالیت آنزیمی دانه ها، نسبت داد (Belcadi-Haloui et al., 2018). لیپاز و استراز سبب ایجاد واکنش های اکسیداسیونی آنزیم کاتالاز می شوند. این دو آنزیم اسیدهای چرب را از چربی جدا کرده و تولید اسیدهای چرب آزاد می نمایند، بنابراین اسیدهای چرب آزاد تشکیل شده می توانند سوبسترای واکنش های اکسیداسیون شوند. استراز نسبت به حرارت مقاوم بوده و ممکن است حتی پس از برشته شدن نیز فعال باقی بماند. برشته کردن اساساً باعث کاهش فعالیت لیپاز می شود (Soleimanieh et al., 2015). همچنین تأثیر زمان افزایش اسیدیتیه را طی ۲۰ روز نشان داد ( $p < 0.05$ ). کمترین میزان اسیدیتیه مربوط به تیمار تیمار شاهد بود. اسیدیتیه تیمارها بطور قابل توجهی تحت تأثیر متقابل دمای برشته شدن و زمان نگهداری افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). بیشترین میزان اسیدیتیه در تیمار برشته شده با آن در دمای ۱۷۰ درجه سانتی گراد در روز ۲۰ آزمایش گزارش شد اما در روز ۲۰ آزمایش بین تیمار شاهد و برشته شده در آن با دمای ۱۳۰ درجه سانتی گراد تفاوت معناداری گزارش نشد. علت این امر می تواند به دلیل غیر فعال شدن آنزیم لیپازی در دمای ۱۳۰ درجه سانتی گراد باشد. آنزیم های لیپیدی درست در زیر پوسته نازک دانه واقع شده اند و در سلول های صدمه ندیده نمی توان به چربی ها حمله کنند. اما از آنجایی که دماهای بالای برشته کردن سبب ایجاد تغییرات فیزیکی در سلول می شود و با توجه به مقاومت حرارتی بالای آنزیم استراز افزایش معنی داری در اسید چرب آزاد تیمارهای برشته شده در دمای ۱۷۰ درجه سانتی گراد مشاهده گردید (Özdemir and Devres, 2000). چونک (Chungj et al., 2011) نیز نتایج مشابهی در ارتباط با افزایش میزان اسیدیتیه را در طول فرآیند برشته کردن دانه ذرت مشاهده کردند و علت این امر را احتمالاً به دلیل انجام واکنش های میلارد و ایجاد ترکیبات اسیدی از مواد قندی در طول واکنش های شیمیایی بیان کردند. اوزدمیر (Özdemir et al., 2000) تأثیر دمای بالای برشته کردن بر اسیدهای چرب آزاد دانه فندق نشان دادند و علت آن را به دلیل حضور بیشتر محصولات ضد اکسایشی واکنش غیر آنزیمی قهوه ای شدن گزارش کردند.

**بررسی پراکسید تیمارها:** نتایج عدد پراکسید تیمارها در **شکل ۲** نشان داده شده است. با افزایش دما از ۱۳۰ تا ۱۷۰ درجه سانتی گراد، میزان پراکسید تیمارها از ۰/۳۲۴ به ۰/۴۸۳ meq/KgO<sub>2</sub> افزایش چشمگیری نشان داد ( $p < 0.05$ ). روند افزایشی معنادار عدد پراکسید به تشکیل و تجمع هیدروپراکسیدها نسبت داده شده است. هیدروپراکسیدهای در نتیجه واکنش اتواکسیداسیون اجزای مغزا (به عنوان مثال اسیدهای آمینه و پروتئین ها) هستند. افزایش این پارامتر

(2000) بالا رفتن عدد پراکسید از ۲ meq/KgO<sub>2</sub> در روغن فندق برشته شده، سبب ظهور طعم تند شدن در روغن فندق می‌گردد.

نشان دهنده کاهش کیفیت روغن بدست آمده است (Soleimanieh Özdemir et al., 2015). طبق گزارش اوزدمیر و همکاران (



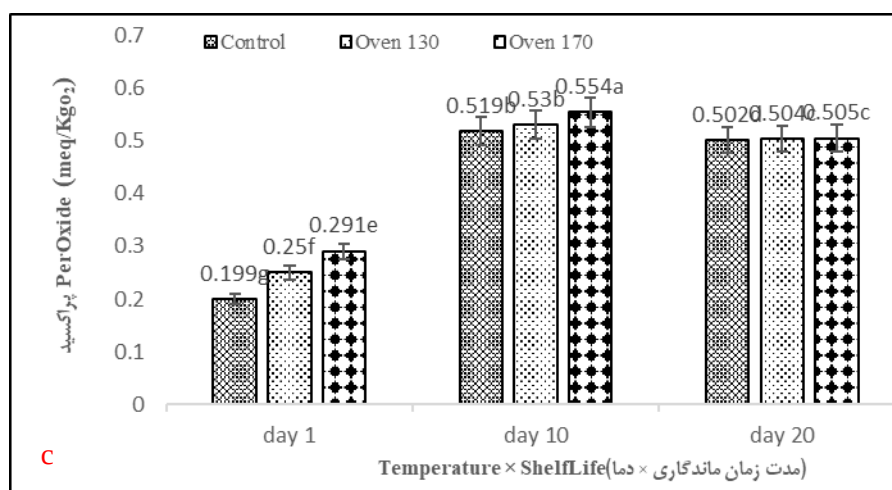
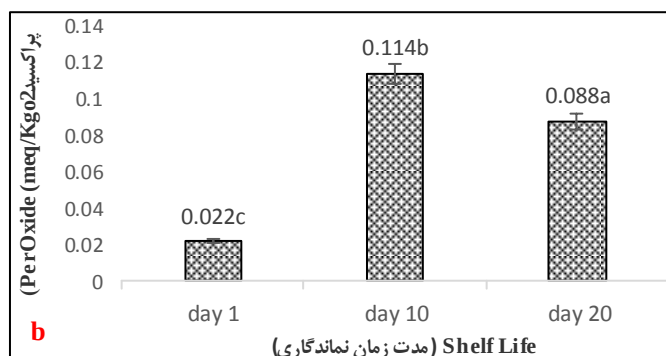
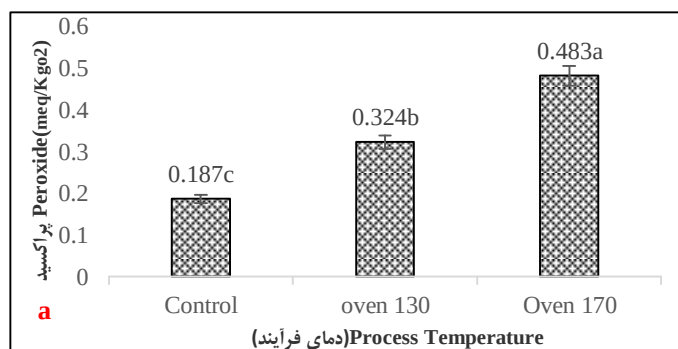
شکل ۱- بررسی روند تغییرات اسیدیته تیمارها (a) تأثیر زمان، (b) تأثیر حرارت، (c) تأثیر متقابل حرارت × زمان  
Fig. 1- Examining changes in acidity of treatments (a) effect of time, (b) effect of heat, (c) interaction effect of heat x time

اندیس پراکسید پارامتری جهت اندازه‌گیری اکسیداسیون روغن‌ها در مراحل ابتدایی فساد اکسیداتیو است، یعنی خیلی قبل از اینکه بو و طعم نامطلوب قابل درک شده باشند. افزایش اندیس پراکسید به عنوان یک سیگنال خطر جهت پی بردن به اینکه اکسیداسیون در حال وقوع می‌باشد، در نظر گرفته می‌شود (Moure et al., 2001). کمترین میزان پراکسید در روز اول آزمون گزارش شد. اگر چه برشته کردن فعالیت لیپاز را کاهش داده و فعالیت پراکسیداز را تسهیل می‌کند، اما استرازاها در برابر حرارت پایدار هستند و ممکن است حتی پس از برشته شدن نیز فعال باشند (Özdemir and Devres, 2000). گیراردلو (Ghirardello et al., 2017)، افزایش میزان اندیس پراکسید در دانه‌های فندق برشته شده در طول زمان نگهداری را نشان دادند. همچنین الجحیمی (Al Juhaimi et al., 2018) نیز

در تمامی تیمارهای این تحقیق میزان عدد پراکسید کمتر از حد مذکور بود. روند تغییرات پراکسید تیمارها، طی ۲۰ روز مدت زمان نگهداری، افزایش میزان پراکسید طی ۱۰ روز (از ۰/۰۲۲٪ در روز اول به ۰/۱۱۴٪ در روز ۱۰) را نشان داد ( $p < 0.05$ ). اما از روز ۱۰ تا پایان زمان آزمایش روند کاهشی معنادار در میان پراکسید تیمارها مشاهده شد (کاهش از ۰/۱۱۴٪ به ۰/۰۸۸٪ در روز ۲۰) ( $p < 0.05$ ). پراکسیدها محصولات اولیه اتواکسیداسیون هستند و بعنوان شاخصی برای تعیین کیفیت و پایداری روغن‌ها محسوب می‌شوند. به این ترتیب که در ابتدا میزان پراکسیدها در روغن افزایش می‌یابد تا به حد بیشینه‌ای برسد، سپس این مقدار کاهش پیدا کرده زیرا این ترکیبات به محصولات دوم اتواکسیداسیون مثل آلدئیدها، کتون‌ها و دی‌ان‌های مزدوج تبدیل می‌شوند. این فرآورده‌ها (محصولات دوم اتواکسیداسیون) مسئول عطر و طعم تند در روغن هستند. بنابراین

به افزایش اکسیداسیون می‌شود اما پراکسیدازها در برابر حرارت پایدار نیستند و با افزایش دما تجزیه می‌شوند (Das et al., 2014). الجحیمی (Al Juhaimi et al., 2018) شکستن پراکسیدها در مدت زمان نگهداری گردهای برشته شده به دو روش میکروویو و آون را نشان دادند.

روند افزایشی عدد پراکسید در دو نمونه روغن فندق در طول مدت زمان نگهداری نشان دادند. نتایج تأثیر متقابل مدت زمان نگهداری و حرارت فرآیند برشته کردن بر پارامتر پراکسید از روز اول تا روز ۱۰ روند افزایشی معنادار و در روز ۲۰ روند کاهشی در عدد پراکسید تیمارها را نشان داد ( $p < 0.05$ ). بالاترین میزان پراکسید مربوط به تیمار برشته شده با آون با دمای ۱۷۰ درجه سانتی‌گراد در روز ۱۰ آزمایش بود. کاهش فعالیت آبی به دلیل فرآیند برشته کردن نیز منجر



شکل ۲- بررسی روند تغییرات پراکسید تیمارها (a) تأثیر زمان، (b) تأثیر حرارت، (c) تأثیر متقابل حرارت × زمان

Fig. 2- Examining changes in peroxide of treatments (a) effect of time, (b) effect of heat, (c) interaction effect of heat x time

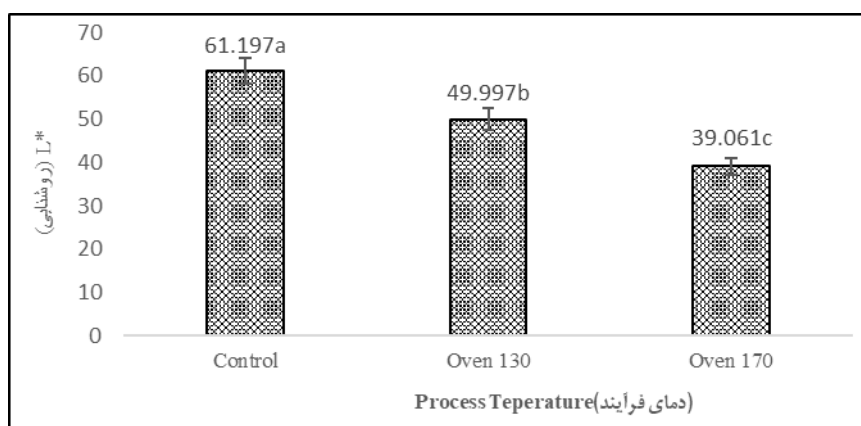
پارامتر به هر حال ذهنی است و انتخاب زمان مناسب برشته کردن فقط بر اساس این روش می‌تواند منجر به نقص طعم شود، بنابراین، دمای فرآیند برشته کردن از مهم‌ترین فاکتورهای موثر بر کیفیت دانه‌های برشته شده است (Donno et al., 2013).

**شاخص روشنایی (L\*) تیمارها:** مولفه L\* نشان دهنده میزان روشنایی نمونه‌ها بوده و دامنه آن از صفر (سیاه خالص) تا ۱۰۰ (سفید خالص) متغیر است. با افزایش دما از ۱۳۰ تا ۱۷۰ درجه سانتی‌گراد،

**بررسی رنگ سنجی تیمارها:** از جمله پارامترهای کیفیتی ماده غذایی، رنگ آن است که از طرف مصرف کننده برای قبول یا رد یک ماده غذایی به رنگ آن توجه می‌کند. قهوه‌ای شدن رنگ محصولات برشته شده مطلوب است. تغییر رنگ حین فرآیند برشته شدن دانه فندق بطور عمده مربوط به قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی است. رنگدانه های قهوه‌ای با پیشرفت واکنش‌های قهوه‌ای شدن افزایش می‌یابد. کنترل کیفیت محصولات بو داده بر اساس مشاهدات بصری است که توسط یک اپراتور برای تعیین سطح برشته شدن انجام می‌شود. این

یابد. از طرفی کاهش میزان رطوبت خمیر در طی فرآیند برشته کردن باعث تغییر قابلیت انعکاس نور شده و در نتیجه باعث تغییر رنگ فندق می‌شود (Bagheri et al., 2016). کهیاوغلو و همکاران (Kahyaoglu et al., 2006) نشان دادند که دما و زمان برشته کردن بر مولفه  $L^*$  دانه کنجد تأثیر داشت. آن‌ها کاهش مولفه  $L^*$  را به دلیل پایین بودن رطوبت و گزارش کردند. چانگ و همکاران (Chung et al., 2011)، کاهش میزان روشنایی در طول فرآیند برشته شدن دانه‌های ذرت را نشان دادند و علت آن را به دلیل انجام واکنش‌های شیمیایی غیر آنزیمی در طول فرآیند برشته شدن گزارش کردند.

کاهش چشمگیری در روشنایی تیمارها (شکل ۳) مشاهده شد و میزان روشنایی از ۴۹/۹۹ به ۳۹/۰۶ کاهش یافت. بیشترین شاخص روشنایی مربوط به تیمار شاهد بود. کمترین میزان شاخص روشنایی (تیره‌ترین) مربوط به تیمار برشته شده با آون با دمای ۱۷۰ درجه سانتی‌گراد بود. کاهش شاخص روشنایی احتمالاً به دلیل تشکیل پیگمان‌های قهوه‌ای در طول واکنش قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی در فرآیند برشته کردن است. قندها و آمینو اسیدهای موجود در فندق در واکنش میلارد در طول فرآیند برشته کردن، شرکت می‌کنند. بنابراین مقدار ترکیبات قهوه‌ای متناسب با افزایش دمای فرآیند در خمیر فندق افزایش می‌یابد.



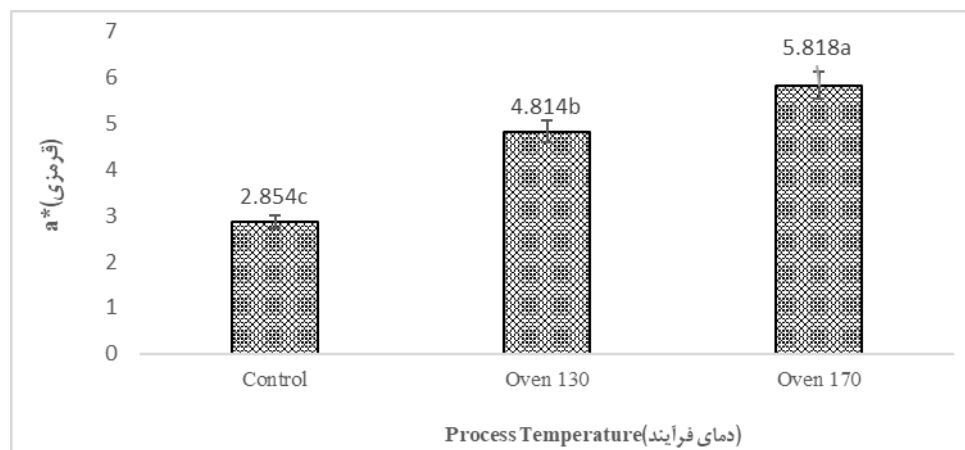
شکل ۳- نتایج تأثیر دما بر شاخص روشنایی ( $L^*$ ) تیمارها

Fig. 3- The results of the effect of temperature on the lightness value ( $L^*$ ) of the treatments

را طی فرآیند برشته کردن نشان داد و علت آن را افزایش سرعت تشکیل رنگدانه‌های قهوه‌ای در واکنش میلارد بیان کردند.

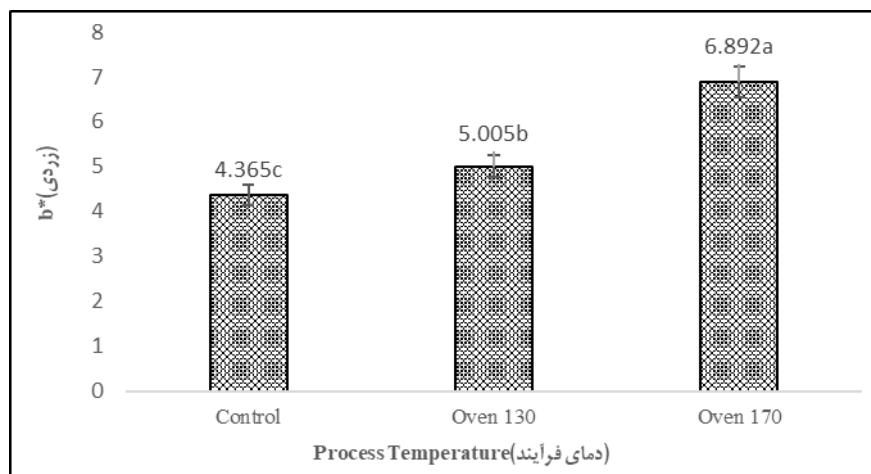
**شاخص زردی ( $b^*$ ) تیمارها:** مثبت بودن مولفه  $b^*$  (شاخص زرد- آبی) نشان دهنده زرد بودن نمونه است. اختلاف معنادار شاخص زردی در دماهای مختلف برشته کردن در شکل ۵ گزارش شد ( $p < 0.05$ ). با افزایش دما از ۱۳۰ تا ۱۷۰ درجه سانتی‌گراد، و میزان زردی از ۵/۰۰ به ۶/۸۹ افزایش یافت. بیشترین شاخص زردی مربوط به تیمار برشته شده با آون در دمای ۱۷۰ درجه سانتی‌گراد بود. افزایش مقادیر  $b^*$  با افزایش دما و زمان برشته شدن ممکن است به دلیل اکسیداسیون حرارتی پلی‌فنول‌ها و همچنین تشکیل محصولات میلارد به دلیل واکنش‌های قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی باشد (Bagheri et al., 2016). یهه و همکاران (Yeh et al., 2002) افزایش شاخص زردی کره بادام را طی فرآیند برشته کردن و سه ماه ماندگاری با افزایش دمای فرآیند برشته شدن نشان دادند. کهیاوغلو و همکاران (Kahyaoglu et al., 2006) نیز افزایش مولفه  $b^*$  با افزایش دمای برشته کردن دانه کنجد را نشان دادند.

**شاخص قرمزی ( $a^*$ ) تیمارها:** شاخص  $a^*$  (قرمزی- سبزی) در صورت مثبت بودن نشانگر شدت قرمزی بیش‌تر نمونه است. افزایش معنادار شدت قرمزی با افزایش دمای برشته کردن در شکل ۴ گزارش شد ( $p < 0.05$ ). با افزایش دما از ۱۳۰ تا ۱۷۰ درجه سانتی‌گراد، میزان قرمزی از ۴/۸۱ به ۵/۸۱ افزایش یافت. بیشترین شاخص قرمزی مربوط به تیمار برشته شده با آون در دمای ۱۷۰ درجه سانتی‌گراد بود. کمترین مقدار در تیمار شاهد گزارش شد. افزایش میزان مولفه  $a^*$  احتمالاً مربوط به ترکیبات حاصل از واکنش‌های قهوه‌ای شدن میلارد، کاراملیزاسیون و همچنین تخریب فسفولیپیدها می‌باشد. این بدان معناست که با افزایش دما میزان قرمزی تیمارها افزایش می‌یابد (Bagheri et al., 2016; Kahyaoglu et al., 2006). بریج و همکاران (Birch et al., 2010)، افزایش شاخص قرمزی در طول فرآیند برشته کردن ماکادمیا (فندق استرالیایی) را نشان دادند. اوزدمیر و همکاران (Özdemir et al., 2001)، نیز افزایش شاخص قرمزی در حین برشته کردن دانه‌های فندق خرد شده



شکل ۴- نتایج تأثیر دما بر شاخص قرمزی (a\*) تیمارها

Fig. 4- The results of the effect of temperature on the redness value (a\*) of the treatments



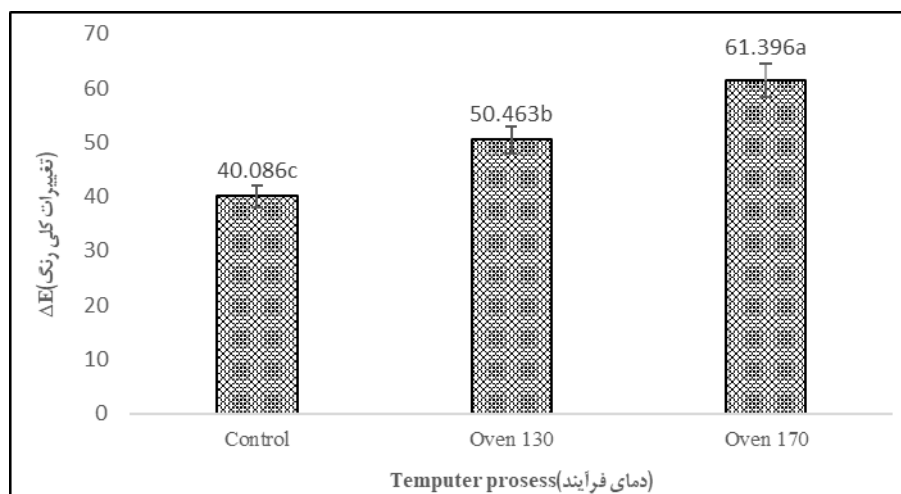
شکل ۵- نتایج تأثیر دما بر شاخص زردی (b\*) تیمارها

Fig. 5- The results of the effect of temperature on the yellowness value (b\*) of the treatments

غیرآنزیمی از واکنش میان گروه‌های آمین آزاد پروتئین و گروه هیدروکسیل گلوکوزیدی قندهای احیا کننده یا ترکیبات کربنیلی مثل آلدهیدها و کتون‌ها صورت می‌گیرد؛ در طی فرایند برشته کردن مقدار ترکیبات آمینی و هیدروکسیلی زیاد شده و در نتیجه سرعت انجام واکنش‌های قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی افزایش می‌یابد (Ozdemir and Devres, 2000). بطور کلی در دماهای بالای ۱۰۰ °C عمدتاً مربوط به واکنش‌های غیرآنزیمی قهوه‌ای شدن است. چرا که در چنین دمای (۲۲۰-۱۱۰ درجه سانتی‌گراد) بیشتر آنزیم‌های مواد غذایی غیر فعال می‌شوند (Moss and Otten, 1989). چانگ و همکاران (Chung et al., 2014) افزایش شدت تغییرات رنگ را با افزایش دما و زمان برشته شدن در دانه‌های ذرت نشان دادند.

**تغییرات کلی رنگ ( $\Delta E$ ) تیمارها:** مقدار  $\Delta E$  نشان دهنده تفاوت کلی پارامترهای رنگی اندازه‌گیری شده رنگ بین نمونه خام و نمونه برشته شده است و می‌توان از آن به عنوان یک شاخص اصلی برای بررسی تغییرات رنگ در طی فرایند برشته کردن استفاده نمود (Chung et al., 2011). شکل ۶ نتایج تغییرات کلی رنگ افزایش تغییرات با افزایش دمای برشته شدن نشان داده است. با افزایش دما از ۱۳۰ تا ۱۷۰ درجه سانتی‌گراد، تغییرات کلی رنگ از ۵۰/۴۶۳ به ۶۱/۳۹۶ افزایش یافت. بیشترین تغییرات رنگی مربوط به تیمارهای برشته شده با آن در دمای ۱۷۰ درجه سانتی‌گراد بود. کمترین مقدار در تیمار شاهد گزارش شد. افزایش مقدار  $\Delta E$  در طی فرایند برشته شدن ناشی از توسعه واکنش‌های قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی در طی فرایند برشته کردن می‌باشد. شروع واکنش‌های قهوه‌ای شدن





شکل ۶- نتایج تأثیر دما بر تغییرات کلی رنگ (ΔE) تیمارها

Fig. 6- The results of the effect of temperature on the General color changes (ΔE) of the treatments

## نتیجه گیری

برشته کردن از جمله روش‌های بهبود طعم و رنگ مغزهای آجیل است. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان گفت با افزایش دما بسیاری از پارامترهای رنگی تغییر می‌کنند و تعدیل تغییرات رنگ خمیر فندق به شکل مطلوب، با مدیریت دمای برشته کردن وجود دارد. کاهش مولفه  $L^*$  و افزایش مولفه‌های  $a^*$  و  $b^*$  با افزایش فرآیند حرارت‌دهی بر تیمارها گزارش شد، در حالیکه مدت زمان نگهداری طی ۲۰ روز تأثیر معناداری بر این مولفه‌ها نشان نداد. از طرفی افزایش معناداری در اسیدیته در حین برشته کردن دیده شد که نشان دهنده افزایش اکسیداسیون و تشکیل بیشتر رادیکال آزاد از

## منابع

- Alamprese, C., Ratti, S., & Rossi, M. (2009). Effects of roasting conditions on hazelnut characteristics in a two-step process. *Journal of Food Engineering*, 95(2), 272-279. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.05.001>.
- Al Juhaime, F.A., Özcan, M.M., Uslu, N., & Doğu, S. (2017). Pecan walnut (*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch) oil quality and phenolic compounds as affected by microwave and conventional roasting. *Journal of Food Science and Technology*, 54, 4436-4441. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2921-0>.
- Bagheri, H., Kashaninejad, M., Ziaifar, A.M., & Aalami, M. (2016). Novel hybridized infrared-hot air method for roasting of peanut kernels. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 37, 106-114. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.08.014>.
- Belcadi-Haloui, R., Zekhnini, A., El-Alem, Y., & Hatimi, A. (2018). Effects of roasting temperature and time on the chemical composition of argan oil. *International Journal of Food Science*. <https://doi.org/10.1155/2018/7683041>
- Binello, A., Giorgis, M., Cena, C., Cravotto, G., Rotolo, L., Oliveri, P., & Casale, M. (2018). Chemical modifications of Tonda Gentile Trilobata hazelnut and derived processing products under different infrared and hot-air roasting conditions: a combined analytical study. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(12), 4561-4569. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8984>
- Birch, J., Yap, K., & Silcock, P. (2010). Compositional analysis and roasting behaviour of gevuina and macadamia nuts. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(1), 81-86. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02106.x>

تری گلیسیریدهاست. از طرف دیگر افزایش عدد پراکسید در روز اول نیز تأییدی بر اکسیداسیون ترکیبات اسیدی در خمیر فندق بوده هرچند این روند افزایش ادامه‌دار نبود که دلیل آن می‌تواند شکسته شدن پراکسیدها و تبدیل آن‌ها به محصولات ثانویه اکسیداسیون باشد که باز هم نشان دهنده روند هیدرولیز چربی‌ها در خمیر فندق خواهد بود. با توجه به نتایج تغییرات معنی‌دار در رنگ و کیفیت محصول نهایی ایجاد می‌شود که از دیدگاه مصرف کننده مطلوب نیست. بنابراین توصیه می‌شود به جهت حصول بالاترین کیفیت محصول نهایی، در حین برشته کردن فندق در دمای  $130^{\circ}\text{C}$  تجاوز نکند و فندق برشته شده حداکثر طی مدت ده روز مصرف گردد.



7. Budryn, G., & Nebesny, E. (2013). Effect of green and roasted coffee antioxidants on quality and shelf life of cookies and chocolates. *Journal of Food Processing and Preservation*, 37(5), 835-845. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2012.00710.x>
8. Chung, H.S., Kim, J.K., Moon, K.D., & Youn, K.S. (2014). Changes in color parameters of corn kernels during roasting. *Food Science and Biotechnology*, 23, 1829-1835. <https://doi.org/10.1007/s10068-014-0250-x>
9. Chung, H.S., Chung, S.K. & Youn, K.S. (2011). Effects of roasting temperature and time on bulk density, soluble solids, browning index and phenolic compounds of corn kernels. *Journal of Food Processing and Preservation*, 35(6), 832-839. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2011.00536.x>
10. Das, I., Shah, N. G., & Kumar, G. (2014). Properties of walnut influenced by short time microwave treatment for disinfestation of insect infestation. *Journal of Stored Products Research*, 59, 152-157. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2014.07.005>
11. Deheshti, A., Hojjatoleslami, M., Jahanbakhsh, N., & Shakir Ardakan, A. 2021. The effect of different roasting temperatures on the color and oxidation of pistachio oil and their kinetics. *Journal of Food Industry Engineering Research*, 19(1), 104-91. (In Persian). <https://doi.org/10.22092/FOODER.2018.121713.1144>
12. Donno, D., Beccaro, G.L., Mellano, M.G., Di PriMa, S., Cavicchioli, M., Cerutti, A.K., & Bounous, G. (2013). Setting a protocol for hazelnut roasting using sensory and colorimetric analysis: Influence of the roasting temperature on the hazelnut quality Tonda Gentile delle Langhe cv. *Czech Journal of Food Sciences*, 31(4), 390-400. <https://doi.org/10.17221/390/2012-CJFS>
13. Ghirardello, D., Contessa, C., Valentini, N., Zeppa, G., Rolle, L., Gerbi, V., & Botta, R. (2013). Effect of storage conditions on chemical and physical characteristics of hazelnut (*Corylus avellana* L.). *Postharvest Biology and Technology*, 81, 37-43. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.02.014>
14. Iranian Institute of Standards and Industrial Research. (2018). Animal and vegetable fats and oils -Determination of peroxide value -Iodometric (visual) endpoint determination. No 4179. 2<sup>st</sup>. Revision. (In Persian)
15. Iranian Institute of Standards and Industrial Research. (2019). Hazelnut Butter-Specifications and test methods. No10813. 1<sup>st</sup>. Edition. (In Persian)
16. Kahyaoglu, T., & Kaya, S. (2006). Modeling of moisture, color and texture changes in sesame seeds during the conventional roasting. *Journal of Food Engineering*, 75(2), 167-177. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.04.011>
17. Król, K., Gantner, M., & Piotrowska, A. (2019). Morphological traits, kernel composition and sensory evaluation of hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars grown in Poland. *Agronomy*, 9(11), 703. <https://doi.org/10.3390/agronomy9110703>
18. Król, K., & Gantner, M. (2020). Morphological traits and chemical composition of hazelnut from different geographical origins: A review. *Agriculture*, 10(9), 375. <https://doi.org/10.3390/agriculture10090375>
19. Lamberti, C., Nebbia, S., Antoniazzi, S., Cirrincione, S., Marengo, E., Manfredi, M., & Cavallarin, L. (2021). Effect of hot air and infrared roasting on hazelnut allergenicity. *Food Chemistry*, 342, 128174. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128174>
20. Moss, J.R., & Otten, L. (1989). A relationship between colour development and moisture content during roasting of peanuts. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 22(1), 34-39. [https://doi.org/10.1016/S0315-5463\(89\)70298-4](https://doi.org/10.1016/S0315-5463(89)70298-4)
21. Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Domínguez, J. M., Sineiro, J., Domínguez, H., & Parajó, J.C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72(2), 145-171. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00223-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00223-5)
22. Özdemir, M., & Devres, O. (2000). Analysis of color development during roasting of hazelnuts using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 45(1), 17-24. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(00\)00036-4](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(00)00036-4)
23. Özdemir, M., Açıktur, F., Yildiz, M., Biringen, G., Gürçan, T., & Löker, M. (2001). Effect of roasting on some nutrients of hazelnuts (*Corylus avellana* L.). *Food Chemistry*, 73(2), 185-190. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00260-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00260-0)
24. Radfer, R., & Fatemi, H. (2003). Investigation of suitable roasting conditions to prevent oxidation of hazelnut and peanut oil. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*, 34(1), 205-199. (In Persian)
25. Sarica, E., Kiralan, M., & Eren, Ö. (2021). Impact of roasting on oxidation characteristics of less well-known hazelnut cultivar: Turkish hazelnut (*Corylus colurna*). *RIVISTA ITALIANA DELLE SOSTANZE GRASSE*, 98(2), 115-124.
26. Soleimanieh, S.M., Eshaghi, M., & Vanak, Z.P. (2015). The effect of roasting method and conditions on physic chemicals and sensory properties of sunflower seed kernels. *Int Journal Bioscience*, 6, 7-17. <http://doi.org/10.12692/ijb/6.7.7-17>

27. Tepe, Y., Çebi, A., & Aydin, H. (2020). Acrylamide content and color formation of hazelnuts roasted at different processing temperatures and times. *European Food Research and Technology*, 246, 1543-1549. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03508-w>
28. Yeh, J.Y., Phillips, R.D., Resurreccion, A.V., & Hung, Y.C. (2002). Physicochemical and sensory characteristic changes in fortified peanut spreads after 3 months of storage at different temperatures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(8), 2377-2384. <https://doi.org/10.1021/jf011258r>
29. Yousefi, Z., Rezaeigolestani, M., & Moghtader, G.J. (2021). Effect of Processing Temperature on Storage Quality of In-Shell Hazelnut. *Journal of Food Quality and Hazards Control*, <https://doi.org/10.18502/jfqhc.8.1.5459>



## Effect of Tragacanth Gum and Wheat Starch as a Substitute for Gelatin on Rheological, Physical and Sensory Properties of Dairy Dessert

F. Yousafzadeh<sup>1</sup>-M. Taghizadeh<sup>2\*</sup>

Received: 2021.12.10

Revised: 2022.04.14

Accepted: 2022.04.30

Available Online: 2022.05.15

### How to cite this article:

Yousefzadeh, F., & Taghizadeh, M. (2023). Effect of tragacanth gum and wheat starch as a substitute for gelatin on rheological, physical and sensory properties of dairy dessert. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 19(2), 291-309. (In Persian with English abstract). <http://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.74110.1120>

### Introduction

The consumption of milk and its products is considered as a main indicators of development of human societies. In order to promote the health of children and provide the sufficient amount of calcium and nutrients and make the consumption of these products attractive. Necessary measures should be taken to increase milk consumption in society and increase the diversity of these products (Keshtkaran *et al.*, 2013). Gelatin as one of the gelling agents used in dairy desserts is a hydrocolloid with unique functional properties and has been used in various industries for a long time (Karim & Bhat, 2008). Gelatin is extracted from the partial hydrolysis of skin collagen, white connective tissue, and animal bones. One of the problems with using gelatin in dairy desserts is the instability at ambient temperature. Therefore, it is necessary to evaluate the characteristics of other native hydrocolloids as an alternative. Tragacanth is a dried gum secreted from several plant species and Iran is the largest exporter in the world. Structurally, the material is regular, odorless and hard. It can be used in various food products. The simultaneous utilization of hydrocolloid mixtures is used to create a synergistic property and to improve these products. Starch originated from a variety of sources, including corn, rice, wheat, potatoes, cassava, bananas, and sorghum (Murphy, 2000) is used in the food industry. Among the sources of starch production, wheat is cultivated in large quantities in Iran.

### Materials and Methods

In this study, pasteurized milk was purchased from Salamat Dairy Products Company, gelatin made in Pakistan, tragacanth gum and Gonabad wheat starch were purchased from Kian Shimi Company and sugar and vanilla were purchased from confectionery stores located in Mashhad. Ingredients for dessert production include 80% milk, 10% sugar, 0.1% vanilla, tragacanth gum at concentrations of 1.3%, 1%, and 0.7% and starch at concentrations of 3%, 2%, and 1% by weight (powder selection) according to the method of Tarrega *et al.* 2004 with a slight modification. A sample containing 1.5% gelatin was considered as a control sample. The mixture was heated to 90 °C for 20 minutes, stirring at medium speed. The samples were then placed in special containers and cooled to ambient temperature. Prior to testing, the samples were refrigerated (4-5 °C) for 24 hours. The samples were coded based on the concentration of gum and starch (: T% of tragacanth gum and: S% of wheat starch).

### Results and Discussion

The flow behavior in all dairy dessert samples was similar to the control and was pseudoplastic type. The Power model was selected as the best model ( $R < 98$ ,  $RMSE > 1.6$ ). As the concentrations of tragacanth gum and wheat starch increased, the parameters of hardness, consistency, adhesion and adhesion strength increased significantly, and the samples 0.7T2S, 0.7T3S and 1T, 1S had the same value in terms of all textural parameters. At constant concentration of starch, with increasing tragacanth gum from 0.7% to 1.3%, the rate of syneresis of samples decreased from 0.34% to

1 and 2- M.Sc. and Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Iran, respectively.

(\*- Corresponding Author Email: [mtaghizadeh@um.ac.ir](mailto:mtaghizadeh@um.ac.ir))

DOI: [10.22067/ifstrj.2022.74110.1120](http://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.74110.1120)

0.06% and at constant concentration of gum, with increasing concentration of wheat starch, Syneresis decreased significantly from 0.34 to 0.24%. Increasing the shelf life of the samples naturally led to an increase in syneresis. In the samples 0.7T3S, 1T3S, 1T2S, and 1.3T3S, the increase of syneresis occurred to a lesser extent.. According to the results of analysis of variance, the effect of gum on zeta potential was very significant ( $p < 0.05$ ). Increasing the concentration of hydrocolloids in most samples led to an increase in the amount of negative charge and zeta potential. In most samples, at a constant concentration of tragacanth gum, with increasing the concentration of wheat starch from 1% to 3%, the span decreased, while at a constant concentration of starch, the increase in tragacanth gum from 0.7% to 1.3% led to increase the span. Among the dairy dessert samples, 5 dairy dessert samples include: 0.7T2S, 0.7T3S, 0.7T1S, 1T2S and 1.3T1S, were selected the best in terms of physical and rheological characteristics to the control sample. They were more similar, selected and used for sensory evaluation. The results of comparing the mean of the data showed that different concentrations of tragacanth gum and wheat starch had a significant effect on the sensory characteristics of the samples including: color, flavor, sweetness, adhesion, gum state and overall acceptance ( $P > 0.05$ ) and increasing the concentration of tragacanth gum and wheat starch had no significant effect on other sensory properties ( $p > 0.05$ ).

## Conclusion

In general, due to the similarities of the physical, rheological and sensory properties of the treatment samples with the control, 1S1T sample was selected as the most suitable sample to replace the sample containing gelatin.

**Keywords:** Dairy dessert, Rheological properties, Physicochemical properties, Tragacanth

## مقاله پژوهشی

# اثر صمغ کتیرا و نشاسته گندم به عنوان جایگزین ژلاتین بر خصوصیات رئولوژیکی، فیزیکی و حسی دسر لبنی

فاطمه یوسف زاده<sup>۱</sup> - مسعود تقی زاده<sup>۲\*</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۱۹

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۱/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۱۰

## چکیده

در این پژوهش، اثر سطوح جایگزینی صمغ کتیرا (۰/۷، ۱ و ۱/۳٪) و نشاسته گندم (۱، ۲ و ۳٪) به عنوان جایگزین ژلاتین بر خصوصیات رئولوژیکی، فیزیکی و حسی دسر لبنی ارزیابی شد. آزمون‌های رئولوژیکی شامل ویسکومتری و بافت‌سنجی، آزمون‌های فیزیکی شامل سینرسیس، پتانسیل زتا و توزیع اندازه ذرات و آزمون حسی به روش ارزیابی حسی توصیفی انجام شد. نتایج داده‌های رئولوژیکی نشان داد همه نمونه‌ها رفتار شل شونده با برش داشتند. در توصیف رفتار جریان مستقل از زمان نمونه‌ها مدل قانون توان به عنوان بهترین مدل انتخاب شد ( $R^2 > 0.98$ ,  $RMSE < 1/6$ ). با توجه به نتایج حاصل از آزمون بافتی، مقدار سختی در نمونه دارای ۰/۷٪ صمغ کتیرا و ۳٪ نشاسته گندم به میزان ۳۹۷/۵۵ گرم نزدیک‌ترین مقدار به نمونه شاهد (میزان سختی حدود ۴۰۴/۵ گرم) گزارش شد. میزان چسبندگی در نمونه شاهد حاوی ۱/۵٪ ژلاتین، ۴/۶۵ میلی ژول بود که با مقدار چسبندگی در نمونه حاوی ۱٪ صمغ کتیرا و ۱٪ نشاسته گندم (۴/۰۵ میلی ژول) تقریباً مشابه می‌باشد. سینرسیس در نمونه‌ها با افزایش میزان صمغ و نشاسته کاهش یافت و پس از ۱۴ روز نگهداری در یخچال، افزایش یافت. در بین نمونه‌ها، به ترتیب نمونه‌های ۰/۷٪ صمغ کتیرا و ۳٪ نشاسته، ۱٪ صمغ کتیرا و ۱٪ نشاسته و ۰/۷٪ صمغ کتیرا و ۲٪ نشاسته از نظر ویژگی‌های حسی به نمونه شاهد، شباهت داشتند. با بررسی نتایج خصوصیات رئولوژیکی، فیزیکی و حسی تمام نمونه‌ها و مقایسه آن‌ها با نمونه شاهد، مشاهده شد که نتایج نمونه حاوی ۱٪ صمغ کتیرا و ۱٪ نشاسته در اکثر آزمون‌های اندازه‌گیری شده، شباهت بیشتری به نمونه شاهد داشت.

**واژه‌های کلیدی:** خصوصیات رئولوژیکی، دسر لبنی، ژلاتین، صمغ کتیرا

## مقدمه

می‌دهد که فراورده‌های لبنی تأثیر قطعی در حفظ سلامت، بقا و طول عمر دارند (Kahani et al., 2007). طی سال‌های اخیر تلاش‌های زیادی چه از طرف بخش صنعت و چه از طرف سازمان‌های متولی بهداشت و سلامت جامعه در جهت افزایش سطح آگاهی مصرف‌کنندگان در خصوص مصرف شیر و فراورده‌های لبنی صورت گرفته است، از طرف دیگر به منظور ارتقای سلامت کودکان و تامین کلسیم و مواد مغذی مورد نیاز بدن آن‌ها و پیشگیری از اثرات مخرب بیماری پوکی استخوان در بزرگسالی و ایجاد جذابیت در مصرف این محصولات، نیاز به تدابیر لازم جهت افزایش مصرف شیر در جامعه و افزایش تنوع در این محصولات است (Keshtkaran, )

امروزه مصرف شیر و فراورده‌های آن به عنوان یکی از شاخص‌های توسعه جوامع انسانی مطرح است. تحقیقات مستمر در مورد مصرف فراورده‌های لبنی نشان می‌دهد که همبستگی بالایی بین مصرف این فراورده‌ها و سطح سلامتی افراد جامعه به لحاظ کارایی و ضریب هوشی وجود دارد. شواهد کافی و قانع کننده نشان

۱ و ۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران  
(\*) نویسنده مسئول: Email: mtaghizadeh@um.ac.ir

مواد غذایی به منظور بهبود ویسکوزیته، پایداری و بافت مواد غذایی کاربرد دارد. تاکنون تحقیقات فراوانی بررسی اثر هیدروکلوئیدها بر فراورده‌های لبنی مختلف را مورد ارزیابی قرار دادند. کشتکاران و همکاران اثر دو نوع مختلف صمغ کتیرا، گونه *Astragalus rahensis* و *Astragalus gossypinus* را بر خصوصیات فیزیکی و رئولوژیکی نوعی نوشیدنی شیری بررسی نمودند (Keshtkaran et al., 2013). ارزیابی داده‌های حسی و رئولوژیکی و دستگاهی نشان دادند که با استفاده از نوع و غلظت مناسب صمغ کتیرا در نوشیدنی شیری می‌توان بافت و احساس دهانی مطلوب را ایجاد نمود. در تولید نوشیدنی بر پایه صمغ طبیعی کتیرا بهترین میزان و نوع صمغ، صمغ کتیرا گونه *Astragalus gossypinus* و غلظت ۰/۲٪ گزارش نمودند. گل محمدی و همکاران تاثیر افزودن صمغ‌های قدومه شیرازی و کتیرا را روی سینرسیس سس کچاپ با هدف بهبود کیفیت ارزیابی نمودند. در این پژوهش دو هیدروکلوئید ایرانی قدومه شیرازی و کتیرا در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد وزنی استفاده شد. سپس کچاپ‌های حاوی غلظت‌های مختلف هیدروکلوئید به لحاظ سینرسیس در زمان‌های ۲ و ۹۲ روز پس از نگهداری با نمونه کنترل مورد مقایسه قرار گرفت و تاثیر هیدروکلوئید در سینرسیس نمونه‌ها بررسی شد. طبق نتایج میزان سینرسیس نمونه‌های حاوی هیدروکلوئید کم‌تر از نمونه شاهد بود و با افزایش غلظت صمغ و زمان نگهداری مقدار سینرسیس به طور چشمگیری کاهش یافت و همچنین استفاده از این هیدروکلوئیدها به منظور کاهش آب اندازی، افزایش قوام مطلوب و بهبود خواص بافتی سس کچاپ مفید بوده است (Golmohammadi et al., 2014). با ارزیابی اثر پلی ساکاریدهای با بار یونی مختلف بر خصوصیات رئولوژیکی، ساختاری، بافت و ظرفیت نگهداری آب در ژل‌های شیری، نتایج نشان دادند که نمونه‌های حاوی صمغ زانتان و نشاسته شباهت بیشتری به نمونه حاوی ژلاتین داشتند (Pang et al., 2015). فرهمندفر و همکاران اثر صمغ دانه‌های ریحان، شاهی و به را بر خصوصیات رئولوژیکی و بافتی خامه هم زده ارزیابی کردند. افزودن صمغ و افزایش غلظت آن باعث کاهش سیالیت مواد شد که اتصال مولکول‌های هیدروکلوئید با صمغ‌ها منجر به افزایش مقاومت به جریان نمونه‌ها شد. به طور کلی نمونه‌های پرچرب سختی بیشتری داشتند که علت آن افزایش ویسکوزیته آنها نسبت به نوع کم‌چرب بود. چسبندگی نمونه‌ها نیز همانند پارامتر سختی با افزایش غلظت صمغ‌ها افزایش یافت (Farahmandfar, Asnaashari, Salahi, and Rad, 2017). پژوهشی اثر صمغ زانتان و ژلاتین اصلاح شده ماهی، بر خصوصیات رئولوژیکی ماست هم زده ارزیابی شد، نتایج نشان داد که ژلاتین اصلاح شده و صمغ زانتان یک جایگزین امیدوارکننده برای ژلاتین

(Mohammadifar, Asadi, Nejad, and Balaghi, 2013). دسرهای لبنی یکی از مشتقات فرآورده‌های لبنی و محصولات شیرینی هستند که با به کاربرد عوامل ژل‌کننده یا تثبیت‌کننده مناسب، تغلیظ می‌شوند. هدف از تولید این دسرهای لبنی، ایجاد تنوع در سبد کالای مردم، توسعه محصولات لبنی و به وجود آوردن لذت از طریق حواس است. ژلاتین به عنوان یکی از عوامل ژل‌کننده در دسرهای لبنی، هیدروکلوئیدی با خواص عملکردی منحصر به فرد است و مدت زیادی است که در صنایع مختلف کاربرد دارد (Karim and Bhat, 2008). ژلاتین از هیدرولیز جزئی کلاژن پوست، بافت همبند سفید و استخوان حیوانات استخراج می‌شود. منابع عمده ژلاتین تجاری، استخوان و پوست خوک و گاو می‌باشد که دلیل آن قیمت ارزان این منابع می‌باشد (BahramParvar, Razavi, and Khodaparast, 2010). یکی از مشکلات استفاده از ژلاتین در دسرهای لبنی عدم پایداری در دمای محیط است. به همین جهت نیاز است، ویژگی‌های سایر منابع هیدروکلوئیدی بومی کشور ارزیابی شود. کتیرا ترشحات صمغی خشک شده از چندین گونه گیاه گون است و ایران بزرگ‌ترین صادرکننده آن در جهان است. از لحاظ ساختاری ماده‌ای بدون شکل ظاهری منظم، بدون بو و سخت می‌باشد. کتیرا به سرعت در آب سرد و گرم متورم شده و رفتار سودوپلاستیک داشته و با توجه به دارا بودن ثبات نسبی آن در برابر حرارت، اسیدیته و طول مدت نگهداری می‌تواند در محصولات غذایی مختلف استفاده شود. اکثر مواقع استفاده همزمان از مخلوط هیدروکلوئیدها به جهت ایجاد خاصیت هم افزایی در جهت بهبود این محصولات به کار گرفته می‌شود. گندم یکی از پرمصرف‌ترین غلات جهان می‌باشد که سالانه بیش از ۷۱۳ میلیون تن را به خود اختصاص می‌دهد (Schrieber and Gareis, 2007). نشاسته در صنعت غذا از منابع مختلفی شامل ذرت، برنج، گندم، سیب‌زمینی، کاساوا، موز و سورگوم بدست می‌آید (Murphy, 2000). از بین منابع تولید نشاسته، گندم به مقدار زیاد در کشور ایران کشت می‌شود. میزان تولید گندم در کشور در سال ۲۰۱۹ به ۱۶ میلیون و ۸۰۰ تن رسیده است (FAO, 2020) و میزان نشاسته تولیدی در ایران به طور متوسط ۴۵۰ هزار تن در سال می‌باشد. گرانول‌های نشاسته گندم از دو پلیمر آمیلوز و آمیلوپکتین تشکیل شده‌اند که مسئول عملکردها و رفتارهای نشاسته هستند. نشاسته گندم به‌عنوان ماده اولیه در دسترس و ارزان قیمت (Dengate, 1984) در حوزه صنایع غذایی به‌عنوان قوام دهنده در سوپ‌ها، پُر کننده، بافت دهنده و نگهدارنده رطوبت در کیک‌ها و فرآورده‌های گوشتی، تشکیل ژل در ژله‌ها، پایدار کننده و جایگزین چربی در غذاهای بر پایه نشاسته به کار می‌رود (Maningat et al., 2009; 2009; Mason, 2009). نشاسته به طور وسیعی در فرمولاسیون



## آزمون‌ها

### آزمون رئولوژیکی

جهت اندازه‌گیری خصوصیات رئولوژیکی از ویسکومتر بوهلین (Bohlin Model Visco 88, Bohlin Instruments Cirencester Gloucestershire, UK) حرارتی استفاده می‌شود. اسپیندل استوانه‌ای مناسب (C30) براساس ویسکوزیته مخلوط انتخاب شد (Bahram Parvar, 2010). حجم مناسبی از هر نمونه درون کاپ (مخزن دستگاه) ریخته شد. ابتدا نمونه‌ها جهت یکنواخت شدن و تخریب ساختار تحت درجه برش (۱/س) به مدت ۵ دقیقه قرار گرفتند سپس سرعت برشی به صورت لگاریتمی در دامنه (۱/س) ۱۴-۶۰ و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به نمونه‌ها اعمال گردید. داده‌های تنش برش - درجه برش توسط مدل‌های مستقل از زمان، قانون توان (رابطه ۱) و مدل کسون (رابطه ۲) برازش شد:

$$\tau = k_p \dot{\gamma}^n \quad (1)$$

در این معادله  $k_p$  ضریب قوام قانون توان ( $\text{Pa.s}^n$ ) و  $n$  شاخص رفتار جریان است.

$$\tau^{0.5} = k_{0C} + k_C \dot{\gamma}^{0.5} \quad (2)$$

در این معادله  $k_{0C}$  ( $\text{Pa.s}^{0.5}$ ) و  $k_C$  ( $\text{Pa.s}^{0.5}$ ) ثابت‌های مدل کسون هستند. در صورتی که توان دوم این ثابت‌ها محاسبه شود می‌توان به ترتیب تنش تسلیم کسون ( $\tau_{0C}$  (Pa) و ویسکوزیته پلاستیک کسون ( $\eta_c$  (Pa.s) را به دست آورد.

### بافت‌سنجی

برای اندازه‌گیری خصوصیات بافتی نمونه دسر لبنی از دستگاه بافت‌سنج (Brookfield CT3-10Kg, US) استفاده شد، قبل از انجام آزمون نمونه‌ها از یخچال خارج گردیده و وزن ثابتی از نمونه مورد آزمون قرار گرفتند. در آنالیز بافت نمونه‌ها از آزمون اکستروژن پسر۱ استفاده شد، نمونه‌ها جهت انجام آزمون اکستروژن پسر۱ در ظروف پلاستیکی به قطر ۲۹ میلی‌متر و ارتفاع ۱۶ میلی‌متر ریخته و پس از خنک شدن در بندی شدند، آزمون اکستروژن پسر۱ توسط پروب استوانه‌ای با قطر ۲۵/۴ میلی‌متر با سرعت ۱ میلی‌متر بر ثانیه تا ۵۰٪ تغییر شکل انجام شد و پارامترهای سختی، قوام، چسبندگی و نیروی چسبندگی ثبت گردید.

### سینرزیس

سینرزیس (آب‌اندازی) با استفاده از روش پیشنهاد شده توسط کوگ و کندی (1998) انجام شد. برای این منظور ۱۰ گرم نمونه در

پستانداران در ماست هم زده است (Yin et al., 2021). مطالعات بسیاری در خصوص اثر سینرزیستی استفاده از صمغ‌ها در مواد غذایی مختلف، خصوصاً در دسرهای لبنی وجود دارد (Reis et al., 2011; Lazaridou et al., 2014; Toker et al., 2013). با توجه به اثر سینرزیستی هیدروکلوئیدها بر خواص ژلاتیناسیون نشاسته کاربرد ترکیب صمغ کتیرا و نشاسته گندم به عنوان جایگزین ژلاتین پیشنهاد شد. از آنجایی که تاکنون اثر صمغ کتیرا و نشاسته گندم بر خصوصیات رئولوژیکی، فیزیکی و حسی دسر لبنی بررسی نشده است و به منظور استفاده از منابع قوام دهنده صمغ و نشاسته گندم که به صورت فراوان در داخل کشور وجود دارند و عدم واردات قوام‌دهنده های تجاری و ایجاد صرفه اقتصادی، اهداف کلی مطالعه حاضر ارزیابی تأثیر سطوح مختلف جایگزینی مخلوط صمغ کتیرا (۰/۷، ۱ و ۱/۳٪) و نشاسته گندم (۱، ۲ و ۳٪) بر خصوصیات رئولوژیکی، فیزیکی و حسی دسر لبنی و مقایسه آن‌ها با دسر لبنی حاوی ژلاتین می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

در این پژوهش شیر پاستوریزه از شرکت فراورده‌های لبنی سلامت، ژلاتین ساخت پاکستان، صمغ کتیرا (شامل کل بخش محلول و نامحلول) و نشاسته گندم از شرکت کیان شیمی و شکر و وانیل از فروشگاه‌های لوازم قنادی واقع در مشهد خریداری شد. نمونه‌های دسر لبنی بر مبنای فرمولاسیون دسرهای لبنی تجاری با اندکی تغییرات در اثر مخلوط کردن ذرات جامد شکر، وانیل، صمغ کتیرا و نشاسته گندم و شیر در یک مخلوط کن پودینگ (National Mj-176 NR, japan) تهیه شدند. ترکیبات شامل ۸۰٪ شیر (۲/۵ درصد چربی)، ۱۰٪ شکر، ۱۰/۱٪ وانیل، صمغ کتیرا در غلظت‌های ۱/۳٪ و ۰/۷، ۱ و ۳٪ و نشاسته در غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ درصد وزنی\_وزنی بصورت پودری (انتخاب غلظت‌ها براساس روش تارگا و همکاران (Tarrega et al., 2004) با اندکی تغییرات) و به طور کامل جایگزین ژلاتین گردید و در انتها جهت رسیدن تا حجم ۱۰۰ سی‌سی، از آب دیونیزه استفاده شد. نمونه حاوی ۱/۵٪ ژلاتین به عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد. مخلوط (دیسپرسیون) به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد حرارت داده شد و هم زدن در این بازه با سرعت متوسط (درجه ۶) همزن صورت پذیرفت. سپس نمونه‌ها در ظروف مخصوص قرار گرفت و تا دمای محیط سرد شدند. قبل از انجام آزمایش‌ها نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در یخچال (۴-۵ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. کدگذاری نمونه‌ها بر اساس غلظت صمغ و نشاسته صورت گرفت (T: صمغ کتیرا و S: نشاسته گندم).

ارزیاب قرار گرفت. ارزیابان هر ویژگی را در خطی ۵ سانتی متری ارزیابی نمودند که به ازای هر ۰/۵ سانتی متر ۱ امتیاز داده می شود و ضعیف ترین امتیاز ۱ و شدیدترین صفت ۱۰ در نظر گرفته شد.

### طرح آزمایشی و آنالیز آماری

جهت بررسی اثر ترکیبی ۹ تیمار غلظتی و نمونه حاوی ۱/۵ ژلاتین به عنوان نمونه شاهد، صمغ کنیرا (در سطوح ۱، ۰/۷ و ۱/۳٪) و نشاسته گندم (در سطوح ۱، ۲ و ۳٪) بر خصوصیات رئولوژیکی و فیزیکوشیمیایی از طرح کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل و در ۲ تکرار استفاده شد. تجزیه و تحلیل نتایج آماری توسط آنالیز واریانس (ANOVA) صورت گرفت و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن (Duncan) در سطح احتمال ۹۵٪ با نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. تعیین همبستگی بین داده های حسی و دستگاهی توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و به منظور رسم نمودارها از نرم افزار اکسل استفاده شد. برازش مدل های رئولوژیکی با استفاده از جعبه ابزار برازش نرم افزار متلب (نسخه ۲۰۱۷a) انجام شد و بهترین مدل ها بر اساس حداقل مقدار خطای جذر میانگین مربعات (RMSE) و حداکثر ضریب تعیین ( $R^2$ ) انتخاب شدند.

### نتایج و بحث

#### بررسی خصوصیات رئولوژیکی مستقل از زمان

ویسکوزیته یکی از پارامترهای مهم و تاثیرگذار در ارزیابی محصولاتی نظیر دسرها به شمار می رود، همچنین در تعیین فرمولاسیون مناسب و محاسبه فرایندهایی نظیر پمپ کردن و حرارت دهی اهمیت بسیاری دارد (Sahin and Ozdemir, 2004). رفتار جریان نمونه های دسر در شکل ۱ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می شود ویسکوزیته ظاهری در همه نمونه ها با افزایش درجه برش در دامنه ( $10^{-1}$  تا  $10^{-4}$ ) کاهش یافته است، که نشان دهنده رفتار شل شونده با برش در نمونه ها می باشد. افزایش ویسکوزیته ظاهری در درجه برش های پایین به علت توزیع نامنظم مولکولی و برهمکنش بین مولکول ها می باشد. با افزایش درجه برش آرایش مولکول ها به یکدیگر شبیه و منظم تر می شود و به دلیل کاهش اصطکاک و برهمکنش بین مولکول ها ویسکوزیته ظاهری با افزایش درجه برش کاهش می یابد (Javidi and Razavi., 2012). از آن جا که بیشترین اتصالات مولکولی در ابتدای اعمال درجه برش شکسته می شوند کاهش ویسکوزیته ظاهری در شروع آزمون شدیدتر بوده و به تدریج کاهش یافته تا جایی که تقریباً ثابت می گردد (Javidi and Razavi., 2016). در شکل ۱ مشاهده می شود که شبیه ترین منحنی ها از نظر ویسکوزیته ظاهری با نمونه شاهد مربوط

لوله های سانتی فوژ قرار داده شد و با سرعت ۵۷۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه و با دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتی فوژ شدند. مقدار سوپرناتانت به دست آمده وزن و به عنوان سینرزیس بیان گردید.

### اندازه گیری پتانسیل زتا و توزیع اندازه ذرات

آنالیز پتانسیل زتا امکان درک شکل گیری و پایداری کلوئیدهای تشکیل شده توسط برهمکنش های الکترواستاتیکی بین پروتئین ها و پلی ساکاریدها با بار مخالف را فراهم می کند. پتانسیل زتا در نمونه های دسر لبنی با استفاده از دستگاه اندازه گیری پتانسیل زتا (CAD, Zeta Compact-France) و توزیع اندازه ذرات دسر لبنی با استفاده از روش انکسار نور لیزر با کمک دستگاه آنالیز اندازه ذرات (cordouan, vasco3, france) تعیین شد. ابتدا ۰/۲ گرم از نمونه دسر لبنی توسط آب مقطر درون لوله آزمایش رقیق و سپس برای همگن شدن توسط اولتراسوند با شدت ۲۰ کیلوهرتز به مدت ۲ دقیقه اولتراسوند شد (Torres et al., 2010). سپس ذرات دسر لبنی با غلظت ۰/۰۱ که غلظت مناسب برای دستگاه است، به درون مخزن آب دستگاه انکسار نور لیزر وارد شد. امولسیون دسر لبنی موجود در مخزن به طور مداوم توسط دستگاه به هم زده شد تا از یکنواختی آن اطمینان حاصل گردد. پس از این مرحله نمونه به داخل محفظه لیزر منتقل شد، سپس پتانسیل زتا و توزیع اندازه ذرات آن تعیین گردید.

(۳) اسپان<sup>۱</sup> (شاخص پراکندگی ذرات)

$$\text{span} = \frac{d(v,90) - d(v,10)}{d(v,50)}$$

$d(v,10)$  و  $d(v,50)$  و  $d(v,90)$  به ترتیب قطرهای در ۱۰، ۵۰ و

۹۰ درصد منحنی تجمعی است.

### ارزیابی حسی

به منظور مقایسه کیفیت دسر لبنی تولید شده بر پایه نشاسته و صمغ کنیرا و مقایسه آن با سایر نمونه های دسر لبنی تولید شده در صنعت لبنیات از روش ارزیابی حسی توصیفی استفاده شد. ارزیابی حسی طی چند مرحله در آزمایشگاه و مرکز پیشرفته ارزیابی حسی و شناختی مواد غذایی واقع در دانشگاه فردوسی انجام شد. طی دو جلسه آموزشی ۲ ساعته، تعداد ۱۰ نفر شامل ۵ آقا و ۵ خانم در رده سنی ۲۰-۳۰ سال، ۱۰ ویژگی حسی را که مطابق با نظرات برای نمونه های دسر لبنی تعریف شده، مورد بررسی قرار دادند. تعاریف ارائه شده به ارزیاب ها در جدول ۱ آورده شده است. به طور معمول نمونه ها به صورت تصادفی کدگذاری شدند و به همراه پرسشنامه و سایر مواد مرجع جهت امتیازدهی به ویژگی های حسی نمونه ها، در اختیار هر

به نمونه‌های 1T1S و 0.7T2S (%T): صمغ کتیرا و S: % نشاسته گندم) بود. به این ترتیب نتایج مدل‌سازی به شرح زیر ارائه شده‌است.

#### مدل قانون توان

در بین مدل‌های رئولوژیکی استفاده شده، مدل قانون توان به عنوان بهترین مدل انتخاب شد ( $R^2 > 0.98$ ,  $RMSE < 1/6$ ). پارامترهای محاسبه شده مدل قانون توان در جدول ۲ ارائه شده است. مشاهده می‌شود که شاخص رفتار جریان ( $n_p$ ) در نمونه‌های دسر لبنی از نوع رفتار جریان غیر نیوتنی و سودوپلاستیک ( $n < 1$ ) است، رفتار سودوپلاستیک در نمونه‌های مشابه دسر لبنی در پژوهش‌های

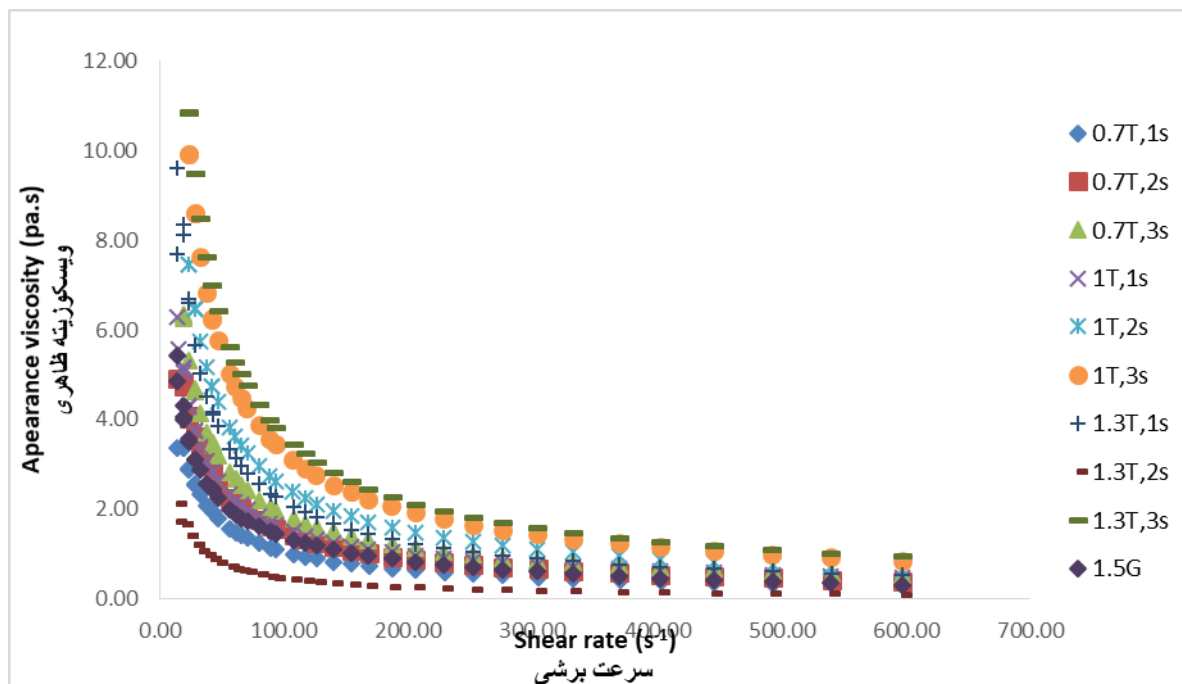
(Doublier and Durand, 2008, Tarrega et al., 2011) مشاهده شده‌است. وجود رفتار شل شونده با برش در تسهیل فرایند پمپ کردن، ایجاد بافت مناسب و احساس دهانی مطلوب در فراورده غذایی اثر مهمی دارد. محدوده شاخص رفتار جریان در نمونه‌های دسر لبنی حاوی صمغ کتیرا و نشاسته گندم بین ۰/۲۰ تا ۰/۳۶ بود. صمغ کتیرا و نشاسته گندم اثر معنی‌داری بر شاخص رفتار جریان نمونه‌ها نداشت. شاخص رفتار جریان با افزایش غلظت نشاسته به ۰/۲۰ کاهش یافت در حالی که افزایش غلظت صمغ کتیرا به طور نامنظمی موجب کاهش آن شد.

جدول ۱- تعریف پارامترهای مربوط به ارزیابی حسی برای مواد جامد و نیمه جامد

Table 1- Definition of sensory evaluation parameters for solid and semi-solid materials

| ویژگی<br>Property                            | تعریف<br>Definition                                                                                                                                                        | نمونه مرجع<br>Reference sample                   |
|----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| رنگ <sup>۱</sup> Color                       | شدت سفیدی نمونه مورد نظر نسبت به شیر<br>The intensity of whiteness of the target sample compared to milk                                                                   | شیر پاستوریزه سلامت<br>Healthy pasteurized milk  |
| عطر و طعم <sup>۲</sup> Aroma and taste       | شدت عطر و طعم وانیلی که طی مصرف دسر لبنی در دهان رهاش می‌یابد<br>The intensity of the vanilla flavor that is released in the mouth during the consumption of dairy dessert | وانیل<br>vanilla                                 |
| صافی ظاهر <sup>۳</sup> Appearance smoothness | میزان صافی مشاهده شده در سطح نمونه<br>The degree of smoothness observed on the surface of the sample                                                                       | خامه صبحانه میهن<br>Mihan breakfast cream        |
| شیرینی <sup>۴</sup> Sweetness                | شیرینی احساس شده طی مصرف دسر لبنی<br>The sweetness felt during the consumption of dairy dessert                                                                            | نمونه تجاری دسر لبنی<br>dairy dessert commercial |
| چسبندگی <sup>۵</sup> Adhesiveness            | میزان احساس چسبندگی در دسر لبنی طی مصرف<br>The degree of stickiness in dairy dessert during consumption                                                                    | پنیر خامه ای میهن<br>Mihan cream cheese          |
| حالت صمغی <sup>۶</sup> guminess              | میزان نیروی مورد نیاز برای قابلیت بلع نمونه در دهان<br>The amount of force required to be able to swallow the sample in the mouth                                          | پنیر خامه ای میهن<br>Mihan cream cheese          |
| پوشش دهانی <sup>۷</sup> mouth cover          | بیشترین میزان لایه باقی مانده از نمونه در دهان بعد از بلع<br>The maximum amount of the remaining layer of the sample in the mouth after swallowing                         | خامه صبحانه میهن<br>Mihan cream cheese           |
| سفتی <sup>۸</sup> Hardness                   | نیروی مورد نیاز برای تغییر شکل نمونه یا قاشق زنی آن<br>The force required to change the shape of the sample or spoon it                                                    | پنیر محلی رامک<br>Ramak local cheese             |
| پذیرش کلی <sup>۹</sup> General acceptance    | پذیرش نهایی نمونه دسر لبنی نسبت به انواع تجاری آن<br>The final acceptance of dairy dessert sample compared to its commercial types                                         | نمونه تجاری دسر لبنی<br>dairy dessert commercial |

- 1 Color
- 2 Aroma and taste
- 3 Appearance smoothness
- 4 Sweetness
- 5 Adhesiveness
- 6 guminess
- 7 Oral coverage
- 8 Hardness
- 9 General acceptance



شکل ۱- رفتار جریان (رابطه ویسکوزیته ظاهری با سرعت برش) نمونه‌های دسر لبنی در حضور درصدهای مختلف صمغ کتیرا و نشاسته گندم با نمونه کنترل (۱/۵ درصد ژلاتین) در دمای ثابت ۴°C، T صمغ کتیرا و S نشاسته گندم

Fig. 1- Flow behavior (relationship between apparent viscosity and cutting speed) of dairy dessert samples in the presence of different percentages of Tragacanth gum and wheat starch with the control sample (1.5% gelatin) at a constant temperature of 4°C, T of katira gum and S of wheat starch

مولکول‌های با وزن مولکولی بالا و افزایش مقاومت به جریان منجر به افزایش ضریب قوام می‌شود. ضریب قوام در نمونه شاهد ( $\text{Pa.s}^n$ ) ۴۳/۷۱ بود و با افزایش غلظت‌های صمغ کتیرا و نشاسته گندم به  $۱۶۸/۸۵ (\text{Pa.s}^n)$  افزایش یافت. در پژوهش‌های نجاتیان و همکاران (Nejatian et al., 2015)، فرضی و همکاران (Farzi et al., 2013) و آذری کیا و عباسی (Azarikia and Abbasi, 2009) نیز گزارش شد که با افزایش درصد صمغ کتیرا ضریب قوام و شاخص رفتار جریان در نمونه‌های مخلوط صمغ کتیرا و پروتئین شیر، دیسپرسیون صمغ کتیرا و دوغ به ترتیب افزایش و کاهش یافته است (Azarikia and Abbasi, 2009). رضوی و همکاران (Razavi et al., 2008) بیان کردند که با افزایش غلظت صمغ گوار از ۰/۱ به ۰/۲ درصد ضریب قوام نمونه‌های حلوا ارده کم چرب از ۱۷۹/۹ به ۲۲۲/۹ افزایش یافت (Razavi et al., 2008). کاهش شاخص رفتار جریان و افزایش ضریب قوام نیز در دیسپرسیون صمغ زانتان و نشاسته برنج با افزایش غلظت‌های صمغ و نشاسته گزارش نمودند (Kim and Yu, 2006).

می‌توان علت روند نامنظم در شاخص رفتار جریان نمونه‌ها را به ناهمگن بودن نمونه‌ها (عدم توزیع یکنواخت اندازه ذرات در دسر لبنی) در غلظت‌های مختلف مربوط دانست. توماس و همکاران (Thomas et al., 2009) مقدار شاخص رفتار جریان در نمونه‌های دسر لبنی حاوی شیر و انواع مختلف اینولین را در محدوده ۰/۲۰-۰/۴۰ گزارش کردند. مقادیر شاخص رفتار جریان کمتر نشان‌دهنده طبیعت سودوپلاستیک بیشتر است. شاخص رفتار جریان در اکثر نمونه‌ها بیشتر از نمونه شاهد بود و در نمونه‌های ۰/۷T, ۳S و ۱T, ۲S مشابه با نمونه شاهد حاوی ژلاتین بود. ضریب قوام مربوط به ویسکوزیته ماده غذایی در دامنه‌ای از درجه برش است و روند تغییرات آن نوع رفتار ویسکوزیته در مقابل درجه برش را نشان می‌دهد. با توجه به نتایج این پژوهش با افزایش غلظت‌های صمغ کتیرا و نشاسته گندم به طور معنی‌داری ضریب قوام افزایش یافت، که این افزایش روند نامنظمی را نشان می‌دهد. در بین نمونه‌ها نزدیک‌ترین مقدار به ضریب قوام نمونه شاهد مربوط به نمونه‌های ۱T, ۲S و ۱/۳T, ۱S بود. افزایش درصد صمغ و نشاسته به دلیل افزایش

جدول ۲- پارامترهای مدل قانون توان جهت توصیف رفتار جریان مستقل از زمان نمونه‌های دسر لبنی با درصدهای مختلف صمغ کتیرا و نشاسته گندم در دمای ثابت ۴°C

Table 2- Power law model parameters to describe the time-independent flow behavior of dairy dessert samples with different percentages of Tragacanth gum and wheat starch at a constant temperature of 4°C

| کد نمونه<br>Samples | غلظت<br>صمغ (%)<br>Gum<br>concentration<br>n | غلظت<br>نشاسته<br>Starch<br>(%) | $n_p$                     | kP (Pa.sn)                | R <sup>2</sup> | RMSE |
|---------------------|----------------------------------------------|---------------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------|------|
| 1.5G                | 0                                            | 0                               | 0.25 ± 0.01 <sup>BC</sup> | 43.71±5.5 <sup>E</sup>    | 0.90           | 1.81 |
| 0.7T, 1S            | 0.7                                          | 1                               | 0.29± 0.00 <sup>B</sup>   | 27.18±0.21 <sup>A</sup>   | 0.96           | 1.91 |
| 0.7T, 2S            | 0.7                                          | 2                               | 0.27 ± 0.00 <sup>BC</sup> | 39.81 ±1.71 <sup>E</sup>  | 0.98           | 1.89 |
| 0.7T, 3S            | 0.7                                          | 3                               | 0.25±0.05 <sup>BC</sup>   | 49.98 ±0.86 <sup>E</sup>  | 0.98           | 1.75 |
| 1T, 1S              | 1                                            | 1                               | 0.36 ± 0.05 <sup>A</sup>  | 41.5 ±6.85 <sup>E</sup>   | 0.96           | 1.07 |
| 1T, 2S              | 1                                            | 2                               | 0.25 ± 0.00 <sup>BC</sup> | 73.64 ±5.67 <sup>D</sup>  | 0.95           | 0.99 |
| 1T, 3S              | 1                                            | 3                               | 0.26 ± 0.01 <sup>BC</sup> | 89.26 ±6.56 <sup>C</sup>  | 0.98           | 0.93 |
| 1.3T, 1S            | 1.3                                          | 1                               | 0.22 ± 0.00 <sup>C</sup>  | 74.35 ±4.28 <sup>D</sup>  | 0.94           | 1.06 |
| 1.3T, 2S            | 1.3                                          | 2                               | 0.21±0.00 <sup>C</sup>    | 157.28 ±4.91 <sup>B</sup> | 0.94           | 2.71 |
| 1.3T, 3S            | 1.3                                          | 3                               | 0.20 ± 0.00 <sup>C</sup>  | 168.85 ±6.29 <sup>A</sup> | 0.98           | 1.86 |

Data in a column with different letters are significantly different from each other (p<0.05)

#### مدل کسون

با توجه به نتایج حاصل در جدول ۳ مشاهده می‌شود که داده‌های رئولوژیکی با مدل کسون به خوبی برازش شدند ( $R^2 > 0.90$ ). مدل کسون برای ارزیابی تنش تسلیم ( $\tau_0$ ) و ویسکوزیته پلاستیک ( $\eta_c$ ) استفاده شد. مدل کسون، مدلی ساختاری جهت بررسی رفتار رئولوژیکی مواد غذایی دارای تنش تسلیم است. طبق تعریف تنش تسلیم حداقل تنش مورد نیاز جهت جریان یافتن ماده می‌باشد و رفتار جامد مانند سیال را نشان می‌دهد (Steffe, 1996 و Taziki Shams-abadi and Razavi, 2021) و با سرازیر شدن، قاشق زنی، پذیرش مصرف کننده و حفظ ساختمان نمونه در ارتباط است. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر صمغ کتیرا و نشاسته گندم بر تنش تسلیم و ویسکوزیته کسون نمونه‌های دسر لبنی معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). تنش تسلیم کسون در نمونه شاهد (۱/۵ درصد ژلاتین) ۷۶/۲۴ Pa بود و با افزایش غلظت‌های صمغ کتیرا و نشاسته گندم به طور معنی‌داری تا ۲۵۷/۰۵ Pa افزایش یافت. ویسکوزیته کسون نیز در نمونه شاهد حدود ۰/۰۶ Pa.s بود و با افزایش غلظت صمغ و نشاسته در نمونه‌ها به طور معنی‌داری تا ۰/۵۴ Pa.s افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). در غلظت ثابت صمغ، با افزایش درصد نشاسته به طور معنی‌داری تنش تسلیم کسون افزایش یافت.

همچنین در غلظت ثابتی از نشاسته افزایش غلظت صمغ کتیرا منجر به افزایش تنش تسلیم شد. اثر هم افزایی صمغ بر ویسکوزیته خمیر نشاسته توسط مکانیسم‌های مختلفی از جمله تعامل بین صمغ و مایع نشست یافته از نشاسته، افزایش غلظت صمغ در فاز پیوسته، تاثیر صمغ بر خصوصیات فیزیکی نشاسته مانند اندازه، شکل و همچنین میزان مایع نشست یافته از گرانول‌های نشاسته بیان شده است (Lai et al., 2003). با قرار گرفتن صمغ در فاز پیوسته (آمیلوز)، حجم این بخش کاهش یافته که باعث افزایش چشمگیر غلظت صمغ در بخش آمیلوز نشاسته شده و در نتیجه موجب افزایش ویسکوزیته می‌شود. والز رویز و همکاران (Vélez-Ruiz et al., 2006)، تارگا و همکاران (Tárrega et al., 2004) نیز گزارش کردند که با افزایش غلظت نشاسته گندم تنش تسلیم کسون در نمونه دسر لبنی افزایش یافت. عنبرانی و همکاران (Anbaranie et al., 2021) گزارش کردند که با افزایش غلظت صمغ دانه مرو، تنش تسلیم کسون و ویسکوزیته کسون در ژل نشاسته گندم افزایش یافت. دلیل افزایش ویسکوزیته تنش تسلیم با افزایش غلظت صمغ و نشاسته را می‌توان به افزایش اتصالات مولکولی و تغییرات ساختمان مولکولی ناشی از جذب آب مربوط دانست (Javidi and Razavi., 2012).

جدول ۳- پارامترهای مدل کسون جهت توصیف رفتار جریان مستقل از زمان نمونه‌های دسر لبنی حاوی درصدهای مختلف صمغ کتیرا و نشاسته گندم در دمای ثابت ۴°C

Table 3- parameters of Casson model to describe the time-independent flow behavior of dairy dessert samples containing different percentages of Tragacanth gum and wheat starch at a constant temperature of 4°C

| کد نمونه<br>Samples | غلظت<br>صمغ (%)<br>Gum<br>concentration | غلظت نشاسته<br>(%) Starch | $\tau_{0C}$<br>(Pa)        | $\eta_C$ (Pa.s)           | R <sup>2</sup> | RMSE |
|---------------------|-----------------------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------|------|
| 1.5G                | 0                                       | 0                         | 76.24 ± 2.07 <sup>DF</sup> | 0.06 ± 0.00 <sup>E</sup>  | 0.90           | 1.81 |
| 0.7T, 1S            | 0.7                                     | 1                         | 54.94 ± 2.11 <sup>DF</sup> | 0.07 ± 0.00 <sup>E</sup>  | 0.96           | 1.91 |
| 0.7T, 2S            | 0.7                                     | 2                         | 76.79 ± 3.31 <sup>DF</sup> | 0.08 ± 0.00 <sup>E</sup>  | 0.98           | 1.89 |
| 0.7T, 3S            | 0.7                                     | 3                         | 98.27 ± 0.74 <sup>C</sup>  | 0.11 ± 0.01 <sup>D</sup>  | 0.98           | 1.75 |
| 1T, 1S              | 1                                       | 1                         | 88.9 ± 3.81 <sup>D</sup>   | 0.12 ± 0.00 <sup>CD</sup> | 0.96           | 1.07 |
| 1T, 2S              | 1                                       | 2                         | 139 ± 4.94 <sup>C</sup>    | 0.12 ± 0.0 <sup>CD</sup>  | 0.95           | 0.99 |
| 1T, 3S              | 1                                       | 3                         | 242.3 ± 6.78 <sup>A</sup>  | 0.54 ± 0.00 <sup>A</sup>  | 0.98           | 0.93 |
| 1.3T, 1S            | 1.3                                     | 1                         | 126.85 ± 6/71 <sup>C</sup> | 0.07 ± 0.00 <sup>A</sup>  | 0.94           | 1.06 |
| 1.3T, 2S            | 1.3                                     | 2                         | 257.05 ± 1.48 <sup>A</sup> | 0.14 ± 0.00 <sup>BC</sup> | 0.94           | 2.71 |
| 1.3T, 3S            | 1.3                                     | 3                         | 203 ± 6.36 <sup>AB</sup>   | 0.15 ± 0.02 <sup>B</sup>  | 0.98           | 1.86 |

داده‌های یک ستون با حروف متفاوت به صورت معناداری با یکدیگر متفاوت هستند ( $p < 0.05$ ).

Data in a column with different letters are significantly different from each other ( $p < 0.05$ )

### ویژگی‌های بافتی

بافت یک ویژگی بسیار مهم برای ارزیابی کیفیت محصولات غذایی است و با ساختار داخلی ماده ارتباط بسیار نزدیکی دارد (Perna *et al.*, 2014). آزمون اکستروژن پس‌رو روش سریع، آسان و کم هزینه است، اغلب در ارزیابی بافت مواد مایع و نیمه جامدو چسبندگی کاربرد دارد (Paoletti *et al.*, 1995, Perrot *et al.*, 2011). ویژگی‌های بافتی نمونه‌های دسر لبنی توسط چهار پارامتر سختی، قوام، چسبندگی و نیروی چسبندگی طی نگهداری در یخچال (۴°C) ارزیابی شدند. با توجه به نتایج ذکر شده در جدول ۴، افزودن صمغ کتیرا و نشاسته گندم پارامترهای بافتی به جز پارامتر قوام را به طور معنی‌داری افزایش داد. سختی نیروی لازم برای تغییر شکل نمونه یا مقاومت به تغییر شکل در برابر نیروهای فشاری اعمال شده می‌باشد. طبق تعریف، سختی نیروی لازم برای تغییر شکل نمونه یا مقاومت به تغییر شکل در برابر نیروهای فشاری اعمال شده می‌باشد (Szczesniak, 2002). همچنین سختی حداکثر میزان نیرو در منحنی‌های زمان-سرعت برشی طی فشرده‌سازی ماده غذایی که عملکرد فک را تقلید می‌کند، تعریف شده‌است (Bourne, 2002; Taziki Shams-abadi and Razavi, 2021). سختی و قوام همبستگی مثبتی با یکدیگر دارند، بنابراین با افزایش غلظت صمغ کتیرا و نشاسته گندم پارامترهای سختی و قوام افزایش یافتند. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر نشاسته بر پارامتر سختی معنی‌دار بود. در غلظت ثابت از صمغ با افزایش غلظت نشاسته از ۱٪ به ۳٪ سختی در نمونه‌ها افزایش یافت. افزایش غلظت صمغ کتیرا از ۰/۷٪ تا ۱/۳٪ نیز

باعث افزایش در سختی نمونه‌ها شده است. مقدار سختی در نمونه دارای ۰/۷٪ صمغ کتیرا و ۳٪ نشاسته گندم (g) ۳۹۷/۵۵ به دست آمد که نزدیک‌ترین مقدار به نمونه شاهد (میزان سختی حدود (g) ۴۰۴/۵) یافت شد. سختی ژل می‌تواند مربوط به محتوای نشاسته باشد، می‌توان بیان کرد که افزایش سختی در نمونه‌های دسر لبنی به علت بازآرایی آمیلوز نشیافته از گرانول‌های نشاسته می‌باشد (Sandhu & Singh, 2007). کومار و همکاران (Kumar *et al.*, 2018) مشاهده نمودند که در مخلوط‌های نشاسته جو و کنسانتره پروتئین آب پنیر با کاهش غلظت‌های نشاسته سختی کاهش می‌یابد که در واقع این مسئله می‌تواند به علت حضور پروتئین‌ها در فاز پیوسته و توانایی آن‌ها در کاهش بازآرایی آمیلوز نشیافته از گرانول‌های نشاسته باشد و موجب نرم‌تر شدن ژل نشاسته می‌شود. در مورد پارامتر قوام تنها اثر نشاسته بسیار معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). افزایش غلظت بیوپلیمرها سبب افزایش در قوام نمونه‌ها شد (Kumar *et al.*, 2018). قوام نمونه‌ها صمغ کتیرا در غلظت ۱/۳٪ قوام نمونه‌ها را به مقدار بیشتری افزایش داد. نمونه ۳S، ۱۰/۷T از نظر میزان قوام به نمونه شاهد شبیه بود. چسبندگی حداکثر نیروی لازم جهت جدا کردن ماده غذایی از یک سطح و یا سطح ماده غذایی در ارتباط با کام، دندان و زبان است (Liu *et al.*, 2007). چسبندگی، به عنوان انرژی مورد نیاز برای غلبه بر پیوندهای داخلی غذا نیز تعریف می‌شود (Anbaranie *et al.*, 2021). در منحنی نیرو-سرعت برشی حداکثر نیروی در ناحیه منفی منحنی به عنوان چسبندگی در نظر گرفته می‌شود. نتایج نشان داد که مقدار چسبندگی در نمونه‌ها با افزایش غلظت بیوپلیمرها افزایش یافت. اثر صمغ کتیرا و



نمودند که افزایش غلظت صمغ دانه مرو از ۵٪ به ۱۰٪ منجر به افزایش چسبندگی در ژل نشاسته گندم شد. سیت و همکاران (Sit et al., 2014) گزارش نمودند که با افزایش غلظت نشاسته ویژگی‌های بافتی از جمله استحکام، پیوستگی، چسبندگی و شاخص ویسکوزیته در نمونه‌های سس گوجه فرنگی افزایش یافت. آن‌ها علت افزایش این ویژگی‌ها را به افزایش غلظت و اتصالات نشاسته که به عنوان عوامل قوام‌دهنده عمل می‌کنند، نسبت دادند. کمیلی فرد و همکاران (Komeilyfard et al., 2017) با افزودن صمغ کتیرا و صمغ آنگوم در نمونه‌های سس کچاپ افزایش پارامترهای چسبندگی، نیروی چسبندگی و قوام را مشاهده کردند. در مجموع از نظر پارامترهای بافتی، میزان جایگزینی ۰/۷٪ صمغ کتیرا و ۲٪ نشاسته گندم، ۰/۷٪ صمغ کتیرا و ۳٪ نشاسته گندم و ۱٪ صمغ کتیرا و ۲٪ نشاسته گندم در دسر لبنی به نمونه شاهد نزدیک‌تر بودند (Komeilyfard et al., 2017).

نشاسته گندم بر چسبندگی نمونه‌های دسر لبنی بسیار معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). میزان چسبندگی در نمونه شاهد حاوی ۱/۵٪ ژلاتین (۱/۵G)، ۴/۶۵ (mJ) بود که به مقدار چسبندگی در نمونه ۱S، ۱T (۴/۰۵ (mJ)) نزدیک می‌باشد. نیروی چسبندگی، حداکثر نیروی لازم برای غلبه بر نیروهای جاذبه بین سطح ماده غذایی و سایر سطوح می‌باشد. نیروی چسبندگی و چسبندگی با افزایش غلظت صمغ و نشاسته افزایش یافت. با توجه به نتایج آنالیز واریانس اثر صمغ و نشاسته بر این پارامترها معنی‌دار بودند. در پژوهش هونگ و همکاران (Huang et al., 2007) در خصوص کاربرد نشاسته برنج و کاراگینان در نمونه دسر لبنی با نسبت وزنی ۰/۴-۰/۱ وزنی چسبندگی نمونه‌ها افزایش یافت. پانگ و همکاران (Pang et al., 2015) گزارش کردند که چسبندگی و استحکام در نمونه‌های ژله شیری با افزایش غلظت نشاسته و صمغ‌های گوار، صمغ لوبیای خرنوب و کاراگینان افزایش یافت. عنبرانی و همکاران (Anbaranie et al., 2021) گزارش

جدول ۴- پارامترهای بافتی نمونه دسر لبنی حاوی درصد‌های مختلف صمغ کتیرا و نشاسته گندم در دمای ثابت ۴°C

Table 4- Textural parameters of dairy dessert samples containing different percentages Tragacanth gum and wheat starch at a constant temperature of 4°C

| کد نمونه<br>Samples | غلظت<br>صمغ (%)<br>Gum<br>concentration | غلظت نشاسته<br>(%) Starch | Hardness<br>(g) سختی<br>(Pa) | Consistency<br>(mJ) قوام    | Cohesiveness<br>(mJ) چسبندگی | Cohesiveness<br>Force<br>نیروی<br>چسبندگی (g) |
|---------------------|-----------------------------------------|---------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------------------------|
| 1.5G                | 0                                       | 0                         | 404.5 ± 3.53 <sup>D</sup>    | 19 ± 0.4 <sup>BCE</sup>     | 4.65 ± 1.15 <sup>E</sup>     | 162.5 ± 1.5 <sup>BC</sup>                     |
| 0.7T, 1S            | 0.7                                     | 1                         | 109.5 ± 6.36 <sup>GH</sup>   | 4.25 ± 0.15 <sup>H</sup>    | 2.2 ± 0.1 <sup>F</sup>       | 57.5 ± 94.4 <sup>D</sup>                      |
| 0.7T, 2S            | 0.7                                     | 2                         | 322 ± 7.07 <sup>F</sup>      | 13.8 ± 0.2 <sup>E</sup>     | 8.3 ± 0.1 <sup>CD</sup>      | 201 ± 3 <sup>B</sup>                          |
| 0.7T, 3S            | 0.7                                     | 3                         | 397.55 ± 7.77 <sup>E</sup>   | 18.25 ± 2.85 <sup>CEF</sup> | 8.35 ± 0.05 <sup>CD</sup>    | 221.5 ± 1.5 <sup>B</sup>                      |
| 1T, 1S              | 1                                       | 1                         | 138 ± 7.07 <sup>EG</sup>     | 5.35 ± 0.75 <sup>H</sup>    | 4.5 ± 0.65 <sup>EF</sup>     | 103 ± 1 <sup>CD</sup>                         |
| 1T, 2S              | 1                                       | 2                         | 376 ± 2.82 <sup>E</sup>      | 12.1 ± 3.4 <sup>G</sup>     | 9.6 ± 0.1 <sup>CD</sup>      | 147.5 ± 2.5 <sup>C</sup>                      |
| 1T, 3S              | 1                                       | 3                         | 509.5 ± 4.94 <sup>B</sup>    | 25.5 ± 3.8 <sup>A</sup>     | 11.05 ± 0.35 <sup>B</sup>    | 356 ± 3 <sup>A</sup>                          |
| 1.3T, 1S            | 1.3                                     | 1                         | 298 ± 7.07 <sup>C</sup>      | 12.4 ± 0.5 <sup>FG</sup>    | 7.65 ± 0.25 <sup>E</sup>     | 235.5 ± 1.5 <sup>B</sup>                      |
| 1.3T, 2S            | 1.3                                     | 2                         | 508 ± 1.41 <sup>C</sup>      | 21.7 ± 0.6 <sup>ABC</sup>   | 11.8 ± 0.5 <sup>AB</sup>     | 395 ± 2 <sup>A</sup>                          |
| 1.3T, 3S            | 1.3                                     | 3                         | 546 ± 4.24 <sup>A</sup>      | 25 ± 0.6 <sup>AB</sup>      | 12.4 ± 0.00 <sup>A</sup>     | 389.5 ± 0.5 <sup>A</sup>                      |

داده‌های یک ستون با حروف متفاوت به صورت معناداری با یکدیگر متفاوت هستند ( $p < 0.05$ ).

Data in a column with different letters are significantly different from each other ( $p < 0.05$ )

#### سینرزیس (آب اندازی)

سینرزیس یا آب اندازی پارامتری مهم برای ارزیابی پایداری فراورده‌های لبنی طی مدت زمان نگهداری است. سینرزیس اساسا فرایندی است که به ساختار ژل و میزان ماده خشک و پایدارکننده بستگی دارد. به جهت اینکه سینرزیس یک ویژگی حسی بصری محسوب می‌شود، می‌تواند در میزان پذیرش فراورده موثر واقع شود. در پژوهش حاضر در تمامی نمونه‌ها با افزایش غلظت صمغ کتیرا و نشاسته گندم درصد سینرزیس کاهش یافت. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثرات سطوح جایگزینی صمغ کتیرا، نشاسته گندم و روز

بر سینرزیس نمونه‌های دسر لبنی معنی‌دار بودند (جدول ۵). به این صورت که در غلظت ثابت نشاسته، با افزایش صمغ کتیرا از ۰/۷٪ به ۱/۳٪ میزان سینرزیس نمونه‌ها، از ۰/۳۴٪ به ۰/۰۶٪ و در غلظت ثابتی از صمغ، با افزایش غلظت نشاسته گندم از ۱٪ به ۳٪ سینرزیس از مقدار ۰/۳۴٪ به ۰/۲۴۸٪ به طور معنی‌داری کاهش یافت. کاهش سینرزیس در نمونه‌ها به دلیل اثر صمغ به عنوان مانعی برای رتروگراداسیون نشاسته و همچنین اثر هم افزایی آن به همراه نشاسته در افزایش ویسکوزیته است (Ferrero et al., 1993). شی و بی میلر (Shi and BeMiller, 2002) اثر کاهش سینرزیس را نتیجه تعامل

۲، ۱/۳T و ۳S، افزایش سینرزیس به میزان کمتری اتفاق افتاد. طی مدت زمان نگهداری، مولکول‌های آمیلوز و آمیلوپکتین نشاسته شروع به بهم پیوستن مجدد می‌کنند و شبکه پلیمری با کریستال‌های نوع B را تشکیل می‌دهند به‌طوری‌که استحکام شبکه (سختی) به تدریج افزایش می‌یابد و جدایی فاز بین حلال و زنجیره‌های پلیمر اتفاق می‌افتد در نتیجه باعث افزایش سینرزیس می‌شود (Biliaderis, 2009). آلونکل و دوبلیر (Alloncle and Doublier., 1991) اشاره کردند که جدایی سرم نمونه‌های حاوی صمغ کتیرا در نتیجه ناسازگاری هیدرودینامیکی مولکول‌های مختلف پلیمری می‌باشد. سینرزیس در نمونه‌های ۲S، ۰/۷T و ۲S، ۱/۳T به نمونه شاهد نزدیک تر بودند.

بین مولکول‌های صمغ و نشاسته گزارش نمودند. همچنین عنبرانی و همکاران گزارش دادند که صمغ‌ها در سیستم‌های آبی نشاسته به عنوان عامل متصل شونده به آب عمل می‌کنند و آب در دسترس آمیلوز و آمیلوپکتین برای کریستالیزاسیون را خارج می‌کنند و در نتیجه از سینرزیس نشاسته جلوگیری می‌کنند (Katsuta et al., 1992) و (Anbaranie et al., 2021). افزایش مدت نگهداری نمونه‌ها بطور طبیعی منجر به افزایش سینرزیس شد. به طوری که پس از ۷ و ۱۴ روز نگهداری در یخچال، سینرزیس در نمونه ۱S، ۰/۷T با کم‌ترین درصد صمغ و نشاسته به ترتیب از ۱/۰۰۸ به ۸/۲۲ و ۸/۷۸ و در نمونه ۳S، ۱/۳T بیشترین درصد صمغ و نشاسته به ترتیب از ۰/۰۶ به ۰/۰۹۹ و ۰/۰۸ افزایش یافت. در نمونه‌های ۳S، ۰/۷T، ۳S، ۱T، S

جدول ۵- داده‌های سینرزیس نمونه‌های دسر لبنی در حضور درصدهای مختلف صمغ کتیرا و نشاسته گندم در دمای ثابت ۴°C

Table 5- Syneresis data of dairy dessert samples in the presence of different percentages of Tragacanth gum and wheat starch at a constant temperature of 4°C

| Samples<br>کد نمونه‌ها | غلظت صمغ (%)<br>Gum concentration | غلظت نشاسته (%)<br>Starch | Day 1<br>روز ۱              | Day 7<br>روز ۷             | Day 14<br>روز ۱۴           |
|------------------------|-----------------------------------|---------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 1.5G                   | 0                                 | 0                         | 0.34 ± 0.21 <sup>CD</sup>   | 0.98 ± 0.13 <sup>DE</sup>  | 1.04 ± 0.21 <sup>E</sup>   |
| 0.7T, 1S               | 0.7                               | 1                         | 1.008 ± 0.007 <sup>C</sup>  | 8.22 ± 0.02 <sup>A</sup>   | 8.87 ± 0.93 <sup>A</sup>   |
| 0.7T, 2S               | 0.7                               | 2                         | 0.049 ± 0.002 <sup>DF</sup> | 3.12 ± 0.36 <sup>C</sup>   | 3.11 ± 0.21 <sup>C</sup>   |
| 0.7T, 3S               | 0.7                               | 3                         | 0.248 ± 0.07 <sup>D</sup>   | 0.644 ± 0.07 <sup>DE</sup> | 0.895 ± 0.14 <sup>EF</sup> |
| 1T, 1S                 | 1                                 | 1                         | 4.2 ± 0.91 <sup>A</sup>     | 4.34 ± 0.95 <sup>B</sup>   | 6.11 ± 0.11 <sup>B</sup>   |
| 1T, 2S                 | 1                                 | 2                         | 0.14 ± 0.06 <sup>D</sup>    | 0.98 ± 0.13 <sup>DE</sup>  | 1.18 ± 0.002 <sup>D</sup>  |
| 1T, 3S                 | 1                                 | 3                         | 0.05 ± 0.07 <sup>D</sup>    | 0.64 ± 0.2 <sup>DE</sup>   | 0.69 ± 0.13 <sup>EF</sup>  |
| 1.3T, 1S               | 1.3                               | 1                         | 1.047 ± 0.42 <sup>B</sup>   | 1.52 ± 0.76 <sup>D</sup>   | 2.9 ± 0.76 <sup>C</sup>    |
| 1.3T, 2S               | 1.3                               | 2                         | 0.196 ± 0.00 <sup>D</sup>   | 0.248 ± 0.06 <sup>E</sup>  | 0.346 ± 0.06 <sup>F</sup>  |
| 1.3T, 3S               | 1.3                               | 3                         | 0.06 ± 0.07 <sup>D</sup>    | 0.08 ± 0.07 <sup>E</sup>   | 0.099 ± 0.00 <sup>F</sup>  |

داده‌های یک ستون با حروف متفاوت به صورت معناداری با یکدیگر متفاوت هستند (p<0.05).

Data in a column with different letters are significantly different from each other (p<0.05)

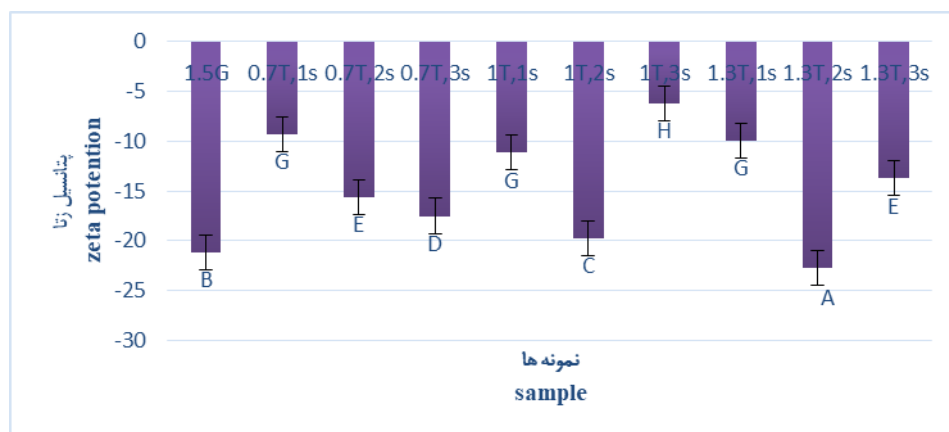
## پتانسیل زتا

کتیرا و نشاسته گندم به طور معنی‌داری پارامتر پتانسیل زتا در نمونه‌های دسر لبنی را تحت تاثیر قرار داده است. مقدار پتانسیل زتا در نمونه‌های ۲S، ۱/۳T و ۲S، ۱T به نمونه شاهد نزدیک‌تر بودند. کم‌ترین و بیشترین میزان پتانسیل زتا (مقدار بار منفی) در دسرهای لبنی در محدوده ۶/۱۷- و ۲۲/۷۷- به ترتیب مربوط به نمونه‌های 1T3S و 1.3T2S می‌باشد. با توجه به نتایج آنالیز واریانس، اثر صمغ، نشاسته و برهمکنش آن‌ها بر پتانسیل زتا بسیار معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). افزایش غلظت هیدروکلوئیدها در اکثر نمونه‌ها منجر به افزایش در میزان بار منفی و پتانسیل زتا شده است. در غلظت ثابت صمغ، با افزایش نشاسته از ۱٪ به ۳٪ و در میزان ثابت نشاسته با افزایش غلظت صمغ از ۰/۷٪ به ۱/۳٪ میزان پتانسیل زتا در اکثر نمونه‌ها افزایش یافت اما روند منظمی نداشت. در پی کاهش میزان پتانسیل زتا بارهای الکتریکی منفی کاهش یافته و تمایل سیستم هیدروکلوئیدی به ایجاد توده بیشتر شده و ثبات سیستم کاهش

یکی از عوامل مهم در توصیف شرایط بیوپلیمرها پتانسیل زتا می‌باشد (Jafari and Esfanjani, 2017). به طور کلی در تعیین پایداری کلوئیدها، بار خالص کمپلکس‌ها موثر است، زیرا شاهد برهمکنش‌های الکترواستاتیکی بین پلیمرهای زیستی است (Liu et al., 2012). در برخی موارد لازم است برای جدا نگه داشتن ذرات از یکدیگر و ممانعت از تجمع آن‌ها، دافعه بین ذرات را به حداکثر مقدار ممکن رساند و گاهی نیز با حذف یا کاهش نیروهای دافعه و با ایجاد تغییر در تعادل بین نیروهای دافعه و جاذبه می‌توان ویسکوزیته محلول را تغییر داده و آن را تعدیل نمود. پتانسیل زتا بیانگر شدت جذب یون‌های مخالف به سطح ذرات است، لذا می‌توان خصوصیات یک سوسپانسیون را با درک چگونگی برهمکنش کلوئیدها با یکدیگر شناسایی نمود. در شکل ۲ مشاهده می‌شود که افزایش غلظت صمغ

پتانسیل زتا ثبات سیستم افزایش یافت. آن‌ها علت افزایش ثبات در سیستم ماست قالبی را به نیروهای واندروالسی و دافعه الکترواستاتیکی نسبت دادند (Cui et al., 2014).

می‌یابد (Ambjerg Pedersen and Jorgensen, 1991). کیو و همکاران (Cui et al., 2014) با افزودن نشاسته استیله در ماست قالبی گزارش کردند که پتانسیل زتا در غلظت ۰/۵٪ نشاسته استیله به حداکثر مقدار خود رسید. همچنین بیان نمودند که با کاهش



شکل ۲- پتانسیل زتا در نمونه‌های دسر لبنی با درصد‌های مختلف صمغ کتیرا و نشاسته گندم با نمونه کنترل (۱/۵ درصد ژلاتین) در دمای ثابت ۴°C، T صمغ کتیرا و S نشاسته گندم

Fig. 2- Zeta potential in dairy dessert samples with different percentages of katira gum and wheat starch with the control sample (1.5% gelatin) at a constant temperature of 4°C, T of Tragacanth gum and S of wheat starch

گندم از ۱٪ به ۳٪، اسپان<sup>۱</sup> (شاخص توزیع اندازه ذرات) کاهش می‌یابد، در حالی که در غلظت ثابت نشاسته، افزایش صمغ کتیرا از ۰/۷٪ به ۱/۳٪ موجب افزایش اسپان شده است. اسپان و میانگین قطر حجمی در نمونه شاهد به ترتیب ۱/۰۸ و ۴۵۱/۵۷ نانومتر می‌باشد و بیشترین و کم‌ترین مقدار اسپان و میانگین قطر حجمی در نمونه‌های دسر لبنی به ترتیب مربوط به نمونه‌های ۱/۳T, ۲S و ۱S، ۰/۷T, ۱S و ۱/۳T, ۳S، ۰/۷T, ۱S می‌باشد. نمونه‌های ۰/۷T, ۱S و ۱/۳T, ۳S به ترتیب از نظر قطر متوسط و اسپان به نمونه شاهد نزدیک‌تر بودند. حضور ذراتی با قطر بزرگ در نمونه‌های دسر لبنی را می‌توان به افزایش درصد باسورین<sup>۲</sup> نسبت داد، باسورین به عنوان بخش نامحلول صمغ کتیرا با افزایش ویسکوزیته و بدون تشکیل پیوند با پروتئین‌ها منجر به افزایش اندازه ذرات می‌شود (Balaghi et al., 2010). همچنین در ژل صمغ دانه ریحان، با افزایش غلظت صمغ توزیع اندازه ذرات افزایش یافت (Naji-Tabasi et al., 2017). هونگ و همکاران (Huang et al., 2007) مشاهده کردند که با افزایش غلظت صمغ‌های زانتان، متیل سلولوز، عربی، پکتین، گوار، کاراگینان و شنبلیله در ژل نشاسته برنج، پارامترهای اندازه ذرات افزایش یافت. کشتکاران و همکاران علت افزایش اندازه ذرات در شیر

## توزیع اندازه ذرات

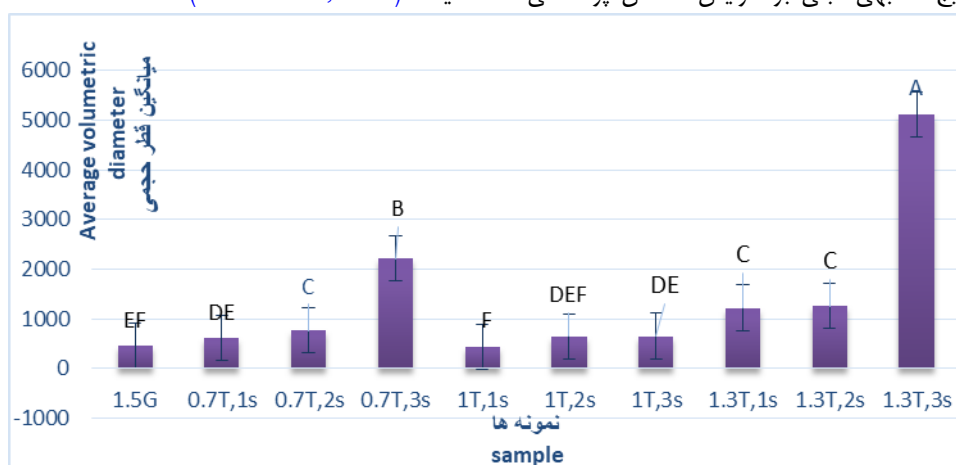
آنالیز اندازه ذرات برای نظارت بر تشکیل و رشد شبکه‌های الکترواستاتیکی بین پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها انجام می‌شود (Jensen et al., 2010). اندازه ذرات فاز پراکنده از مهم‌ترین خصوصیات امولسیون‌های غذایی است. هرچه اندازه ذرات امولسیون‌ها کوچک‌تر باشد، امولسیون حاصل پایداری بیشتری خواهد داشت. قانون استوک نشان می‌دهد که سرعت حرکت ذرات با توان دوم شعاع متناسب است. تجزیه و تحلیل توزیع اندازه ذرات برای نظارت بر تشکیل شبکه‌های الکترواستاتیکی بین پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها انجام می‌گردد (Jensen et al., 2010). با کاهش اندازه ذرات ثبات امولسیون افزایش و سرعت جدا شدن فازهای آن کاهش می‌یابد، بنابراین تولید امولسیون با اندازه ذرات کوچک‌تر از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. دستکم در معدود پژوهش‌هایی، تغییرات میانگین اندازه ذره دسرهای لبنی حاوی هیدروکلوئید مورد بررسی قرار گرفته است، نتایج به دست آمده در شکل ۳ بیانگر این مطلب است که میانگین قطر حجمی (قطر ذرات مبتنی بر حجم) در نمونه‌های دسر لبنی با افزایش غلظت صمغ کتیرا و نشاسته گندم به طور معنی‌داری افزایش یافته است و اثر صمغ کتیرا، نشاسته گندم بر میانگین آن معنی‌دار شد ( $p < 0.05$ ). با توجه به نتایج مشاهده شده در شکل ۴ اکثر نمونه‌ها در غلظت ثابت صمغ کتیرا با افزایش غلظت نشاسته

1- Span

2- Basorin

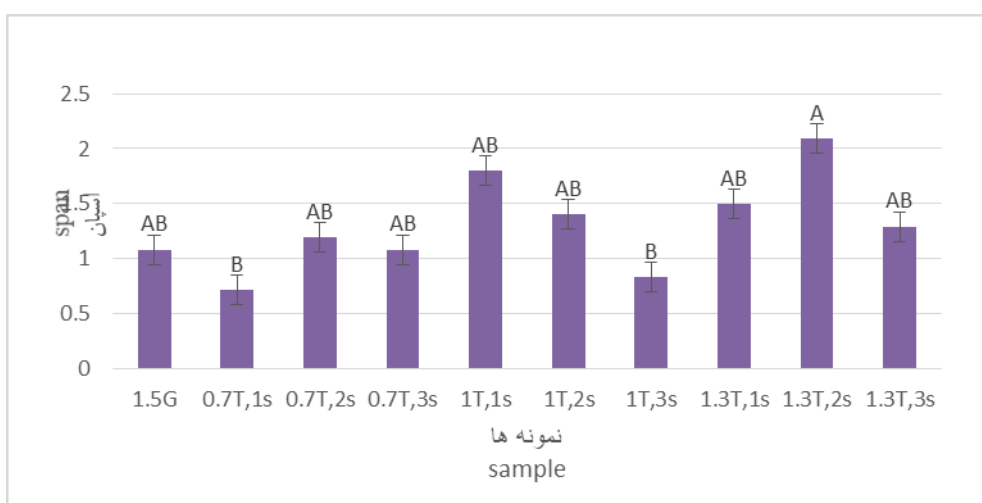
ذرات گزارش کردند. به این صورت که با افزایش غلظت پکتین در نمونه‌های نوشیدنی شیر شاخص پراکندگی ذرات نمونه‌ها افزایش یافت (Jensen et al., 2010).

خرما طی افزایش غلظت صمغ کتیرا را به جذب صمغ روی میسل‌های کارژین شیر نسبت دادند. جنسن و همکاران (Jensen et al., 2010) نیز نتایج مشابهی مبنی بر افزایش شاخص پراکندگی



شکل ۳- میانگین قطر حجمی نمونه‌های دسر لبنی در حضور درصدهای مختلف صمغ کتیرا و نشاسته گندم با نمونه کنترل (۱/۵ درصد ژلاتین) در دمای ثابت ۴°C، T صمغ کتیرا و S نشاسته گندم

Fig. 3- The average volume diameter of dairy dessert samples in the presence of different percentages of katira gum and wheat starch with the control sample (1.5% gelatin) at a constant temperature of 4°C, T of Tragacanth gum and S of wheat starch



شکل ۴- اسپان (شاخص توزیع اندازه ذرات) نمونه‌های دسر لبنی در حضور درصدهای مختلف صمغ کتیرا و نشاسته گندم با نمونه کنترل (۱/۵ درصد ژلاتین) در دمای ثابت ۴°C، T صمغ کتیرا و S نشاسته گندم

Fig. 4- Span (particle size distribution index) of dairy dessert samples in the presence of different percentages of gum Tragacanth and wheat starch with the control sample (1.5% gelatin) at a constant temperature of 4°C, T gum Tragacanth and S wheat starch

پذیرش و میزان علاقه به محصول توسط مصرف‌کنندگان، می‌باشد. در حالی که در آزمون‌های مصرف‌گرا تفاوت‌های موجود بین محصولات و ویژگی‌های آن‌ها تعیین می‌شود. از بین نمونه‌های دسر لبنی ۵ نمونه دسر لبنی شامل: ۰/۷T، ۳S، ۰/۷T، ۱S، ۱T، ۱S و ۱T، ۱S که از نظر ویژگی‌های فیزیکی و رئولوژیکی به نمونه شاهد شباهت بیشتری داشتند، انتخاب و جهت ارزیابی حسی به

#### ارزیابی حسی

به دلیل نقش محوری که درک حسی با بازاریابی مواد غذایی لبنی ایفا می‌کند، اغلب روش‌های اندازه‌گیری حسی یکی از مراحل نهایی در توسعه محصول می‌باشد (Clark et al., 2009). آزمون‌های حسی با توجه به هدف آن‌ها شامل دو گروه مصرف‌کننده‌گرا و مصرف‌گرا می‌باشند. در آزمون‌های مصرف‌کننده‌گرا، اولویت با قابلیت

کارگرفته شدند. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که غلظت‌های مختلف صمغ کتیرا و نشاسته گندم بر ویژگی‌های حسی نمونه‌ها شامل: رنگ، عطر و طعم، شیرینی، چسبندگی، حالت صمغی و پذیرش کلی اثر معنی‌دار داشتند ( $p < 0.05$ ) و افزایش غلظت صمغ کتیرا و نشاسته گندم بر سایر ویژگی‌های حسی اثر معنی‌دار نداشته است ( $p > 0.05$ ).

با توجه به **جدول ۶** و نتایج ارزیابی حسی نمونه‌های دسر لبنی افزودن صمغ کتیرا و نشاسته گندم به طور معنی‌داری موجب کاهش امتیاز سفیدی رنگ نمونه‌ها شده‌است. کمترین و بیشترین میزان امتیاز رنگ مربوط به نمونه‌های ۱S، ۱/۳T و ۲S، ۰/۷T به ترتیب با امتیاز ۵/۵ و ۷/۷ مربوط می‌باشد. امتیاز رنگ نمونه شاهد ۷/۱ و نمونه‌های ۳S، ۰/۷T و ۲S، ۰/۷T به ترتیب با امتیازهای ۶/۹ و ۷/۷ از نظر ویژگی رنگ به نمونه شاهد نزدیک‌تر بودند. نتایج مشابه در مورد اثر افزودن هیدروکلوئیدها بر امتیاز رنگ توسط رزمخواه و همکاران (Razmkhah Sharbiani et al., 2010) در نمونه ماست چکیده مشاهده شد که بیشترین و کم‌ترین امتیاز رنگ به ترتیب متعلق به ۰/۰۵ و ۰/۲٪ صمغ می‌باشد. در واقع افزایش غلظت هیدروکلوئیدها موجب کاهش امتیاز رنگ در نمونه‌ها شده‌است (Razmkhah Sharbiani et al., 2010).

یکی از مهم‌ترین ویژگی‌ها در ارزیابی محصولات غذایی عطر و طعم است که بر پذیرش مصرف‌کننده اثر دارد. درک طعم حاصل ترکیب دو حس بویایی و چشایی است، ارزیابی عطر و طعم در نمونه‌ها روند مشخص را نداشته و امتیاز عطر و طعم در نمونه شاهد ۶/۴ بود و بالاترین و کمترین آن به ترتیب به نمونه‌های ۱S، ۱T و ۳S، ۰/۷T تعلق گرفت. برهمکنش صمغ کتیرا و نشاسته گندم امتیاز عطر و طعم نمونه‌های دسر لبنی را به طور معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد کاهش داد. نمونه‌های ۲S، ۱T و ۱S، ۱T از نظر ویژگی عطر و طعم به نمونه شاهد شباهت بیشتری داشتند (**جدول ۶**). به طور کلی با افزایش ویسکوزیته در نتیجه حضور هیدروکلوئیدها در نمونه‌های دسر لبنی عطر و طعم کاهش یافت. جاویدی و همکاران (Javidi et al., 2012) گزارش نمودند که با افزایش ویسکوزیته و در نتیجه آن، کاهش انتقال جرم و ترکیبات معطر باقی مانده در قسمت‌های عمیق تر بستنی عطر و طعم در نمونه‌ها کاهش یافت. تاراگا و کاستل (Tárrega and Costell et al., 2006) گزارش کردند افزایش صمغ باعث افزایش ویسکوزیته و کاهش شدت عطر و طعم وانیلی شد.

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر صمغ کتیرا و نشاسته گندم بر امتیاز حسی صافی ظاهری نمونه‌های دسر لبنی معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ). همان‌طور که در **جدول ۶** مشاهده می‌شود، نمونه شاهد با بیشترین امتیاز حسی صافی ظاهری (۷/۷) ارزیابی شد و بعد از آن به ترتیب نمونه‌های ۱S، ۱T و ۲S، ۱T به ترتیب با امتیاز ۶/۹ و ۶/۷

بیشترین امتیاز حسی مربوط به صافی ظاهری را داشتند. یکی از اهداف اصلی استفاده از تثبیت‌کننده‌ها ایجاد بافت و بدنه صاف در محصولات است (Marshall and Arbuckle, 1996 و Bahram Parvar et al., 2010).

میانگین امتیازات مربوط به شیرینی نمونه‌های دسر لبنی حاوی درصد‌های مختلف صمغ کتیرا و نشاسته گندم در **جدول ۶** مشاهده می‌شود. برهمکنش صمغ کتیرا و نشاسته گندم به طور معنی‌داری بر شیرینی نمونه‌ها اثر داشتند ( $P > 0.05$ ). امتیاز شیرینی در نمونه شاهد ۷/۴ می‌باشد و در سایر نمونه‌ها با افزایش درصد هیدروکلوئیدها شیرینی نمونه‌ها کاهش یافت. در بین نمونه‌ها، به ترتیب نمونه‌های ۲S، ۰/۷T و ۱S، ۱T از نظر ویژگی شیرینی به نمونه شاهد نزدیک‌تر بودند. پنکبورن و کایاساکو (Pangborn & Kayasako., 1981) گزارش کردند که افزایش ویسکوزیته باعث کاهش درک شیرینی در محلول‌ها و فراورده‌های ژلی می‌شود. تاراگا و کاستل (Tárrega and Costell, 2006) نیز نتایج مشابهی مشاهده نمودند که با افزایش غلظت هیدروکلوئیدها شدت شیرینی در نمونه‌های دسر لبنی کاهش یافت.

چسبندگی در دسرهای لبنی و سس‌ها عبارت است از حالت چسبندگی که توسط زبان و کام احساس می‌شود (Kokini and Cussler, 1987). آنالیز نتایج ارزیابی حسی نشان داد که چسبندگی در نمونه شاهد ۴/۴ و در نمونه‌های ۲S، ۰/۷T و ۳S، ۰/۷T به ترتیب حدود ۳/۳ و ۴ می‌باشد، که این نمونه‌ها از نظر ویژگی چسبندگی به نمونه شاهد نزدیک‌تر می‌باشند (**جدول ۶**). با افزایش صمغ کتیرا و نشاسته گندم در نمونه دسر لبنی چسبندگی به طور معنی‌داری افزایش یافت. جاویدی و همکاران (Javidi et al., 2012) بیان نمودند که افزایش غلظت صمغ ریحان و گوار به علت جذب آب چسبندگی نمونه‌های بستنی را با افزایش داد. به علت طویل بودن زنجیره مولکولی صمغ کتیرا و افزایش ظرفیت جذب آب موجب کاهش انسجام بافتی نمونه‌ها و افزایش چسبندگی می‌شود (Ahmadi Gavlighi, 2012). سیت و همکاران (Sit et al., 2014) گزارش نمودند که با افزایش غلظت نشاسته ویژگی‌های بافتی از جمله استحکام، پیوستگی، چسبندگی و شاخص ویسکوزیته در نمونه‌های سس گوجه فرنگی افزایش یافت. آن‌ها علت افزایش این ویژگی‌ها را به افزایش غلظت و اتصالات نشاسته که به عنوان عوامل قوام‌دهنده عمل می‌کنند، نسبت دادند (Sit et al., 2014).

اثر صمغ کتیرا و نشاسته گندم بر ویژگی صمغیت یا قابلیت جوندگی دسرهای لبنی معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). با توجه به نتایج گزارش شده در **جدول ۶**، حالت صمغی نمونه شاهد در ارزیابی حسی امتیاز ۴/۵ را به خود اختصاص داد و در بیشتر نمونه‌ها با جایگزینی

درصد بیشتر صمغ و نشاسته حالت صمغی افزایش یافت، نمونه‌های ۱S، ۱T و ۲S، ۱/۳T با امتیاز حسی ۵/۸ و ۵ بالاترین میزان صمغیت را داشتند. نمونه‌های ۳S، ۰/۷T و ۱S، ۱/۳T از نظر امتیاز حالت صمغی به نمونه شاهد نزدیک تر بودند. به طور کلی افزایش هیدروکلوئیدها حالت صمغی نمونه‌ها را افزایش داد. در پژوهش انجام شده توسط حداد خداپرست و همکاران مشاهده شد که افزایش غلظت ژلاتین موجب افزایش صمغیت در نمونه‌های شکلات شد (Haddad Khodaparast et al., 2014).

پوشش دهانی در واقع فیلمی است که سطح دهان را پوشش می‌دهد. آنالیز نتایج واریانس نشان داد که اثر صمغ کتیرا و نشاسته گندم بر پوشش دهانی نمونه‌ها معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ). اما به طور کلی افزایش غلظت هیدروکلوئیدها منجر به افزایش امتیاز پوشش دهانی گردید. امتیاز پوشش دهانی در نمونه شاهد ۵ ارزیابی شد و در سایر نمونه‌ها با افزایش غلظت هیدروکلوئیدها امتیاز آن افزایش یافت (جدول ۶). نمونه ۲S، ۰/۷T با امتیاز ۵ از نظر پوشش دهانی به نمونه شاهد بیشترین شباهت را داشت.

جدول ۶- نتایج ارزیابی حسی نمونه‌های دسر لبنی حاوی درصدهای مختلف صمغ کتیرا و نشاسته گندم

Table 6- Sensory evaluation results of dairy dessert samples containing different percentages of Tragacanth gum and wheat starch

| خصوصیات حسی<br>Sensory properties  | کد نمونه‌ها<br>Samples   |                        |                        |                        |                        |                        |
|------------------------------------|--------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
|                                    | 1.5 G                    | 0.7T2S                 | 0.7T3S                 | 1T1S                   | 1T2S                   | 1.3T1s                 |
| رنگ<br>Color                       | 7.1±1.1 <sup>A</sup>     | 7.7±0.83 <sup>A</sup>  | 6.9±1.28 <sup>B</sup>  | 6.3±1.1 <sup>BC</sup>  | 5.7±1.05 <sup>C</sup>  | 5.5±1.08 <sup>C</sup>  |
| عطر و طعم<br>Aroma and taste       | 6.4 ± 1.34 <sup>AB</sup> | 6.6±2.12 <sup>A</sup>  | 4.9±1.28 <sup>C</sup>  | 6.3±1.1 <sup>AB</sup>  | 6.3±1.3 <sup>AB</sup>  | 7.3±1.2 <sup>A</sup>   |
| صافی ظاهر<br>Appearance smoothness | 7.7±1.25 <sup>A</sup>    | 6.6±2.69 <sup>AB</sup> | 6.1±1.59 <sup>AB</sup> | 6.9±1.22 <sup>AB</sup> | 6.7±1.56 <sup>AB</sup> | 5.8±1.7 <sup>B</sup>   |
| شیرینی<br>Sweetness                | 7.4±2.06 <sup>A</sup>    | 7.8±1.26 <sup>AB</sup> | 5.6±1.64 <sup>C</sup>  | 7.3±1.1 <sup>A</sup>   | 6.9±1.2 <sup>ABC</sup> | 6±1.9                  |
| چسبندگی<br>Adhesiveness            | 4.4± 2.41 <sup>A</sup>   | 3.3±0.52 <sup>B</sup>  | 4±1.41 <sup>AB</sup>   | 5.5±1.62 <sup>A</sup>  | 2.8±2.39 <sup>B</sup>  | 5.7±1.6 <sup>A</sup>   |
| حالت صمغی<br>Guminess              | 4.5± 2.41 <sup>AB</sup>  | 3.1±2.74 <sup>AB</sup> | 3.9±2.07 <sup>AB</sup> | 5.8±1.66 <sup>A</sup>  | 3.4±2.31 <sup>AB</sup> | 5 ±0.81 <sup>AB</sup>  |
| پوشش دهانی<br>Mouth cover          | 5±1.41 <sup>B</sup>      | 5.4±2.27 <sup>B</sup>  | 5.6±1.24 <sup>B</sup>  | 5.6±1.34 <sup>AB</sup> | 6.1±1.52 <sup>A</sup>  | 5.7±0.82 <sup>AB</sup> |
| پذیرش کلی<br>General acceptance    | 6.3± 2.86 <sup>A</sup>   | 6.8±1.2 <sup>A</sup>   | 6.5±1.9 <sup>A</sup>   | 6.2±1.72 <sup>A</sup>  | 6.5±1.43 <sup>A</sup>  | 5±0.94 <sup>A</sup>    |

داده‌های یک ردیف با اندیس متفاوت به صورت معناداری با یکدیگر متفاوت هستند ( $p < 0.05$ ). G ژلاتین، T صمغ کتیرا و S نشاسته گندم

The data of a row with a different index are significantly different from each other ( $p < 0.05$ ). G gelatin, T Tragacanth gum and S wheat starch

## نتیجه‌گیری

این تحقیق، با هدف مطالعه بررسی اثر صمغ کتیرا و نشاسته گندم به عنوان جایگزین ژلاتین بر خصوصیات رئولوژیکی، فیزیکی و



حسی دسر لبنی انجام شد. رفتار جریان در تمامی نمونه‌های دسر لبنی مشابه با نمونه شاهد و از نوع سودوپلاستیک (رقیق شونده با برش) بود. در بین مدل‌های رئولوژیکی استفاده شده، مدل قانون توان به عنوان بهترین مدل انتخاب شد ( $R^2 > 0.98$ ,  $RMSE < 1/6$ ). با افزایش غلظت‌های صمغ کتیرا و نشاسته گندم پارامترهای سختی، قوام، چسبندگی و نیروی چسبندگی به طور معنی‌داری افزایش یافت، و نمونه‌های ۰.۷T، ۱S، ۱T و ۰.۷T، ۳S از نظر تمامی پارامترهای بافتی مقدار مشابهی به نمونه شاهد داشتند. با افزایش صمغ کتیرا و نشاسته گندم میزان سینرزیس نمونه‌ها، به طور معنی‌داری کاهش یافت. افزایش مدت نگهداری نمونه‌ها بطور طبیعی منجر به افزایش سینرزیس شد. به طوری که پس از ۷ و ۱۴ روز نگهداری در یخچال، سینرزیس در نمونه ۱S، ۰.۷T با کم‌ترین درصد صمغ و نشاسته به ترتیب از ۱/۰۰۸ به ۸/۲۲ و ۸/۷۸ و در نمونه ۱T، ۳S با بیشترین درصد صمغ و نشاسته به ترتیب از ۰/۰۶ به ۰/۰۸ و ۰/۰۹۹ افزایش یافت. سینرزیس در نمونه‌های ۱S، ۰.۷T و ۲S، ۱T به نمونه شاهد نزدیک‌تر بودند. کم‌ترین و بیشترین میزان پتانسیل زتا (مقدار بار

منفی) در دسرهای لبنی در محدوده ۶/۱۷- و ۲۲/۷۷- به ترتیب مربوط به نمونه‌های ۱T، ۳S و ۱/۳T می‌باشد. میانگین قطر حجمی (قطر ذرات مبتنی بر حجم) در نمونه‌های دسر لبنی با افزایش غلظت صمغ کتیرا و نشاسته گندم به طور معنی‌داری افزایش یافته است و اثر صمغ کتیرا، نشاسته گندم بر میانگین آن معنی‌دار شد ( $p < 0.05$ ). در اکثر نمونه‌ها در غلظت ثابت صمغ کتیرا با افزایش غلظت نشاسته گندم از ۱٪ به ۳٪، اسپان<sup>۱</sup> (شاخص توزیع اندازه ذرات) کاهش می‌یابد، در حالی که در غلظت ثابت نشاسته، افزایش صمغ کتیرا از ۰/۷٪ به ۱/۳٪ موجب افزایش اسپان شده است. اسپان و میانگین قطر حجمی در نمونه شاهد به ترتیب ۱/۰۸ و ۴۵۱/۵۷ نانومتر می‌باشد. نمونه‌های ۱S، ۰.۷T و ۳S، ۰.۷T به ترتیب از نظر قطر متوسط و اسپان به نمونه شاهد نزدیک‌تر بودند. غلظت‌های مختلف صمغ کتیرا و نشاسته گندم بر ویژگی‌های حسی نمونه‌ها شامل: رنگ، عطر و طعم، شیرینی، چسبندگی، حالت صمغی و پذیرش کلی اثر معنی‌دار داشتند ( $p < 0.05$ ).

## منابع

1. Anbarani, N.M., Razavi, S.M.A., & Taghizadeh, M. (2021). Impact of sage seed gum and whey protein concentrate on the functional properties and retrogradation behavior of native wheat starch gel. *Food Hydrocolloids*, 111, 106261. <http://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106261>
2. Azarikia, F., & Abbasi, S. (2010). On the stabilization mechanism of Doogh (Iranian yoghurt drink) by gum tragacanth. *Food Hydrocolloids*, 24(4), 358-363. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.11.001>
3. BahramParvar, M., Razavi, S.M., & Khodaparast, M.H. (2010). Rheological characterization and sensory evaluation of a typical soft ice cream made with selected food hydrocolloids. *Food Science and Technology International*, 16(1), 79-88.
4. Balaghi, S., Mohammadifar, M., & Zargaraan, A. (2010). Physicochemical and rheological characterization of gum tragacanth exudates from six species of Iranian Astragalus. *Food Biophysics*, 5, 59-71
5. Bourne, M. (2002). *Food texture and viscosity: concept and measurement*: Elsevier.
6. Biliaderis, C.G. (2009). *Structural Transitions and Related Physical Properties of Starch*. Third Edition ed. in: *Starch: Chemistry and Technology* (Eds.) J. BeMiller, R. Whistler, Academic Press. San Diego.
7. Cui, B., Lu, Y.M., Tan, C.P., Wang, G.Q., & Li, G.H. (2014). Effect of cross-linked acetylated starch content on the structure and stability of set yoghurt. *Food Hydrocolloids*, 35, 576-582.
8. Clarke, C. (2015). *The science of ice cream*: Royal Society of Chemistry.
9. Dengate, H.N. (1984). *Swelling, pasting, and gelling of wheat starch*. in: *Advances in Cereal Science and Technology*, (Ed.) Y. Pomeranz, Vol. VI, American Association of Cereal Chemists, INC. St. Paul, Minnesota, pp. 49-82
10. Farahmandfar, R., Asnaashari, M., Salahi, M.R., & Rad, T.K. (2017). Effects of basil seed gum, Cress seed gum and Quince seed gum on the physical, textural and rheological properties of whipped cream. *International Journal of Biological Macromolecules*, 98, 820-828.
11. Farzi, M., Emam-Djomeh, Z., & Mohammadifar, M.A. (2013). A comparative study on the emulsifying properties of various species of gum tragacanth. *International Journal of Biological Macromolecules*, 57, 76-82.
12. Ferrero, C., Martins, MN., & Zaritzky, NE. (1993) Effect of freezing rate and xanthan gum on the properties of corn starch and wheat flour pastes. *International Journal Food Science Technology*, 28(5), 481-498.
13. Gavlighi, H.A. (2013). Tragacanth gum: structural composition, natural functionality and enzymatic conversion as source of potential prebiotic activity.

14. Golmohammadi, N., Mortazavi, S.A., Hesari, J., & Moghadam Vahed, M. (2014). *The effect of adding Gum of Ghadomeh Shirazi and Tragacanth on ketchup sauce synergy with quality improvement approach*, Third National Conference on Food Science and Industry, Quchan
15. González-Tomás, L., Bayarri, S., & Costell, E. (2009). Inulin-enriched dairy desserts: Physicochemical and sensory aspects. *Journal of Dairy Science*, 92(9), 4188-4199.
16. Haddad Khodaparast, M.H., & Mohebbi, M. (2014). *Investigation of sodium caseinate proteins, whey concentrate, albumin and gelatin on the sensory and physicochemical properties of chocolate mousse*, Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian)
17. Huang, M., Kennedy, J., Li, B., Xu, X., & Xie, B. (2007). Characters of rice starch gel modified by gellan, carrageenan, and glucomannan: A texture profile analysis study. *Carbohydrate Polymers*, 69(3), 411-418.
18. Jafari, S.M., & Esfanjani, A.F. (2017). 14 - *Instrumental analysis and characterization of nanocapsules*. In *Nanoencapsulation Technologies for the Food and Nutraceutical Industries* (pp. 524-544): Academic Press.
19. Javidi, F. (2012). The effect of guar gum and basil seeds as a fat substitute on rheological, physical and sensory properties
20. Javidi, F., Razavi, S.M., Behrouzian, F., & Alghooneh, A. (2016). The influence of basil seed gum, guar gum and their blend on the rheological, physical and sensory properties of low fat ice cream. *Food Hydrocolloids*, 52, 625-633. <http://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.08.006>
21. Jensen, S., Rolin, C., & Ipsen, R. (2010). Stabilisation of acidified skimmed milk with HM pectin. *Food Hydrocolloids*, 24(4), 291-299.
22. Kaheni, F., Kaheni, S., Sharifzadeh, G. R., Nasiri Foorg, A., & Avan, M. (2009). Consumption amount of milk and dairy products in school children of 6-11 year olds in Birjand during 2007. *Journal of Birjand University of Medical Sciences*, 16(2), 61-67.
23. Karim, A.A., & Bhat, R. (2008). Gelatin alternatives for the food industry: recent developments, challenges and prospects. *Trends in Food Science & Technology*, 19(12), 644-656.
24. Keshtkaran, M., Mohammadifar, M.A., Asadi, G.H., Nejad, R.A., & Balaghi, S. (2013). Effect of gum tragacanth on rheological and physical properties of a flavored milk drink made with date syrup. *Journal of Dairy Science*, 96(8), 4794-4803.
25. Kokini, J.L., & Cussler, E.L. (1987). *The psychophysics of fluid food texture*. Food Texture.
26. Komeilyfard, A., Fazal, M., Akhavan, H., & Mousakhani Ganjeh, A. (2017). Effect of Angum gum in combination with tragacanth gum on rheological and sensory properties of ketchup. *Journal of Texture Studies*, 48(2), 114-123.
27. Kumar, L., Brennan, M., Zheng, H., & Brennan, C. (2018). The effects of dairy ingredients on the pasting, textural, rheological, freeze-thaw properties and swelling behaviour of oat starch. *Food Chemistry*, 245, 518-524.
28. Lazaridou, A., Serafeimidou, A., Biliaderis, CG., Moschakis, T., & Tzanetakis, N. (2014) Structure development and acidification kinetics in fermented milk containing oat b-glucan, a yogurt culture and a probiotic strain. *Food Hydrocoll*, 39, 204-214
29. Lai, L.S., Liu, Y.L., & Lin, P.H. (2003). Rheological/textural properties of starch and crude hsian-tsao leaf gum mixed systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(10), 1051-1058.
30. Liu, H., Xu, X., & Guo, S. D. (2007). Rheological, texture and sensory properties of low-fat mayonnaise with different fat mimetics. *LWT-Food Science and Technology*, 40(6), 946-954.
31. Liu, L., Zhao, Q., Liu, T., Long, Z., Kong, J., & Zhao, M. (2012). Sodium caseinate/xanthan gum interactions in aqueous solution: Effect on protein adsorption at the oil-water interface. *Food Hydrocolloids*, 27(2), 339-346.
32. Marshall, R.T., & Arbuckle, W.S. (1996). *Ice Cream*. 5<sup>th</sup> edn, New York: Chapman and Hall., pp. 29\_30, 39\_40, 262.
33. Murphy, P. (2000). *Starch*. in: *Handbook of Hydrocolloids*, (Eds.) G.O. Phillips, P.A. Williams, Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC.
34. Naji-Tabasi, S., & Razavi, S.M.A. (2017). Functional properties and applications of basil seed gum: An overview. *Food Hyocolloids*, 73, 313-325.
35. Nejatian, M., Hatami, M., & Mohammadifar, M.A. (2013). Effect of gum tragacanth exuded by three Iranian Astragalus on mixed milk protein system during acid gelation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 53, 168-176. <http://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.11.001>
36. Pang, Z., Deeth, H., & Bansal, N. (2015). Effect of polysaccharides with different ionic charge on the rheological, microstructural and textural properties of acid milk gels. *Food Research International*, 72, 62-73.
37. Pangborn, R., & Koyasako, A. (1981). Time-course of viscosity, sweetness and flavor in chocolate desserts. *Journal of Texture Studies*, 12(2), 141-150.
38. Paoletti, F., Nardo, N., Saleh, A., & Quaglia, G. (1995). Back extrusion test on emulsions stabilized with whey protein concentrates. *LWT-Food Science and Technology*, 28(6), 616-619.

39. Perrot, A., Mélinge, Y., Patrice, E., Rangeard, D., & Lanos, C. (2011). The back extrusion test as a technique for determining the rheological and tribological behavior of yield stress fluids at low shear rates. *Appl. Rheol.*, 21, 53–64
40. Perna, A., Intaglietta, I., Simonetti, A., & Gambacorta, E. (2014). Antioxidant activity of yogurt made from milk characterized by different casein haplotypes and fortified with chestnut and sulla honeys. *Journal of Dairy Science*, 97(11), 6662-6670.
41. Rahimi, J., Khosrowshahi, A., Madadlou, A., & Aziznia, S. (2007). Texture of low-fat Iranian white cheese as influenced by gum tragacanth as a fat replacer. *Journal of Dairy Science*, 90(9), 4058-4070.
42. Razavi, S.M.A., Moghaddam, T.M., & Amini, A.M. (2008). Physical-mechanical properties and chemical composition of Balangu (*Lallemantia royleana* (Benth. in Walla.)) seed. *International Journal of Food Engineering*, 4(5).
43. Razmkhah Sharbiani, Razavi, S.M.A., & Mazaheri Tehrani, M. (2010). The effect of using pectin, myrrh and basil seeds on physicochemical and sensory properties of nonfat yogurt. *Iranian Food Science and Technology Research*, 6(6).
44. Reis, FR., de Pereira-Netto, AB., Meira, SJL., Isidoro, HCW., & Bilesky, CLM. (2011) Apparent viscosity of a skim milk based dessert: optimization through response surface methodology. *Food NutrScience*, 2, 90–95
45. Sandhu, K.S., & Singh, N. (2007). Some properties of corn starches II: Physicochemical, gelatinization, retrogradation, pasting and gel textural properties. *Food Chemistry*, 101(4), 1499-1507.
46. Schrieber, R., & Gareis, H. (2007). *Gelatine handbook: theory and industrial practice*: John Wiley & Sons.
47. Szczesniak, AS. (2002). Texture is a sensory property. *Food Quality Prefer*, 13, 215–225
48. Shams-Abadi, S.T., & Razavi, S.M.A. (2021). Cress seed gum improves rheological, textural and physicochemical properties of native wheat starch-sucrose mixture. *International Journal of Biological Macromolecules*, 181, 945-955.
49. Shi, X., & BeMiller, J.N. (2002). Effects of food gums on viscosities of starch suspensions during pasting. *Carbohydrate Polymers*, 50(1), 7-18.
50. Sit, N., Misra, S., Baruah, D., Badwaik, L.S., & Deka, S.C. (2014). Physicochemical properties of taro and maize starch and their effect on texture, colour and sensory quality of tomato ketchup. *Starch-Stärke*, 66(3-4), 294-302.
51. Steffe, J.F. (1996). *Rheological methods in food process engineering*. Freeman press.
52. Szczesniak, A.S. (2002). Texture is a sensory property. *Food Quality and Preference*, 13(4), 215-225.
53. Tárrega, A., Torres, J. D., & Costell, E. (2011). Influence of the chain-length distribution of inulin on the rheology and microstructure of prebiotic dairy desserts. *Journal of Food Engineering*, 104(3), 356-363.
54. Tarrega, A., & Costell, E. (2006). Effect of composition on the rheological behaviour and sensory properties of semisolid dairy dessert. *Food Hydrocolloids*, 20(6), 914-922.
55. Tárrega, A., González Tomás, L., & Costell, E. (2004). Effect of milk fat content on the flour behaviour of custard desserts.
56. Toker, OS., Dogan, M., Caniyilmaz, E., Ersoz, NB., & Kaya, Y. (2013) The effects of different gums and their interactions on the rheological properties of a dairy dessert: a mixture design approach. *Food Bioprocess Technology*, 6, 896–908
57. Torres, G., Andersen, J., & Giménez, A. (2010). Accurate masses and radii of normal stars: modern results and applications. *The Astronomy and Astrophysics Review*, 18(1-2), 67-126. <http://doi.org/10.1007/s00159-009-0025-1>
58. Vélez-Ruiz, J., Hernando, I., González-Tomás, L., Pérez-Munuera, I., Quiles, A., Tárrega, A., & Costell, E. (2006). Rheology and microstructure of custard model systems with cross-linked waxy maize starch. *Flavour and Fragrance Journal*, 21(1), 30-36.
59. Yin, M., Yang, D., Lai, S., & Yang, H. (2021). Rheological properties of xanthan-modified fish gelatin and its potential to replace mammalian gelatin in low-fat stirred yogurt. *LWT* 147: 111643.



## Isolation and Characterization of *Lactiplantibacillus plantarum* Bacteriocin from Fruit-based Fermented Products and its Comparison with Commercial Nisin

M. Noktehsanj Avval<sup>1</sup>, M. Hosseinienezhad<sup>2\*</sup>, A. Pahlavanlo<sup>3</sup>, H.B. Ghoddusi<sup>4</sup>

Received: 2021.12.13

Revised: 2022.02.08

Accepted: 2022.02.19

Available Online: 2022.05.15

### How to cite this article:

Noktehsanj Avval, M., Hosseinienezhad, M., Pahlavanlo, A., & Ghoddusi, H.B. (2023). Isolation and characterization of *Lactiplantibacillus plantarum* bacteriocin from fruit-based fermented products and its comparison with commercial nisin. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 19(2), 311-331. <http://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.74158.1122>

### Introduction

Lactic acid bacteria (LAB) and their bacteriocins are widely used as natural and safe preservatives in food products, to control both pathogenic and spoilage microorganisms. This study aimed to isolate and identify LAB from several traditionally produced fermented fruits and vegetables from different parts of Iran, screening their potentials for producing bacteriocin-like substances production and evaluate their antimicrobial activities against various pathogens. The effect of heat treatment and different pH values on the stability of bacteriocins were also assessed and compared with commercial nisin for their possible application in the food industry as an alternative to chemical preservatives.

### Materials and Methods

Lactic acid bacteria were isolated from several fermented products like hawthorn, mixed fruit pickles containing quince and apple, mango, and medlar. pickle, and The isolates were identified using phenotypic (physiological and biochemical) and genotypic (16S rDNA gene sequencing) methods followed by drawing phylogenetic tree based on the neighbor-joining method. The bacteriocins were prepared from the neutralized and cell-free supernatant (CFS). To precipitate the bacteriocins, ammonium sulfate (75%), potassium phosphate buffer, and methanol-chloroform were used, and extraction was completed with a high-speed centrifugation. After freeze-drying, the precipitate was kept as crude bacteriocin. The bacteriocin activity was measured by the critical method, and the effect of heat, storage time and pH on the stability of bacteriocins was evaluated. The minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum inhibitory bactericidal concentration (MBC) of the examined bacteriocins were determined on against the pathogenic strains of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and compared with commercial nisin.

### Results and Discussion

In this research, from 162 isolated strains of LAB, four isolates (10A, S6, Sa, and Ab) were selected based on the highest amount of antimicrobial compounds and diameter of the inhibitory zone against pathogenic strains. then the isolates were identified as different strains of *Lactiplantibacillus plantarum* (previously classified as *Lactobacillus plantarum*). The phylogenetic position of the isolates was determined by drawing a phylogenetic tree. The drawn tree

1, 2 and 3- Ph.D. Student, Professor and Assistant Professor, Department of Food Biotechnology, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran, respectively.

(\*- Corresponding author Email: [m.hosseinienezhad@rifst.ac.ir](mailto:m.hosseinienezhad@rifst.ac.ir))

4- Head, Microbiology Research Unit (MRU), Food Science (MSc), Course Leader School of Human Sciences, London Metropolitan University, London, UK

DOI: [10.22067/ifstrj.2022.74158.1122](http://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.74158.1122)

consists of two clusters and the first cluster consist of two sub-clusters, with two different strains of *L. plantarum* in each of them. In the next step, bacteriocin of the isolates was extracted using saturated ammonium sulfate and high-speed (23000g) centrifugingcentrifugation. Partially purified bacteriocins from different species showed high inhibitory effects on tested indicators, which were estimated, for *L. plantarum* 3360 (10A) and *L. plantarum* lb51 (Ab), 64000 AU/ml against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. All selected bacteriocins indicated a stable effect at different temperatures of 60 and 121°C for 20 min and 4 and -20°C for 6 months, this effect was the examined bacteriocins were also stable against at acidic and alkaline pHs too. Also, the inhibitory property decreased under very acidic (pH < 3) and very alkaline (pH > 8) conditions, but this reduction was not significant at the 95% confidence level. Bacteriocins with 64000 AU/mL activity had higher antimicrobial properties against the pathogens compared to an equal amount of commercial NiseenNisin-S (680 AU/mL). The results of MIC and MBC showed that isolates 10A and Ab have the highest inhibitory properties compared to other extracted bacteriocins and/or nisin. Since heat and chemical preservatives are used in food preparation, the stability of bacteriocins against heat and different pH is important, therefore, after extraction and purification, the extracted bacteriocins can be used as a biological preservative in the production of various food products in the range of acidic and alkaline pH, including juices, meat products, and sauces. Encapsulation of these peptides and their application in food products needs further investigation.

**Keywords:** Bacteriocin, *Lactiplantibacillus plantarum*, Phylogenetic tree, Sequencing

## مقاله پژوهشی

# جداسازی و تعیین ویژگی باکتریوسین حاصل از باکتری لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتاروم جدا شده از فراورده‌های تخمیری بر پایه میوه و مقایسه با نایسین تجاری

مهسا نکته سنج اول<sup>۱</sup> - مرضیه حسینی نژاد<sup>۲\*</sup> - ابوالفضل پهلوانلو<sup>۳</sup> - حمید بهادر قدوسی<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۲۲

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۱۱/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۳۰

## چکیده

در این پژوهش باکتری‌های اسید لاکتیک از چندین فراورده تخمیری بر پایه میوه (شامل فراورده تخمیری زالزالک، مخلوط میوه به و سیب ترش تخمیری، انبه تخمیری و ازگیل تخمیری)، جداسازی و از نظر ویژگی ضد میکروبی و تولید باکتریوسین مورد ارزیابی قرار گرفتند. بعد از انجام آزمون‌های فنوتیپی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی، از مجموع ۱۶۲ سویه جدا شده، چهار سویه اسید لاکتیک، با تولید بیشترین مقدار باکتریوسین بر مبنای قطر هاله بازدارندگی جداسازی و با استفاده از روش تعیین توالی 16S rDNA به عنوان سویه‌های مختلف لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتاروم شناسایی شدند. باکتریوسین‌های سویه‌های انتخابی که با کمک آمونیوم سولفات استخراج و بطور نسبی خالص‌سازی گردیدند قابلیت ممانعت‌کنندگی از رشد، در برابر شاخص‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کلی*، *سالمونلا تایفی موریوم* و *لیستریا مونوسیتوژنز* از خود نشان دادند. فعالیت ضد میکروبی باکتریوسین‌های هر چهار سویه در حرارت‌های ۶۰ و ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه پایدار بود و این ویژگی در دماهای ۴ و ۲۰- درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ماه حفظ شد. پایداری قدرت بازدارندگی در محدوده pH (۸-۳) با کاهش معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) در pH‌های پایین‌تر از ۳ و بالاتر از ۸ گزارش گردید. میانگین MIC باکتریوسین‌ها، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر و با نایسین در رقت ۶۸۰ Au/ml داشت ( $p < 0.05$ ) و باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* حساسیت بیشتری از *اشریشیا کلی* در برابر باکتریوسین‌ها از خود نشان داد. باکتریوسین‌های تخلیص شده در مقایسه با نایسین تجاری، قدرت ضد میکروبی بالاتری در برابر سویه‌های بیماری‌زای مورد بررسی داشتند. از آنجایی که در فرایند تولید و فرآوری محصولات غذایی حرارت و pH به عنوان دو عامل کلیدی هستند، پایداری ویژگی ضد میکروبی باکتریوسین در برابر حرارت و pH‌های مختلف قابلیت استفاده این ترکیبات زیستی به عنوان نگهدارنده ایمن در فراورده‌های مختلف و امکان جایگزینی نایسین با ترکیبات باکتریوسین تخلیص شده را نشان می‌دهد. پژوهش در خصوص ریزپوشانی و بکارگیری باکتریوسین‌های استحصالی در فراورده‌های غذایی ادامه دارد.

**واژه‌های کلیدی:** باکتریوسین، توالی‌یابی، درخت فیلوژنتیکی، لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتاروم

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانش‌آموخته دکتری، استاد و استادیار گروه زیست‌فناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

(\*)- نویسنده مسئول: (Email: [m.hosseininezhad@rifst.ac.ir](mailto:m.hosseininezhad@rifst.ac.ir))

۴- دانشیار، واحد تحقیقات میکروبیولوژی (MRU)، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه متروپولیتن لندن، لندن، انگلستان



## مقدمه

از زمان‌های کهن، تخمیر به‌عنوان یک روش آسان و کاربردی برای جلوگیری از فساد سبزی‌ها و میوه‌ها جهت بهبود خواص تغذیه‌ای و ویژگی‌های حسی این فراورده‌ها مورد استفاده قرار می‌گرفته است (Ashtiani et al., 2020). فراورده‌های تخمیری بر پایه میوه و سبزی عمدتاً حاوی گروه متنوعی از باکتری‌های اسیدلاکتیک هستند که علاوه بر بهبود هضم و افزایش مقدار ویتامین‌ها، قابلیت تولید ترکیبات ضد میکروبی را داشته و نقش بی‌بدیلی در تثبیت جمعیت میکروبی مفید روده دارند (Grosu-Tudor and Zamfir, 2011). مهم‌ترین جنس‌های باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB) شامل لاکتوباسیلوس، لاکتوکوکوس، استرپتوکوکوس، انتروکوکوس و اسپورولاکتوباسیلوس می‌باشند (Rodríguez et al., 2012). یکی از گونه‌های باکتری‌های اسید لاکتیک، ساپروفیتی به نام لاکتی پلانتری باسیلوس پلانتروم است (Singh and Sethi, 2018) که در تولید فراورده‌های تخمیری مانند گوشت و فراورده‌های گوشتی (Garriga et al., 1993)، نوشیدنی‌های تخمیری (Navarro et al., 2000)، خمیر ترش (Todorov et al., 1999)، پنیر (Gonzalez et al., 1994)، خیار تخمیر شده و زیتون (Jiménez-Díaz et al., 1993)، آناناس و عصاره گریپ فروت (Kelly et al., 1996) و بسیاری از منابع غذایی دیگر نقش عمده‌ای دارد. این باکتری که در گذشته لاکتو باسیلوس پلانتروم نامیده می‌شد (Zheng et al., 2020)، به عنوان آغازگر کشت در تهیه بسیاری از فراورده‌های تخمیری مورد استفاده قرار می‌گیرد.

بسیاری از سویه‌های لاکتی پلانتری باسیلوس پلانتروم مواد ضد-میکروبی بنام باکتریوسین تولید می‌کنند (Blana et al., 2014). باکتریوسین‌ها دارای خواص فراسودمند بسیاری از جمله سمیت پایین، قابلیت بازدارندگی از رشد سویه‌های بیماری‌زا در هر دو طیف زنجیره پپتیدی کوتاه (با تعداد اسید آمینه کم) و زنجیره بلند، قابلیت تولید توسط گونه‌های مختلفی از باکتری‌های اسید لاکتیک بوده و به‌عنوان جایگزینی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها و نگهدارنده‌های شیمیایی شناخته شده‌اند (Noktehsanj Hosseiniyehzad and Yazdi, 2016; Avval et al., 2023). این ترکیبات ضد میکروبی به‌عنوان پپتیدهای زیست فعال ریبوزومی با افزایش نفوذپذیری غشای سیتوپلاسمی سلول‌های هدف، انتشار ذرات کوچک سیتوپلاسمی، دیپلاریزاسیون پتانسیل غشایی، ایجاد نیروی حرکتی پروتون جهت تشکیل منفذ در دیواره سلولی، غیر فعال‌سازی لیپید II از بین بردن پتانسیل غشایی و کاهش غلظت ATP درون سلولی باعث مرگ سلول هدف می‌شوند (Zheng et al., 2020).

باکتریوسین‌های تولید شده توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک بدلیل القاء ویژگی بازدارندگی در برابر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و عوامل فساد در مواد غذایی و بدلیل امکان استفاده بالقوه در حفظ و نگهداری مواد غذایی به‌عنوان نگهدارنده بیولوژیک طبیعی و ایمن توجه پژوهشگران را به خود جلب کرده است (Gálvez et al., 2007). از دیگر سو نگرانی‌های اخیر ایجاد شده در حوزه پزشکی به‌دلیل ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی در برابر بسیاری از سویه‌های بیماری‌زا، سبب شده تا استفاده از باکتریوسین‌ها در حوزه سلامت، به‌عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌ها و خصوصاً از بین بردن باکتری‌های بیماری‌زا اهمیت پیدا کند (Calo-Mata et al., 2008). به طور کلی باکتریوسین‌های جدا شده از لاکتی پلانتری باسیلوس پلانتروم پلانتراسین نامیده می‌شوند (Chen et al., 2018). که اکثر آن‌ها مانند پلانتراسین (Tiwari and Srivastava, 2008) LR14 و پلانتراسین SR18 (El-Shouny et al., 2020) فعالیت مهارتی زیادی علیه سویه‌های بیماری‌زا نظیر لیستریا مونوسیتوژنز نشان می‌دهند. باکتریوسین‌های استخراج شده از لاکتوباسیلوس‌ها، به‌دلیل حفظ ویژگی مهارتی در برابر فرایندهای مختلف حرارتی، اسیدی، قلیایی و همچنین طیف وسیعی از بیماری‌زاهای گرم مثبت و منفی قابلیت کاربرد به‌عنوان متابولیت‌های ضد میکروبی طبیعی در فراورده‌های غذایی و دارویی دارند (Alizadeh Behbahani et al., 2021).

بررسی منابع متعدد نشان داد که تاکنون تمرکز اکثر پژوهش‌ها در ارتباط با جداسازی سویه‌های تولیدکننده باکتریوسین از فراورده‌های لبنی بوده و در زمینه فراورده‌های تخمیری بر پایه میوه و سبزی پژوهش‌های کمتری صورت گرفته است. همچنین در پژوهش‌های پیشین بیشتر به جداسازی سویه‌های اسیدلاکتیک تولیدکننده باکتریوسین پرداخته شده است در حالی که جداسازی و خالص‌سازی باکتریوسین به‌عنوان یک موضوع جدید طی چند سال گذشته مورد بحث و توجه است. تاکنون جداسازی و خالص‌سازی باکتریوسین از تعداد اندکی از فراورده‌های تخمیری بر پایه میوه نظیر آناناس و عصاره گریپ فروت تخمیری (Kelly et al., 1996)، ترشی کلم پیچ (Xiang et al., 2021)، زغال اخته تخمیر شده (Kumari et al., 2018) صورت پذیرفته است، علاوه بر این در مورد لاکتی پلانتری باسیلوس پلانتروم و سایر باکتری‌های اسید لاکتیک بیشتر به ویژگی ضد-میکروبی آنها در مورد سویه‌های هم نوع خود (باکتری‌های گرم مثبت) و همچنین ویژگی ضد لیستریایی بعضی از آن‌ها پرداخته شده و ویژگی ضد میکروبی سایر بیماری‌زاهای گرم منفی چندان مورد بررسی واقع نشده است. در این پژوهش علاوه بر سویه‌های گرم مثبت، اثر

ظاهری انتخاب گردد و کپک و مخمر احتمالی موجود در نمونه از بین برود سپس جهت رشد کلنی‌ها پلیت‌ها در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  تحت شرایط کاملاً بی‌هوازی به مدت ۲۴-۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند (Ahn *et al.*, 2017; Attar *et al.*, 2081).

### تعیین ویژگی آنتاگونیستی سویه‌ها علیه باکتری‌های شاخص

این آزمون با روش کشت نقطه‌ای بر روی آگار (Agar spot) و کشت دو لایه انجام گردید. بدین منظور جدایه‌ها در محیط MRS براث در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند، سپس ۲ میکرولیتر از این محیط بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار به روش Agar spot کشت شد. بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  درجه‌سانتی‌گراد و رویش کلنی‌ها، محیط کشت مولر هینتون با آگار نرم (۸٪ درصد) که با باکتری شاخص با دوز  $10^8$  CFU/mL تلقیح شده بود بر روی محیط قبلی اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت دیگر جهت بررسی ویژگی بازدارندگی و اندازه‌گیری هاله عدم رشد، در  $37^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد (Fagundes *et al.*, 2017).

### شناسایی باکتری‌های LAB بر مبنای آزمایش‌های فنوتیپی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

به منظور شناسایی اولیه جدایه‌ها آزمایش‌های رنگ آمیزی گرم، تست کاتالاز و ایندول طبق روش (Hwanhlem *et al.*, 2017)، آزمون تولید گاز از گلوکز در محیط کشت MRS براث حاوی لوله دورهام و گلوکز به روش (Ahn *et al.*, 2017)، آزمون توانایی رشد سویه‌های اسید لاکتیک در pH های (۲، ۴ و ۶/۵ تنظیم شده با اسید کلریدریک یک مولار)، آزمایش رشد در دماهای مختلف (۱۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد) و توانایی رشد در غلظت‌های مختلف نمک (۲، ۴ و ۶/۵ درصد) به روش (Ebrahimi *et al.*, 2016) انجام شد. آزمون تخمیر کربوهیدرات‌ها، با استفاده از محیط کشت پایه MRS براث بدون گلوکز و عصاره گوشت گاو<sup>۲</sup> با غلظت کلروفنل رد ۰/۰۴ درصد تهیه و پس از انجام آزمایش، نتایج تخمیر کربوهیدرات‌ها با جدول استاندارد برگی مقایسه شد. قندهای ساکارز، گلوکز، لاکتوز، آرابینوز، مانیتول، زایلوز، گالاکتوز، مالتوز و فروکتوز مورد استفاده قرار گرفتند (Ebrahimi *et al.*, 2016).

### انگشت نگاری ژنومی (RAPD)<sup>۳</sup>

باکتریوسین‌های استخراج شده از فراورده‌های بومی بر چند سویه گرم منفی نیز بررسی شده است.

پژوهش حاضر که با هدف بهره‌گیری از منابع اولیه جدید بر پایه فراورده‌های تخمیری غیر لبنی، عمدتاً فراورده تخمیری بر پایه میوه برای جداسازی سویه‌های اسید لاکتیک تولیدکننده باکتریوسین صورت گرفته، سعی دارد پس از جداسازی و خالص سازی نسبی باکتریوسین با نمونه‌های تجاری مشابه مانند ناپسین که طی سالیان متمادی در تولید و نگهداری انواع محصولات غذایی (لبنی و غیر لبنی) کاربرد داشته است مقایسه گردد. همچنین کارایی ضد میکروبی باکتریوسین استحصالی برای از بین بردن هر دو طیف باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت، در دماها و pH های مختلف و مدت زمان نگهداری در دمای انجماد و یخچالی مورد ارزیابی قرار گیرد.

### مواد و روش‌ها

#### مواد خام و سویه‌های استفاده شده

محیط‌های کشت استفاده شده در این پژوهش شامل MRS<sup>۱</sup> براث، MRS آگار، مولر هینتون براث، مولر هینتون آگار و آگار-آگار از شرکت شارلو فرانسه و مرک آلمان، کربوهیدرات‌های گلوکز، ساکارز، لاکتوز، آرابینوز، مانیتول، زایلوز، گالاکتوز، مالتوز، فروکتوز از شرکت‌های داخلی و سیگما آلدریج، پرایمرها و مستر میکس به ترتیب از شرکت‌های سیناکلون و دنازیست، سویه‌های بیماری‌زا شامل، لیستریا مونوسیتوجنز PTCC ۱۱۶۵، اشریشیا کلی ATCC ۲۵۹۲۳، سالمونلا انتریکا سرووار تایفی موریوم PTCC ۱۶۰۹، استافیلوکوکوس اورئوس ATCC ۲۵۹۲۲ و لاکتوباسیلوس رئوتری به عنوان سویه تولید کننده باکتریوسین و سویه کنترل مثبت، از آزمایشگاه میکروبی موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی (RIFST)، فراورده‌های تخمیری بر پایه میوه، مخلوط میوه تخمیری حاوی به و سیب ترش، فراورده تخمیری زالزالک، انبه و ازگیل، که بومی ایران بودند از بازارهای محلی و ناپسین تجاری Niseen – S از شرکت (Siveele) هلند خریداری شدند.

#### جداسازی سویه‌های اسید لاکتیک بومی

جهت جداسازی سویه‌های اسید لاکتیک از فراورده‌های تخمیری بر پایه میوه مقدار ۱۰ گرم از هر یک از نمونه‌ها در ۹۰ میلی‌لیتر از پیتون واتر استریل همگن و بعد از تهیه رقت‌های متوالی، کشت سطحی بر روی محیط کشت MRS آگار حاوی بتا هگزامید و سیکلودکسترین انجام شد تا کلنی‌های متفاوت از نظر ویژگی‌های

2- Beef extract

3- Random amplification of polymorphic DNA

1- De Man, Rogosa and Sharpe

درخت فیلوژنتیکی با استفاده از توالی‌های جدایه‌ها و توالی سویه های مرجع از NCBI به دست آمد بر اساس روش آماری و neighbor - joining و با نرخ خود راه انداز ۱۰۰۰۲ تکرار رسم و از /شریشیا کلی به عنوان برون از گروه<sup>۳</sup> استفاده گردید. این درخت موقعیت فیلوژنتیکی جدایه‌های بدست آمده از نمونه‌های نام برده شده در قسمت جمع‌آوری نمونه را نسبت به هم نشان می‌دهد (Schliep, 2011).

### خالص‌سازی نسبی باکتریوسین

پس از تلقیح جدایه‌ها در محیط کشت MRS براث، به مدت ۴۸ ساعت در گرمخانه ۳۵ درجه‌سانتی‌گراد قرار داده شدند. به منظور کاهش فعالیت مهاري اسیدهای آلی تولید شده در محیط، سوپرناتانت عاری از سلول به کمک سود ۱۰N، خنثی و در محدوده pH = ۶/۵-۷ با تنظیم گردید. برای خنثی شدن اثر آب اکسیژنه، آنزیم کاتالاز با غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به سوپرناتانت عاری از سلول اضافه شد. ترکیبات باکتریوسینی با استفاده از سولفات آمونیوم ۷۵ درصد ترسیب داده شده و ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای رسوب دهی بیشتر باکتریوسین همگن شد. در مرحله بعد یک ساعت با دور ۲۳۰۰۰g در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید، به رسوب حاصله بافر فسفات پتاسیم با pH = ۷ به نسبت ۱:۱ و محلول متانول - کلروفرم به نسبت ۲ به ۱ باکتریوسین ته نشین شده اضافه و بعد از یک ساعت سانتریفیوژ با تنظیمات قبلی، در آب دو بار تقطیر استریل حل و دوباره سانتریفیوژ گردید (Shokri et al., 2013).

### سنجش تیتراژ یا عیار باکتریوسین خام

این آزمایش با استفاده از روش کریتیکال<sup>۴</sup> انجام گرفت، بدین ترتیب که بعد از تهیه محیط‌های کشت MRS براث و تلقیح جدایه‌ها در آن، به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه‌سانتی‌گراد گرمخانه - گذاری شدند، به منظور کاهش فعالیت مهاري اسیدهای آلی تولید شده توسط سویه‌های اسیدلاکتیک، pH سوپرناتانت به کمک سود ۱۰N، خنثی و در محدوده ۶/۵-۷ تنظیم گردید. برای خنثی شدن اثر آب اکسیژنه، از آنزیم کاتالاز به غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به سوپرناتانت عاری از سلول اضافه شد و به مدت ۴۸ ساعت در دستگاه فریز درایر R-114 / Operon (Korea) جهت تغلیظ قرار گرفت. درون میکروتیوپ‌های استریل از سوپرناتانت تغلیظ شده رقت ۱۰<sup>-۱</sup> تا ۱۰<sup>-۱۲</sup> تهیه گردید و بعد از کشت چمنی سویه‌های شاخص در محیط MHA، با رقت نیم مک فارلند، چاهک‌ها ایجاد شدند. بعد از

این آزمون بر اساس توالی‌های تکراری ژنومی با استفاده از تکنیک RAPD انجام گردید. جهت تکثیر ژنوم جدایه‌ها، از پرایمر GTG (M13) تهیه شده از شرکت سیناکلون استفاده و محصول واکنش بر روی الکتروفورز با ژل ۱/۵ درصد تفکیک و در زیر دستگاه ژلداک مشاهده گردید بهینه سازی واکنش در حجم کلی ۲۵ میکرولیتر حاوی ۱۲/۵ میکرولیتر از مستر میکس آماده ۲X آمپلیکون (دنازیست)، ۱/۵ میکرولیتر پرایمر GTG- M13 (دنازیست) و ۱/۵ میکرولیتر DNA هدف در دستگاه ترموسایکلر (BIO- RAD، U.S.A) انجام گردید (Tafvizi et al., 2012).

### آنالیز پروفایل‌های باندی حاصل از PCR - rep

بعد از بدست آمدن پروفایل‌های باندی برای هر گونه، وجود یا عدم وجود باند در هر ردیف با کدهای یک و صفر (کدهای اسکی یا binary) در نرم‌افزار Excel مشخص گردید و سپس با انتقال این کدها و اعداد از نرم‌افزار Excel به نرم‌افزار 'MVSP ver.3.1'، میزان شباهت الگوها با استفاده از ضریب Simple Matching Coefficient بیان گردید (Tafvizi et al., 2012).

### شناسایی تکمیلی باکتری‌های LAB بر مبنای آنالیز توالی قطعه rDNA ۱۶S (PCR)

توالی‌یابی و شناسایی دقیق ایزوله‌ها به روش مولکولی و تکثیر ژن ۱۶S rRNA که بر اساس نواحی محافظت شده این ژن عمل می‌کند، انجام گردید. واکنش در یک مخلوط ۲۰ میکرولیتری در دستگاه ترموسایکلر (BIO- RAD، آمریکا) با استفاده از پرایمرهای عمومی F: P8FPL با توالی AGTTTGATCCTGGCTCAG و R: p8806R با توالی GGACTACCAGGTATCTAAT (Ferchichi et al., 2007). بعد از انجام PCR و مشاهده الگوی باندی مناسب در الکتروفورز محصولات PCR برای توالی‌یابی به شرکت ژن فن آوران (تهران) ارسال شدند، توالی‌یابی به وسیله Cycle extention در دستگاه توالی‌کننده API 373 DNA Sequencer (آمریکا) با استفاده از پرایمر پیشرو P8FPL انجام و توالی‌های بدست آمده با توالی‌های اطلاعاتی موجود در Gen Bank با کمک برنامه Blast در پایگاه NCBI (Cotter et al., 2012) http://www.ncbi.nlm.nih.gov مقایسه گردید.

### درخت فیلوژنتیکی

- 2- Bootstrap
- 3- Outgroup
- 4- Critical Method

- 1- MultiVariate Statistical Package

و معادل کدورت نیم مک فارلند باکتری به تمامی چاهک‌ها به استثنای چاهک کنترل منفی (حاوی باکتریوسین و محیط کشت) اضافه گردید، بعد از ۳۰ ثانیه یکنواخت سازی روی شیکر جذب نوری با استفاده از دستگاه الایزاید (chromTech، آلمان) در ساعت صفر و در طول موج ۶۲۰ نانومتر خوانده شد و بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه-گذاری در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد مجدداً با دستگاه الایزاید میزان کدورت خوانده شد. کمترین غلظتی که کدورت نداشت و رشد باکتری در آن مشاهده نشد بعنوان MIC گزارش گردید. جهت انجام تست MBC که بیانگر حداقل غلظت کشندگی هست از چاهک‌های فاقد کدورت (غلظت MIC و بیشتر از آن) مقدار ۱۰ میکرولیتر بر روی محیط کشت مولهینتون آگار تلقیح شده با شاخص‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* با رقت ۱۰<sup>۶</sup>، کشت داده شد، بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد، کمترین رقتی که ۹۹/۹ درصد باکتری‌ها را از بین برده بود به عنوان رقت MBC در نظر گرفته شد (Thomas and Delves- Broughton, 2005).

### آنالیز آماری

تمامی آزمون‌ها به غیر از شناسایی مولکولی میکروارگانیسم‌ها، در سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها (ANOVA) با استفاده از مدل (۲F1) نرم افزار آماری SPSS (ویرایش ۱۶) در سطح احتمال ۹۵ درصد ( $p < 0.05$ ) و آزمون توکی (tukey) برای تایید وجود اختلاف بین میانگین‌ها انجام گرفت (Miraei Ashtiani et al., 2022).

### نتایج و بحث

#### جمع‌آوری نمونه و جداسازی سویه‌ها

در این بررسی از فراورده‌های تخمیری کمتر شناخته شده بر پایه میوه شامل ترشی مخلوط میوه‌های به و سیب ترش، فراورده تخمیری زالزالک، ترشی انبه و ترشی ازگیل که بجز انبه بقیه محصولات بومی ایران و از استان‌های مختلف تهیه شده بودند، استفاده گردید، در مجموع ۱۶۲ جدایه اسید لاکتیک پس از انجام آزمون‌های فنوتیپی و بیوشیمیایی شناسایی شدند که در مقایسه با جدول برگ ۷۰٪ از گروه لاکتوباسیلوس‌های هتروفرمانتاتیو اختیاری و به‌عنوان لاکتی پلانتی باسیلوس پلانتاروم و ۱۰٪ جدایه‌ها از گروه لاکتوباسیلوس‌های هوموفرمانتاتیو اختیاری- اجباری به عنوان لاکتوباسیلوس /اسیدوفیلوس و ۱۰٪ جدایه‌ها بصورت ناشناخته باقی ماندند. از بین سویه‌های شناخته شده، جدایه‌های با کدهای Ab- جدا شده از ترشی ازگیل، Sa- از فراورده تخمیری زالزالک، S6- از ترشی انبه و ۱۰A-

بارگذاری ۸۰ میکرولیتر از هر رقت درون چاهک‌ها، جهت انتشار بهتر، پلیت‌ها به مدت نیم ساعت در یخچال قرار گرفته و بعد از ۱۸ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد، از نظر هاله عدم رشد بررسی و با فرمول زیر محاسبه شدند (Ashari et al., 2019)

$$AU/mL = 2^n (1000 \div 80) \quad (1)$$

n: شماره آخرین چاهکی است که هاله رویت می‌گردد.

### بررسی اثر حرارت، زمان و pH بر فعالیت باکتریوسین تولیدی

باکتریوسین‌های خالص شده از سویه‌های مختلف در معرض تیمار حرارتی ۶۰ و ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند، سپس از نظر ویژگی بازدارندگی بررسی شدند (Udhayashree et al., 2012). جهت بررسی اثر مدت زمان نگهداری باکتریوسین استحصال شده در دمای ۴ و ۲۰- درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ماه تحت شرایط استریل در یخچال و فریزر نگهداری و از نظر ویژگی بازدارندگی بررسی شدند (Udhayashree et al., 2012).

به‌منظور بررسی اثر pH، باکتریوسین‌های خالص شده از سویه‌های مختلف با استفاده از NaOH و HCl ۵ مولار در معرض pH-های مختلف (۲-۱۰) قرار گرفتند و بعد از ۲ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای اتاق به pH = ۷ تنظیم و از نظر ویژگی بازدارندگی با آزمایش چاهک‌گذاری در محیط مولر هینتون آگار بررسی شدند (Udhayashree et al., 2012).

### مقایسه باکتریوسین‌های استخراج شده با نایسین تجاری به آزمون MIC و MBC<sup>۱</sup>

نایسین تجاری S - Niseen (Siveele)، با غلظت ppm ۱۰۰۰۰۰ در اسیدکلریدریک ۰/۰۲ نرمال تهیه و با استفاده از فیلتر ۰/۲۲ میکرومتری استریل شد، غلظت‌های ppm ۵۰۰۰، ۲۵۰۰، ۱۲۵۰۰، ۶۲۵۰ و ۳۱۲۵ با استفاده از آب مقطر استریل آماده گردید (Ashari et al., 2019) و با رقت‌های مختلف تهیه شده از باکتریوسین‌های نیمه خالص شده که همانند روش آماده سازی نایسین تهیه شده بودند، از نظر حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و کشندگی (MBC) در میکروپلیت‌های ۹۶ چاهکی استریل و با روش میکروودیلوشن براث مورد مقایسه قرار گرفتند، ابتدا ۱۰۰ μl محیط کشت مولر هینتون براث در هر یک از چاهک‌ها توزین و از رقت‌های مختلف تهیه شده از باکتریوسین به حجم ۱۰۰ μl به چاهک‌ها اضافه

1- Minimum Inhibitory Concentration  
2- Minimum Bactericidal Concentration

جدا شده از ترشی مخلوط میوه حاوی به و سیب ترش، به عنوان سویه‌های با بیشترین مقدار باکتریوسین و قوی‌ترین ویژگی بازدارنده از رشد سویه بیماری‌زا، انتخاب و مورد آنالیزهای بعدی قرار گرفتند.

### نتایج آزمایش‌های فنوتیپی، فیزیولوژی و بیوشیمیایی جهت شناسایی جدایه‌ها تولید گاز از گلوکز

نتایج آزمون‌های فنوتیپی و فیزیولوژیکی به همراه آزمون تولید گاز از گلوکز برای هر ۴ جدایه انتخاب شده از فراورده‌های مختلف در

**جدول ۱**، آورده شده است. آزمون تولید گاز از گلوکز نشان دهنده همو و هترو فرمانتاتیو بودن باکتری است. باکتری‌های هتروفرمانتاتیو علاوه بر داشتن آنزیم آلدولازی دارای آنزیم فسفوکتولازی نیز هستند که به آن‌ها اجازه می‌دهد پنتوزها را به لاکتات و استات تبدیل و گاز CO<sub>2</sub>، اسید و الکل تولیدکنند (Ebrahimi et al., 2016)، نتایج نشان داد جدایه‌ها جزء گروه لاکتوباسیلوس‌های گرم مثبت و کاتالاز منفی هستند و جدایه‌های ۱۰A، Ab و سویه کنترل در ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری از نظر تولید گاز مثبت و هتروفرمانتاتیو بودند.

جدول ۱- ویژگی‌های مورفولوژی و فنوتیپی جدایه‌های حاصل از فراورده‌های تخمیری بر پایه میوه

Table 1- Morphological and phenotypic characteristics of isolates obtained from fruit-based fermented products

| شکل کلنی (Colony form)     | مورفولوژی (Morphology) | گرم (Gram) | کاتالاز (Catalase) | ایندول (Indole) | تولید گاز از گلوکز (Gas production from glucose) | محصول (Product)                                                                          | جدایه (Isolate) |
|----------------------------|------------------------|------------|--------------------|-----------------|--------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| کنگره دار (Crenate)        | باسیلی (Rod)           | +          | -                  | -               | +                                                | ترشی مخلوط میوه حاوی به و سیب ترش (Pickled mixed fruit containing quince and sour apple) | 10A             |
| دیواره صاف (Smooth wall)   | باسیلی (Rod)           | +          | -                  | -               | -                                                | انبه تخمیری (Fermented mango)                                                            | S6              |
| دیواره صاف (Smooth wall)   | باسیلی (Rod)           | +          | -                  | -               | -/+                                              | زالزالک تخمیری (Fermented hawthorn)                                                      | Sa              |
| کلنی مقعر (Concave colony) | باسیلی (Rod)           | +          | -                  | -               | +                                                | ازگیل تخمیری (Fermented medlar)                                                          | Ab              |

10A: لاکتی پلاننتی باسیلوس پلانتاروم گونه ۳۳۶۰: V3؛ لاکتی پلاننتی باسیلوس پلانتاروم گونه ۱۹: Heal 19؛ لاکتی پلاننتی باسیلوس پلانتاروم گونه ۷۲۳۲: Ab؛ لاکتی

پلاننتی باسیلوس پلانتاروم گونه Lan4.

10A: L. plantarum strain 3360; V3 L. plantarum strain Heal 19; S6: L. plantarum strain 7232; Sa: L. plantarum strain lb51; Ab: L. plantarum strain Lan4..

### تخمیر کربوهیدرات‌ها

نتایج این بررسی روی کربوهیدرات‌های گلوکز، ساکارز، لاکتوز، آرابینوز، مانیتول، زایلوز، گالاکتوز، مالتوز و فروکتوز نشان داد، هر چهار جدایه کربوهیدرات‌های مانیتول، گلوکز و ساکارز را که قندهای مونو ساکاریدی و آلدوهگروز هستند، بهتر از قندهای زایلوز و آرابینوز که مونو ساکاریدی و آلدو پنتوز هستند، تخمیر کرده و افشره سلولی بیشتری تشکیل می‌دهند. سویه‌های جدا شده در محیط‌های حاوی قندهای زایلوز و آرابینوز هیچگونه تغییر رنگی ایجاد نکردند (شکل ۱، **جدول ۲**). نتایج این پژوهش با نتایج حاصل از بررسی گروسو-تودور و زمفیر (Grosu-Tudor and Zamfir, 2011) در خصوص جداسازی و شناسایی مولکولی سویه‌های اسیدلاکتیک از سبزیجات تخمیری بومی رومانی و نتایج حاصل از زتاوسکا و همکاران (Szutowska et

al., 2021) در رابطه با جداسازی باکتری اسید لاکتیک از کلم پیچ تخمیری همخوانی نزدیکی داشت.

### توانایی رشد در دماهای مختلف

هر چهار سویه تولیدکننده باکتریوسین در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد قادر به رشد در مدت زمان کمتری (۲۴ ساعت) نسبت به دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد (۷۲ ساعت) بودند. با توجه به نتایج (**جدول ۳**)، جدایه‌ها در دماهای پایین‌تر به مدت زمان بیشتری برای رشد نیاز داشته و کلنی‌های ریزتری را تشکیل دادند و شاید این موضوع یکی از علل تخمیر طولانی مدت در فراورده‌های تخمیری، جهت رسیدن به طعم و بوی مطلوب، رشد و آداپتاسیون دیر هنگام باکتری‌های اسید لاکتیک در دمای پایین باشد. نتایج این بررسی با نتایج ابراهیمی و



همکاران (Ebrahimi et al., 2016) جداسازی و شناسایی مولکولی لاکتوباسیلوس برویس از سرکه بومی و بررسی کاظمی پور و همکاران (Kazempoor et al., 2012) جداسازی سویه‌های اسیدلاکتیک از سبزیجات تخمیری همخوانی داشت.



شکل ۱- تخمیر قندهای مختلف توسط جدایه‌ها (لوله‌های قرمز رنگ عدم تخمیر قند زایلوز و آرابینوز)

Fig. 1- fermentation of different sugars by the isolates (red colored tubes of non-fermentation of xylose and arabinose sugars)

جدول ۲- تخمیر کربوهیدرات‌های مختلف توسط سویه‌های تولیدکننده باکتریوسین

Table 2- Fermentation results of different carbohydrates by bacteriocin-producing strains

| جدایه<br>Isolate | فروکتوز<br>Fructose | مالتوز<br>Maltose | گالاکتوز<br>Galactose | زایلوز<br>Xylose | ماننیتول<br>Mannitol | آرابینوز<br>Arabinose | لاکتوز<br>Lactose | گلوکز<br>Glucose | ساکارز<br>Sucrose |
|------------------|---------------------|-------------------|-----------------------|------------------|----------------------|-----------------------|-------------------|------------------|-------------------|
| 10A              | +                   | +                 | +                     | -                | +                    | -                     | +                 | +                | +                 |
| S6               | +                   | +                 | +                     | -                | +                    | -                     | +                 | +                | +                 |
| Ab               | +                   | +                 | +                     | -                | +                    | +/-                   | +                 | +                | +                 |
| Sa               | +                   | +                 | +                     | -                | +                    | -                     | +                 | +                | +                 |
| Ctr              | +                   | +                 | +                     | -                | +                    | -                     | +                 | +                | +                 |

10A: (-) لاکتی پلاتنتی باسیلوس پلانتاروم گونه ۳۳۶۰؛ V3: لاکتی پلاتنتی باسیلوس پلانتاروم گونه S6: لاکتی پلاتنتی باسیلوس پلانتاروم گونه ۷۲۳۲؛ Ab:

لاکتی پلاتنتی باسیلوس پلانتاروم گونه Ctr: کنترل.

10A: *L. plantarum* strain 3360; V3 *L. plantarum* strain Heal 19; S6: *L. plantarum* strain 7232; Sa: *L. plantarum* strain lb51; Ab: *L. plantarum* strain Lan4; Ctr: Control.

عدم تخمیر قند، (+) انجام تخمیر، (+/-) تخمیر خیلی کم

no sugar fermentation, (+) fermentation, (-/+) very little fermentation(-)

## توانایی رشد در غلظت‌های مختلف نمک

نمک به‌عنوان یک فاکتور موثر برای ممانعت از رشد میکروارگانیسم‌های ایجاد کننده فساد که مقاوم به نمک نیستند و رشد سویه‌های اسیدلاکتیک در فراورده‌های تخمیری است. بر طبق نتایج حاصل از پژوهش علی‌زاده و همکاران (Alizadeh et al., 2010) در این فراورده‌ها افزودن نمک در غلظت ۴ درصد، باعث افزایش جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک به مقدار  $10^9$  CFU/mL شده و با افزایش مقدار نمک به بیشتر از ۵ درصد، کاهش نیم لگاریتمی در جمعیت میکروبی صورت می‌گیرد. از دیگر سو با توجه به گزارشات پرسولسی و همکاران (Persulesy et al., 2020) سطح بالای نمک باعث مرگ میکروارگانیسم‌های ایجاد کننده فساد می‌شود که در برابر نمک مقاوم نیستند، این شرایط انتخابی زمینه رشد برای

میکروارگانیسم‌های مقاوم در برابر نمک از جمله باکتری‌های اسید لاکتیک را فراهم می‌آورد. در شرایط خاص، نمک افزوده شده با ایجاد فشار اسمزی بالا و کاهش فعالیت آبی به‌عنوان یک نگهدارنده عمل می‌کند و در نهایت باعث حذف سویه‌های رقیب می‌شود. بنابر این فعالیت باکتری‌های اسیدلاکتیک باعث رسیدن سریعتر فراورده‌های تخمیری نسبت به حالت کنترل (نمونه‌های بدون نمک) می‌گردد. با توجه به نتایج (جدول ۳) در محتوای نمک ۲ و ۴ درصد هر چهار جدایه در محیط کشت MRS براث کدورت تشکیل دادند تشکیل کدورت و پالیده ته نشست میکروبی (افشرد) در نمونه Sa در محتوای نمک ۶/۵ درصد ضعیف‌تر از دیگر جدایه‌ها بود. در این آزمایش محتوای نمک ۴ درصد محیط مناسبی برای رشد باکتری‌های اسید لاکتیک شناسایی شد. نتایج این بررسی با نتایج ابراهیمی و همکاران (Ebrahimi et al., 2016) در مورد جداسازی و شناسایی

1- colony-forming unit



مولکولی لاکتوباسیلوس برویس از سرکه بومی، و نتایج علی‌زاده و همکاران (Alizadeh et al., 2010) تاثیر نمک بر رشد و ویژگی ضدمیکروبی باکتری‌های اسید لاکتیک جدا شده از خمیر ترش نان های سنتی و بررسی کاظمی پور و همکاران (Kazemipoor et al., 2012) جداسازی سویه‌های اسیدلاکتیک از سبزیجات تخمیری و بررسی گروسو-تودور و زمفیر (Grosu-Tudor and Zamfir, 2011) جداسازی و شناسایی مولکولی سویه‌های اسیدلاکتیک از سبزیجات تخمیری بومی رومانی همخوانی نزدیکی را نشان می‌دهد.

### توانایی رشد در pHهای مختلف

با توجه به نتایج (جدول ۳) هیچ یک از جدایه‌های مورد آزمایش در pH = ۲ رشدی نداشت ولی تقریباً تمامی جدایه‌ها در محدوده pH = ۴-۶/۵ رشد خوبی از خود نشان دادند که این یکی از ویژگی های باکتری‌های اسیدلاکتیک و تخمیر فراورده‌های تخمیری به کمک آن‌ها به شمار می‌رود. جدایه Sa بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری فقط در محیط نزدیک خنثی رشد نسبتاً مناسبی در مقایسه با سایر جدایه‌ها داشت. نتایج این بررسی با نتایج حاصل از پژوهش علیزاده بهبهانی و همکاران (Alizadeh Behbahani et al., 2021) ارزیابی فعالیت باکتریوسین حاصل از باکتری‌های لاکتوباسیل جدا شده

از ماست محلی بهبهانی و نتایج ابراهیمی و همکاران (Ebrahimi et al., 2016) جداسازی سویه‌های اسیدلاکتیک از سرکه و نتایج حوانهلم و همکاران (Hwanhlem et al., 2017) جداسازی سویه های اسید لاکتیک از روده جوجه و بررسی رشد سویه‌های لاکتوباسیل در pH مناسب همخوانی داشت.

با توجه به نتایج بدست آمده از آنالیزهای فنوتیپی، فیزیولوژی و بیوشیمیایی از مجموع ۱۶۲ جدایه اسید لاکتیک پنج جدایه به‌عنوان سویه‌های با بیشترین و قوی‌ترین ویژگی بازدارنده از رشد سویه‌های بیماری‌زا، انتخاب و مورد آنالیزهای بعدی قرار گرفتند. در مقایسه با جدول برگی ۷۰٪ از سویه‌های جدا شده جزء گروه لاکتوباسیلوس‌های هتروفرمانتاتیو اختیاری و به‌عنوان لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتاروم و ۱۰٪ جدایه‌ها از گروه لاکتوباسیلوس‌های هوموفرمانتاتیو اختیاری- اجباری به عنوان لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و ۱۰٪ جدایه‌ها بصورت ناشناخته باقی ماندند. از بین سویه‌های شناخته شده، جدایه های با کدهای Ab- جدا شده از ترشی ازگیل، Sa- از فراورده تخمیری زالزالک، S6- از ترشی انبه و ۱۰A- جدا شده از ترشی مخلوط میوه حاوی به و سیب ترش جهت شناسایی انتخاب و در مرحله بعد توالی یابی شدند.

جدول ۳- تاثیر دمای ۱۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد در مدت زمان ۲۴ و ۷۲ ساعت، غلظت‌های مختلف نمک و pH بر رشد جدایه‌ها  
Table 3- Effect of temperature of 15°C and 45°C in 24 and 72 hours, different concentrations of salt and pH on the isolates growth

| جدایه<br>(Isolate) | متغیر<br>(Variable) |              |              |              |           |           |                   |          |          |            |
|--------------------|---------------------|--------------|--------------|--------------|-----------|-----------|-------------------|----------|----------|------------|
|                    | 24 h<br>15°C        | 72 h<br>15°C | 24 h<br>45°C | 72 h<br>45°C | 2%<br>نمک | 4%<br>نمک | 6.5%<br>نمک       | =2<br>pH | =4<br>pH | =6.5<br>pH |
| S6                 | -                   | -            | +            | +            | +         | ++        | +                 | -        | +        | +          |
| 10A                | -                   | +            | +            | +            | +         | ++        | +                 | -        | +        | +          |
| Ab                 | -                   | +            | +            | +            | +         | ++        | +                 | -        | +        | +          |
| Sa                 | -                   | +            | -            | +            | +         | ++        | + ضعیف<br>(Weak+) | -        | +/-      | +          |
| Ctr                | -                   | +            | +            | +            | +         | ++        | +                 | -        | +        | +          |

10A: (-) لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتاروم گونه ۳۳۶۰؛ V3: لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتاروم گونه 19 Heal؛ S6: لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتاروم گونه ۷۲۳۲؛ Ab:

لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتاروم گونه 4 Lan، Ctr: کنترل.

10A: *L. plantarum* strain 3360; V3 *L. plantarum* strain Heal 19; S6: *L. plantarum* strain 7232; Sa: *L. plantarum* strain lb51; Ab: *L. plantarum* strain Lan4; Ctr: Control.

(-) عدم رشد، (+) رشد مناسب، (+/-) رشد ضعیف، (+) رشد خوب با تولید باکتریوسین بیشتر

(-) good growth with more bacteriocin production, (+) good growth, (+/-) poor growth, (+) good growth, (-) no growth

CTAB<sup>۱</sup> انجام شد، با اندکی تغییرات در روند استخراج و استفاده همزمان از دو آنزیم لیزوزیم و پروتئیناز K استخراج بهتری صورت

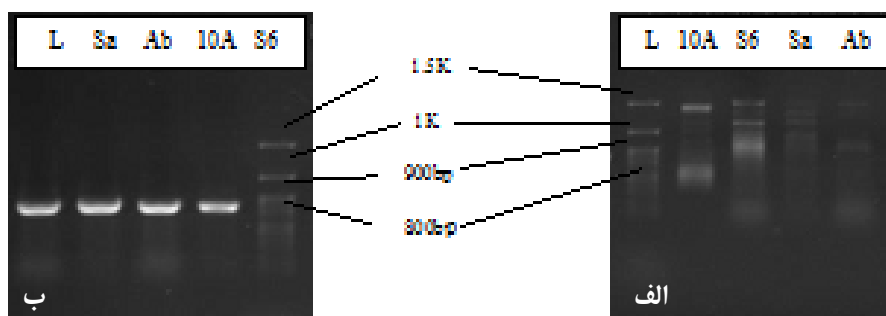
### انکشت‌نگاری ژنومی و الکتروفورز

این روش جهت شناسایی باکتری‌ها در سطح سویه یک ابزار دقیق و قابل اطمینان است. در این بررسی استخراج DNA به روش

1- Cetyltrimethylammonium bromide

می‌دهد و با توجه به شکل ۲، ب باند های مشخص برای هر ۴ جدایه در ناحیه ۸۰۰ bp نشان دهنده میزان شباهت میان گونه ای است. نتایج این بررسی با نتیجه آزمون فرچچی و همکاران (Ferchichi et al., 2007) شناسایی مولکولی سویه های اسیدلاکتیک جدا شده از شیر بز و شناسایی سویه های اسید لاکتیک در نواحی ۷۳۳bp برای سویه های مختلف/انتروکوکوس همخوانی نزدیکی داشت.

گرفت چرا که شکستن دیواره سلولی باکتری های گرم مثبت و خروج بیشتر DNA را به همراه داشت. بعد از انجام PCR و الکتروفورز DNA استخراج شده زیر نور UV با مارکر ۱۰۰bp (سیناکلون) مقایسه باندها صورت گرفت، باندها در نواحی ۸۰۰ bp مشاهده شدند. تصویر انگشت نگاری ژنومی (شکل ۲، الف) که از ژل آگارز یک و نیم درصد بدست آمده است میزان تفاوت در بین جدایه ها را نشان



شکل ۲- الف. انگشت نگاری ژنومی، ب. نمایش محصول PCR (قطعه ۸۰۰ bp) حاصل از تکثیر ژن rRNA ۱۶s  
Fig. 2- a. Genomic fingerprinting, b. Showing the PCR product (800 bp fragment) resulting from the amplification of 16s rRNA gene

انتظار بر غالب بودن گونه لاکتی پلانسی باسیلوس پلانتاروم بود چرا که طبق نتایج هو و همکاران (Hu et al., 2013) در مورد جداسازی سویه های غالب فراورده های سبزی و میوه، لاکتی پلانسی باسیلوس پلانتاروم به عنوان سویه غالب فراورده های تخمیری گیاهی بر پایه میوه و سبزی شناخته شده است، که با یافته های پژوهش های حاضر همخوانی داشت.

#### توالی یابی

با توجه به جدول ۴، نتایج حاصل از توالی یابی مشخص کننده غالب بودن سویه لاکتی پلانسی باسیلوس پلانتاروم در فراورده های تخمیری بر پایه میوه بود. بعد از شناسایی جمعیت لاکتیکی فراورده های تخمیری نتیجه حاصل از آزمون مولکولی با پیش بینی این مطالعه از جمعیت میکروبی ذاتی فراورده های تخمیری بر پایه میوه و نتایج آزمون های بیوشیمیایی تا حدودی مطابقت داشت. در این مطالعه

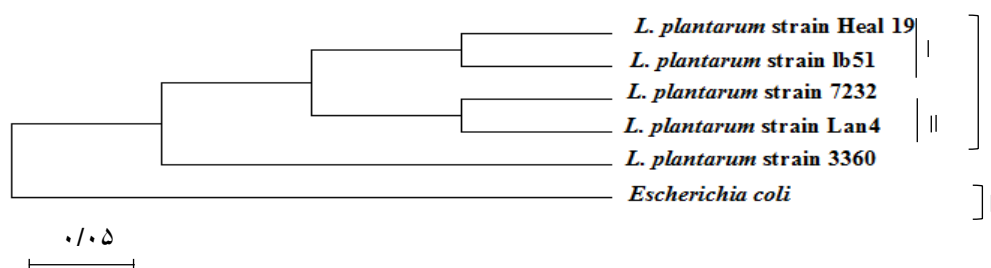
جدول ۴- نتایج توالی یابی 16S rDNA جدایه های حاصل از فراورده های تخمیری میوه  
Table 4- The results of 16S rDNA sequencing of isolates obtained from fermented fruit products

| کد جدایه<br>(Isolate code) | شماره ثبت<br>(Accession number) | درصد شباهت در NCBI<br>(% ID in NCBI) | اسامی سویه های جدا شده<br>(Name of bacteria)                                                    |
|----------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 10A                        | MT613643/1                      | 96.42%                               | لاکتی پلانسی باسیلوس پلانتاروم سویه 3360<br>( <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> strain 3360) |
| S6                         | MT645503/1                      | 98.75%                               | لاکتی پلانسی باسیلوس پلانتاروم سویه 7232<br>( <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> strain 7232) |
| Sa                         | LT853604/1                      | 99.58%                               | لاکتی پلانسی باسیلوس پلانتاروم سویه Lan4<br><i>Lactiplantibacillus plantarum</i> strain Lan4    |
| Ab                         | AY590774/1                      | 98.92%                               | لاکتی پلانسی باسیلوس پلانتاروم سویه lb51                                                        |

پلانسی باسیلوس پلانتاروم سویه lb ۵۱ و در زیر خوشه دوم لاکتی پلانسی باسیلوس پلانتاروم سویه ۷۳۳۲ و Lan۴ و در خوشه دوم لاکتی پلانسی باسیلوس پلانتاروم سویه ۳۳۶۰ قرار دارند. در دندوگرام رسم شده از ژن rRNA ۱۶s /شریشیا کلی به عنوان سویه خارج از گروه استفاده شده است.

#### ترسیم درخت فیلوژنتیکی (دندوگرام)

به طور کلی درخت رسم شده (شکل ۳) شامل دو خوشه است، خوشه اول از دو زیر خوشه تشکیل شده که در هر زیر خوشه دو سویه متفاوت از لاکتی پلانسی باسیلوس پلانتاروم واقع شده اند، در زیر خوشه اول لاکتی پلانسی باسیلوس پلانتاروم سویه ۱۹ Heal و لاکتی



شکل ۳- ترسیم درخت فیلوژنتیکی با مقایسه ژن rRNA ۱۶S با استفاده از نرم افزار مگا ۷

Fig. 3- Drawing a phylogenetic tree by comparing 16S rRNA gene using Mega 7 software

اخته و نتایج پژوهش هو و همکاران (Hu et al., 2013) جداسازی و شناسایی پلانتارسین ۱۶۳ از سبزی تخمیری چینی و ویژگی ضد لیستریایی آن همخوانی داشت. برای تایید ماهیت پروتئینی ترکیبات جدا شده، اثر آنزیم‌های پروتئازی، کیموتریپسین، لیزوزیم، پپسین و پروتئیناز K روی آن‌ها بررسی شد و با از بین رفتن هاله عدم رشد که نشان دهنده ماهیت پروتئینی ترکیبات جدا شده (باکتریوسین) بود بر آزمون چاهک گذاری صحه گذاشته شد (نتایج آزمون اثر آنزیم‌ها ارائه نشده است).

#### سنجش تیترا یا عیار باکتریوسین

در تمامی باکتریوسین‌ها بالاترین رقتی که فعالیت بازدارندگی را در برابر سویه‌های شاخص *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* نشان داد به عنوان تیترا و یا عیار باکتریوسین و با واحد  $1\text{ AU/ml}$  معرفی شد. با توجه به جدول ۶، تمامی باکتریوسین‌های استخراج شده در این بررسی فعالیت بیشتری نسبت به آنچه در مطالعات آشاری و همکاران (Ashari et al., 2019) بررسی حداقل مقدار کشندگی نایسین و مطالعات ال شانی و همکاران (El-Shouny et al., 2020) در مورد پلانتارسین SR18 با فعالیت  $25600\text{ AU/ml}$  استخراج شده از لاکتی پلانتی *باسیلوس پلانتاروم* جدا شده از ماست گزارش شده بود، نشان دادند. باکتریوسین حاصل از جدایه  $10^8\text{ AU/ml}$  و  $10^9\text{ AU/ml}$  با مقدار فعالیت  $64000\text{ AU/ml}$  به عنوان قویترین باکتریوسین در سنجش عیار باکتریوسین در مقایسه با نایسین تجاری (Siveele) محسوب می‌گردد هر چند که از نظر اندازه قطر هاله عدم رشد، جدایه  $10^8\text{ AU/ml}$  بیشترین مقدار را در مقایسه با سایر باکتریوسین‌های مورد آزمایش حتی با فعالیت یکسان نشان داد.

#### بررسی هاله بازدارندگی با روش چاهک‌گذاری

با توجه به نتایج جدول ۵ و شکل ۴، هر چهار سویه منتخب هاله‌هایی بسیار شفاف در حضور سویه‌های بیماری‌زا با رقت  $10^8$  تشکیل دادند. در این بررسی سویه ۴ Lan و ۷۲۳۲ در مقایسه با دو جدایه دیگر، نقاط بازدارنده از رشد بزرگتری را در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* تشکیل دادند. نقاط بازدارنده از رشد در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشتر از *سالمونلا تایفی* و آن هم بزرگتر از *اشریشیا کلی* گزارش گردید، که این بازدارندگی در سطح احتمال ( $p < 0.05$ ) معنی دار بود. این آزمون نشان دهنده موثر بودن باکتریوسین باکتری‌های اسیدلاکتیک بر میکروارگانیسم‌های هم نوع خود بیشتر از باکتری‌های گرم منفی و تاثیر معنی دار آن در سطح احتمال ( $p < 0.05$ ) بر باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با تیمار کنترل (نایسین تجاری) بود. در مقایسه با نایسین تجاری هر چهار باکتریوسین استخراج شده در برابر هر چهار سویه شاخص از نظر قطر هاله‌های عدم رشد در سطح احتمال ( $p < 0.05$ ) تفاوت معنی داری داشتند. نتایج گزارش شده در این آزمایش با نتایج جداسازی پلانتارسین از لاکتی پلانتی *باسیلوس پلانتاروم* SR18 ال شانی و همکاران (El-Shouny et al., 2020)، پژوهش شهیدی و همکاران (Shahidi et al., 2014) کاربرد فیلم ضد میکروبی جهت مهار لیستریا *مونوسایتوجنز* در گوشت، پژوهش عبدالله‌زاده و همکاران (Abdollahzadeh et al., 2012) در مورد تاثیر نایسین و آویشن شیرازی بر جمعیت لیستریا *مونوسایتوجنز* در گوشت چرخ شده و بررسی‌های پنج و همکاران (Benech et al., 2002) تاثیر نایسین Z بر زمان ماندگاری فیله ماهی و پژوهش علیرضالو و همکاران (Alirezalu et al., 2020) تاثیر نایسین بر مدت زمان نگهداری سوسیس فرانکفورتر نتایج پژوهش شکری و همکاران (Shokri et al., 2013) در مورد تاثیر باکتریوسین استخراج شده از *اِتروکوکوس فاسیوم* DSH20 بر سویه‌های مختلف لیستریا *مونوسایتوجنز*، نتایج شیانگ و همکاران (Xiang et al., 2021) در مورد جداسازی باکتریوسین حاصل از جدایه‌های بدست آمده از زغال

جدول ۵- قطر هاله عدم رشد (میلی متر) باکتریوسین های استخراج شده مختلف علیه بیماری زاهای گرم مثبت و منفی  
Table 5- Diameter of Inhibition zone (mm) of different extracted bacteriocins against Gram positive and Gram negative pathogens

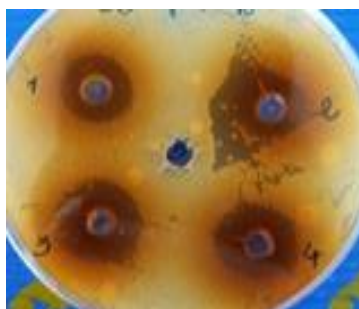
| باکتریوسین<br>(Bacteriocin) | میکرو اورگانیزم شاخص<br>(Indicator microorganisms)                                                  |                                                                                          |                                                                                                      |                                                                                                   |
|-----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                             | استافیلوکوکوس اورئوس<br>( <i>Staphylococcus aureus</i> )<br>ATCC<br>25922<br>10 <sup>8</sup> CFU/mL | اشریشیا<br>کلی<br>( <i>Escherichia coli</i> )<br>ATCC<br>25923<br>10 <sup>8</sup> CFU/mL | سالمونلا تایفی موریوم<br>( <i>Salmonella typhimurium</i> )<br>PTCC<br>1609<br>10 <sup>8</sup> CFU/mL | لیستریا<br>مونوسیتوجنز<br>( <i>Listeria monocytogenes</i> )<br>PTCC1165<br>10 <sup>8</sup> CFU/mL |
| b10A                        | 21 <sup>aA</sup>                                                                                    | 16 <sup>aD</sup>                                                                         | 18 <sup>aC</sup>                                                                                     | 19 <sup>aB</sup>                                                                                  |
| bS6                         | 19 <sup>abcA</sup>                                                                                  | 12 <sup>abcD</sup>                                                                       | 18 <sup>abcC</sup>                                                                                   | 18 <sup>abcB</sup>                                                                                |
| bSa                         | 18 <sup>bcA</sup>                                                                                   | 15 <sup>bcD</sup>                                                                        | 16 <sup>bcC</sup>                                                                                    | 19 <sup>bcB</sup>                                                                                 |
| bAb                         | 20 <sup>abA</sup>                                                                                   | 13 <sup>abD</sup>                                                                        | 17 <sup>abC</sup>                                                                                    | 17 <sup>abB</sup>                                                                                 |
| نایسین<br>(Nisin)           | 18 <sup>cA</sup>                                                                                    | 13 <sup>cD</sup>                                                                         | 16 <sup>cC</sup>                                                                                     | 17 <sup>cB</sup>                                                                                  |

b: باکتریوسین؛ 10A: لاکتی پلاتنتی باسیلوس پلانتاروم گونه ۳۳۶۰؛ V3: لاکتی پلاتنتی باسیلوس پلانتاروم گونه 19 Heal S6؛ لاکتی پلاتنتی باسیلوس پلانتاروم گونه ۷۲۳۲؛ Ab: لاکتی پلاتنتی باسیلوس پلانتاروم گونه Lan4.

نتایج به صورت میانگین سه تکرار بیان شد. اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی دار ( $p < 0.05$ ) نمی باشند. اعداد با حروف مشترک در هر ردیف دارای اختلاف معنی دار ( $p < 0.05$ ) نمی باشند.

b: bacteriocin; 10A: *L. plantarum* strain 3360; V3 *L. plantarum* strain Heal 19; S6: *L. plantarum* strain 7232; Sa: *L. plantarum* strain lb51; Ab: *L. plantarum* strain Lan4..

The results were expressed as the average of three repetitions. Numbers with same letters in each column do not have significant differences ( $p > 0.05$ ). Numbers with same letters in each row do not have a significant difference ( $p > 0.05$ ).



شکل ۴- نقاط بازدارنده از رشد برای هر ۴ سویه در رقت ۱۰<sup>۸</sup> بیماری زا  
Fig. 4- Inhibition zones for all 4 strains in 10<sup>8</sup> of pathogen strain

سانتی گراد جدایه ۱۰A و Ab با اندازه هاله (۱۵ و ۱۴ میلی متر) در برابر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس دارای بالاترین قطر هاله عدم رشد و به عنوان قوی ترین باکتریوسین ها گزارش شدند. بیشترین اثر بازدارندگی مربوط به باکتریوسین جدایه ۱۰A در برابر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بوده است. نتایج این بررسی با نتایج آزمون شکری و همکاران (Shokri et al., 2013) در مورد تاثیر حرارت بر باکتریوسین استخراج شده از اتروکوکوس فاسیوم DSH20 و نتایج علیزاده بهبهانی و همکاران (Alizadeh Behbahani et al., 2021) در مورد جداسازی لاکتوباسیلوس های مختلف مقاوم به حرارت اتوکلاو جدا شده از ماست محلی و نتایج شیانگ و همکاران (Xiang et al., 2021) در مورد باکتریوسین JS17 جدا شده از باسیلوس سوبتلیس مطابقت نزدیکی داشت.

بررسی اثر دماهای ۶۰ و ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه بر فعالیت باکتریوسین

برای تعیین پایداری اثر بازدارندگی در درجه حرارت های بالا، فعالیت ضد میکروبی باکتریوسین استخراج شده از سویه های مختلف در دمای پاستوریزاسیون سرد و دمای استریلیزاسیون بررسی شد، با توجه به (جدول ۷) باکتریوسین های حاصل از جدایه های مختلف در برابر ۲۰ دقیقه دماهای ۶۰ و ۱۲۱ درجه سانتی گراد فعالیت بازدارندگی خود را همچنان حفظ کردند و باعث ممانعت از رشد بیماری زاهای گرم مثبت و گرم منفی شدند، هر چند که در مقایسه با قبل از تیمار حرارتی، فعالیت هر چهار باکتریوسین کاهش معنی داری در سطح احتمال ( $p < 0.05$ ) داشت. بعد از تیمار حرارتی در دمای ۶۰ درجه

جدول ۶- عبار باکتریوسین‌های استخراج شده از سویه‌های لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتهاروم بر حسب AU/mL  
Table 6- Bacteriocin titers from *Lactiplantibacillus plantarum* strains in terms of AU/mL

| باکتریوسین<br>(Bacteriocin) | میکروارگانیزم شاخص<br>(Indicator microorganisms)         |                                            |
|-----------------------------|----------------------------------------------------------|--------------------------------------------|
|                             | استافیلوکوکوس اورئوس<br>( <i>Staphylococcus aureus</i> ) | اشریشیا کلی<br>( <i>Escherichia coli</i> ) |
|                             | ATCC<br>25922                                            | ATCC<br>25923                              |
|                             | 10 <sup>8</sup> CFU/mL                                   | 10 <sup>8</sup> CFU/mL                     |
| b10A                        | 64000 <sup>aA</sup>                                      | 64000 <sup>aB</sup>                        |
| bS6                         | 32000 <sup>bA</sup>                                      | 32000 <sup>bB</sup>                        |
| bSa                         | 32000 <sup>bA</sup>                                      | 32000 <sup>bB</sup>                        |
| bAb                         | 64000 <sup>aA</sup>                                      | 64000 <sup>aB</sup>                        |
| نایسین<br>(Nisin)           | 32000 <sup>bA</sup>                                      | 32000 <sup>bB</sup>                        |

b: باکتریوسین؛ 10A: لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتهاروم گونه ۳۳۶۰؛ V3: لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتهاروم گونه 19 Heal S6؛ لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتهاروم گونه ۷۳۳۲؛ Ab: لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتهاروم گونه Lan4.

نتایج به صورت میانگین سه تکرار بیان شد. اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) نمی‌باشند. اعداد با حروف مشترک در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) نمی‌باشند.

b: bacteriocin; 10A: *L. plantarum* strain 3360; V3 *L. plantarum* strain Heal 19; S6: *L. plantarum* strain 7232; Sa: *L. plantarum* strain lb51; Ab: *L. plantarum* strain Lan4..

The results were expressed as the average of three repetitions. Numbers with same letters in each column do not have significant differences ( $p > 0.05$ ). Numbers with same letters in each row do not have a significant difference ( $p > 0.05$ ).

جدول ۷- اثر تیمار حرارتی ۶۰ و ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه بر سوپرناتانت خنثی شده در رقت ۱۰<sup>۸</sup> CFU/mL بیماری‌زا  
Table 7- The effect of heat treatment 60°C and 121°C for 20 minutes on the neutralized supernatant at a dilution of 10<sup>8</sup> CFU/mL of the pathogen

| باکتریوسین<br>(Bacteriocin) | میکروارگانیزم شاخص<br>(Indicator microorganisms)           |                                            |                                                          |                                                            |                                            |                                                          |
|-----------------------------|------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|----------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
|                             | سالمونلا تایفی‌موریوم<br>( <i>Salmonella typhimurium</i> ) | اشریشیا کلی<br>( <i>Escherichia coli</i> ) | استافیلوکوکوس اورئوس<br>( <i>Staphylococcus aureus</i> ) | سالمونلا تایفی‌موریوم<br>( <i>Salmonella typhimurium</i> ) | اشریشیا کلی<br>( <i>Escherichia coli</i> ) | استافیلوکوکوس اورئوس<br>( <i>Staphylococcus aureus</i> ) |
|                             | ATCC<br>25923                                              | ATCC<br>25923                              | ATCC<br>25922                                            | ATCC<br>25923                                              | ATCC<br>25923                              | ATCC<br>25922                                            |
|                             | PTCC<br>1609                                               | PTCC<br>1609                               | PTCC<br>1609                                             | PTCC<br>1609                                               | PTCC<br>1609                               | PTCC<br>1609                                             |
| 60°C                        |                                                            |                                            |                                                          |                                                            |                                            |                                                          |
| b10A                        | 14 <sup>aB</sup>                                           | 13 <sup>aB</sup>                           | 15 <sup>aA</sup>                                         | 12 <sup>aB</sup>                                           | 14 <sup>aB</sup>                           | 15 <sup>aA</sup>                                         |
| bS6                         | 11 <sup>cB</sup>                                           | 11 <sup>cB</sup>                           | 12 <sup>cA</sup>                                         | 11 <sup>cB</sup>                                           | 11 <sup>cB</sup>                           | 13 <sup>cA</sup>                                         |
| bSa                         | 14 <sup>bB</sup>                                           | 14 <sup>bB</sup>                           | 12 <sup>bA</sup>                                         | 14 <sup>bB</sup>                                           | 14 <sup>bB</sup>                           | 12 <sup>bA</sup>                                         |
| bAb                         | 13 <sup>bB</sup>                                           | 13 <sup>bB</sup>                           | 14 <sup>bA</sup>                                         | 14 <sup>bB</sup>                                           | 13 <sup>bB</sup>                           | 14 <sup>bA</sup>                                         |
| نایسین<br>(Nisin)           | 11 <sup>cB</sup>                                           | 10 <sup>cB</sup>                           | 13 <sup>cA</sup>                                         | 12 <sup>cB</sup>                                           | 11 <sup>cB</sup>                           | 14 <sup>cA</sup>                                         |
| 121°C                       |                                                            |                                            |                                                          |                                                            |                                            |                                                          |
| b10A                        | 14 <sup>aB</sup>                                           | 13 <sup>aB</sup>                           | 15 <sup>aA</sup>                                         | 12 <sup>aB</sup>                                           | 14 <sup>aB</sup>                           | 15 <sup>aA</sup>                                         |
| bS6                         | 11 <sup>cB</sup>                                           | 11 <sup>cB</sup>                           | 12 <sup>cA</sup>                                         | 11 <sup>cB</sup>                                           | 11 <sup>cB</sup>                           | 13 <sup>cA</sup>                                         |
| bSa                         | 14 <sup>bB</sup>                                           | 14 <sup>bB</sup>                           | 12 <sup>bA</sup>                                         | 14 <sup>bB</sup>                                           | 14 <sup>bB</sup>                           | 12 <sup>bA</sup>                                         |
| bAb                         | 13 <sup>bB</sup>                                           | 13 <sup>bB</sup>                           | 14 <sup>bA</sup>                                         | 14 <sup>bB</sup>                                           | 13 <sup>bB</sup>                           | 14 <sup>bA</sup>                                         |
| نایسین<br>(Nisin)           | 11 <sup>cB</sup>                                           | 10 <sup>cB</sup>                           | 13 <sup>cA</sup>                                         | 12 <sup>cB</sup>                                           | 11 <sup>cB</sup>                           | 14 <sup>cA</sup>                                         |

b: باکتریوسین؛ 10A: لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتهاروم گونه ۳۳۶۰؛ V3: لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتهاروم گونه 19 Heal S6؛ لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتهاروم گونه ۷۳۳۲؛ Ab: لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتهاروم گونه Lan4.

نتایج به صورت میانگین سه تکرار بیان شد. اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) نمی‌باشند. اعداد با حروف مشترک در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) نمی‌باشند.

b: bacteriocin; 10A: *L. plantarum* strain 3360; V3 *L. plantarum* strain Heal 19; S6: *L. plantarum* strain 7232; Sa: *L. plantarum* strain lb51; Ab: *L. plantarum* strain Lan4..

The results were expressed as the average of three repetitions. Numbers with same letters in each column do not have significant differences ( $p > 0.05$ ). Numbers with same letters in each row do not have a significant difference ( $p > 0.05$ ).

بررسی اثر ۶ ماه نگهداری در دمای ۴ و ۲۰- درجه سانتی-

#### گراد بر فعالیت باکتریوسین

باکتریوسین خالص شده از تمامی سویه‌ها بعد از ۶ ماه نگهداری در دمای یخچالی ۴ و فریزری ۲۰- درجه سانتی‌گراد، در برابر بیماری‌زاهای شاخص در رقت  $10^8$  CFU/mL دارای نقاط بازدارنده از رشد بودند. با توجه به نتایج (جدول ۸) اثر زمان باعث کاهش ویژگی بازدارندگی تمامی باکتریوسین‌ها شد، ولی این کاهش در

سطح احتمال ( $p < 0.05$ ) معنی‌دار نبود. جدایه ۱۰A در برابر استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی با قطر هاله ۲۱ و ۱۸ میلی-متر بعد از ۶ ماه نگهداری در هر دو دمای دارای بالاترین ویژگی بازدارندگی بود، با توجه به نتایج (جدول ۵) و بررسی اثر بازدارندگی در زمان صفر و می‌توان باکتریوسین تخلیص شده را به مدت ۶ ماه و بیشتر در دماهای ۴ و ۲۰- درجه سانتی‌گراد بدون کاهش معنی‌دار در قدرت بازدارندگی نگهداری کرد.

جدول ۸- اثر ۶ ماه زمان نگهداری بر طیف بازدارندگی باکتریوسین (میلی‌متر) در رقت  $10^8$  CFU/mL بیماری‌زا

Table 8- The effect of 6 month of storage on bacteriocin inhibition zone (mm) in dilution  $10^8$  CFU/mL pathogen

| باکتریوسین<br>(Bactericin) | میکروارگانیسم شاخص<br>(Indicator microorganisms) |                                       |                                            |                                            |                                       |                                            |
|----------------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------------|
|                            | استافیلوکوکوس اورئوس                             | اشریشیا کلی                           | سالمونلا تایفی موربوم                      | استافیلوکوکوس اورئوس                       | اشریشیا کلی                           | سالمونلا تایفی موربوم                      |
|                            | <i>Staphylococcus aureus</i><br>ATCC 25922       | <i>Escherichia coli</i><br>ATCC 25923 | <i>Salmonella typhimurium</i><br>PTCC 1609 | <i>Staphylococcus aureus</i><br>ATCC 25922 | <i>Escherichia coli</i><br>ATCC 25923 | <i>Salmonella typhimurium</i><br>PTCC 1609 |
|                            | 4 °C                                             |                                       |                                            | -20 °C                                     |                                       |                                            |
| b10A                       | 14 <sup>aB</sup>                                 | 14 <sup>aC</sup>                      | 18 <sup>aA</sup>                           | 16 <sup>aB</sup>                           | 18 <sup>aC</sup>                      | 21 <sup>aA</sup>                           |
| bS6                        | 15 <sup>bB</sup>                                 | 13 <sup>bC</sup>                      | 17 <sup>bA</sup>                           | 16 <sup>bB</sup>                           | 16 <sup>bC</sup>                      | 18 <sup>bA</sup>                           |
| bSa                        | 13 <sup>cB</sup>                                 | 12 <sup>cC</sup>                      | 15 <sup>cA</sup>                           | 14 <sup>cB</sup>                           | 14 <sup>cC</sup>                      | 16 <sup>cA</sup>                           |
| bAb                        | 11 <sup>cdB</sup>                                | 12 <sup>cdC</sup>                     | 14 <sup>cdA</sup>                          | 15 <sup>cdB</sup>                          | 14 <sup>cdC</sup>                     | 17 <sup>cdA</sup>                          |
| نایسین<br>(Nisin)          | 12 <sup>dB</sup>                                 | 11 <sup>dC</sup>                      | 15 <sup>dA</sup>                           | 14 <sup>dB</sup>                           | 13 <sup>dC</sup>                      | 16 <sup>dA</sup>                           |

b: باکتریوسین؛ 10A: لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتروم گونه ۳۳۶۰؛ V3: لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتروم گونه 19 Heal S6؛ لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتروم گونه ۷۲۳۲؛ Ab: لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتروم گونه Lan4.

نتایج به صورت میانگین سه تکرار بیان شد. اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) نمی‌باشند. اعداد با حروف مشترک در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) نمی‌باشند.

b: bacteriocin; 10A: *L. plantarum* strain 3360; V3 *L. plantarum* strain Heal 19; S6: *L. plantarum* strain 7232; Sa: *L. plantarum* strain lb51; Ab: *L. plantarum* strain Lan4.

The results were expressed as the average of three repetitions. Numbers with same letters in each column do not have significant differences ( $p > 0.05$ ). Numbers with same letters in each row do not have a significant difference ( $p > 0.05$ )

#### بررسی اثر pHهای مختلف بر فعالیت باکتریوسین

##### تخلیص شده

در این بررسی باکتریوسین حاصل از جدایه‌های مختلف، در برابر pHهای ۲ تا ۱۰ تنظیم شده با HCl و NaOH قرار گرفته و پایداری اثر مهاری آن‌ها در برابر بیماری‌زاهای گرم منفی و گرم مثبت با نایسین تجاری مقایسه گردید. با توجه به نتایج (جدول ۹) در محدوده وسیع pH تمامی باکتریوسین‌های استخراج شده ویژگی ضد میکروبی خود را در برابر سویه‌های شاخص حفظ کرده و این اثر در باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس در مقایسه با سویه‌های گرم منفی بیشتر گزارش شد، بیشترین اثر مهاری در تمامی موارد در محدوده ۸)

- ۶ (pH) بود، در حالی که با افزایش و کاهش pH از محدوده خنثی به سمت اسیدی و قلیایی، روند نزولی در اثر مهاری باکتریوسین‌ها رویت گردید، که این کاهش در pHهای خیلی پایین و خیلی بالا در سطح احتمال ( $p < 0.05$ ) معنی‌دار بود. در pH خیلی اسیدی (۲ = pH) و خیلی قلیایی (۱۰ = pH) کاهش اثر بازدارندگی در مورد تمامی باکتریوسین‌ها و کاهش شدیدتر در اثر مهاری نایسین مشاهده گردید، بطوریکه در ۲ = pH اثر بازدارندگی باکتریوسین‌های استخراج شده در برابر اشریشیا کلی صفر و برای نایسین در برابر تمامی سویه‌های شاخص اعم از گرم منفی و مثبت صفر گزارش شد. این آزمون نشان دهنده پایداری اثر مهاری باکتریوسین‌های استخراج



مختلف جدا شده از ماست محلی همخوانی نزدیکی داشت با این تفاوت که باکتریوسین‌های استخراج شده در پژوهش حاضر در محدوده وسیعی از pH اسیدی و قلیایی در هر دو تکرار ویژگی مهاری بیشتری از پلانتارسین ZJ 316 نشان دادند.

شده در محدوده وسیعی از pH و قوی‌تر بودن آن‌ها در مقایسه با نایسین تجاری است. نتایج این بررسی با نتایج آزمون چن و همکاران (Chen et al., 2018) در مورد جداسازی و خالص‌سازی پلانتارسین ZJ 316 و نتایج علیزاده بهبهانی و همکاران (Alizadeh Behbahani et al., 2021) در مورد جداسازی لاکتوباسیلوس‌های

جدول ۹- تاثیر pHهای مختلف بر قطر هاله عدم رشد (میلی متر) باکتریوسین‌های مختلف در برابر  $10^8$  CFU/mL میکروارگانیسم‌های شاخص  
Table 9- Effect of different pH on the diameter of inhibition zone (mm) of different bacteriocins against  $10^8$  CFU/mL

| indicator microorganisms                                                  |                           | pH                 |                     |                    |                    |                     |                     |                    |                  |                  |
|---------------------------------------------------------------------------|---------------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------|------------------|------------------|
| میکروارگانیسم<br>شاخص<br>Indicator<br>microorganisms<br>$10^8$ CFU/mL     | باکتریوسین<br>Bacteriocin | 10                 | 9                   | 8                  | 7                  | 6                   | 5                   | 4                  | 3                | 2                |
| استافیلوکوکوس<br>اورئوس<br>( <i>Staphylococcus aureus</i> )<br>ATCC25922  | b10A                      | 12.5 <sup>dA</sup> | 15 <sup>cA</sup>    | 19 <sup>bA</sup>   | 21 <sup>aA</sup>   | 18.5 <sup>bA</sup>  | 15 <sup>cA</sup>    | 12 <sup>dA</sup>   | 10 <sup>eA</sup> | 9 <sup>fA</sup>  |
|                                                                           | bS6                       | 12 <sup>dB</sup>   | 14 <sup>cB</sup>    | 17 <sup>bB</sup>   | 19 <sup>aB</sup>   | 16.5 <sup>bB</sup>  | 15 <sup>cB</sup>    | 11 <sup>dB</sup>   | 8 <sup>eB</sup>  | 6 <sup>fB</sup>  |
|                                                                           | bSa                       | 10 <sup>dC</sup>   | 12 <sup>cC</sup>    | 16 <sup>bC</sup>   | 18 <sup>aC</sup>   | 14 <sup>bC</sup>    | 13 <sup>cC</sup>    | 12 <sup>dC</sup>   | 9 <sup>eC</sup>  | 9 <sup>fC</sup>  |
|                                                                           | bAb                       | 10 <sup>dCD</sup>  | 12 <sup>cCD</sup>   | 17 <sup>bCD</sup>  | 20 <sup>aCD</sup>  | 17 <sup>bCD</sup>   | 14 <sup>cCD</sup>   | 11 <sup>dCD</sup>  | 9 <sup>eCD</sup> | 8 <sup>fCD</sup> |
|                                                                           | نایسین<br>(Nisin)         | 11 <sup>dD</sup>   | 14 <sup>cD</sup>    | 17 <sup>bD</sup>   | 19 <sup>aD</sup>   | 16 <sup>bD</sup>    | 13.5 <sup>cD</sup>  | 10.8 <sup>dD</sup> | 7 <sup>eD</sup>  | –                |
| اشریشیا کلی<br>( <i>Escherichia coli</i> )<br>ATCC25923                   | b10A                      | 10 <sup>dA</sup>   | 13 <sup>cA</sup>    | 15 <sup>bA</sup>   | 17 <sup>aA</sup>   | 15 <sup>bA</sup>    | 14.2 <sup>cA</sup>  | 11 <sup>dA</sup>   | 9 <sup>eA</sup>  | –                |
|                                                                           | bS6                       | 10 <sup>dB</sup>   | 12 <sup>cB</sup>    | 14 <sup>bB</sup>   | 15 <sup>aB</sup>   | 14.2 <sup>bB</sup>  | 13.5 <sup>cB</sup>  | 10 <sup>dB</sup>   | 8 <sup>eB</sup>  | –                |
|                                                                           | bSa                       | 9.7 <sup>dC</sup>  | 11 <sup>cC</sup>    | 12 <sup>bC</sup>   | 13 <sup>aC</sup>   | 12 <sup>bC</sup>    | 11 <sup>cC</sup>    | 10 <sup>dC</sup>   | 8 <sup>eC</sup>  | –                |
|                                                                           | bAb                       | 9 <sup>dCD</sup>   | 10.5 <sup>cCD</sup> | 12 <sup>bCD</sup>  | 14 <sup>aCD</sup>  | 12 <sup>bCD</sup>   | 10.5 <sup>cCD</sup> | 9 <sup>dCD</sup>   | 7 <sup>eCD</sup> | –                |
|                                                                           | نایسین<br>(Nisin)         | 9 <sup>dD</sup>    | 10.5 <sup>cD</sup>  | 12.5 <sup>bD</sup> | 14.5 <sup>aD</sup> | 12.5 <sup>bD</sup>  | 10.8 <sup>cD</sup>  | 9 <sup>dD</sup>    | –                | –                |
| سالمونلا تایفی<br>موریوم<br>( <i>Salmonella typhimurium</i> )<br>PTCC1609 | b10A                      | 12 <sup>dA</sup>   | 14 <sup>cA</sup>    | 17 <sup>bA</sup>   | 18 <sup>aA</sup>   | 17 <sup>bA</sup>    | 14 <sup>cA</sup>    | 11.5 <sup>dA</sup> | 9 <sup>eA</sup>  | 6 <sup>fA</sup>  |
|                                                                           | bS6                       | 11.2 <sup>dB</sup> | 13 <sup>cB</sup>    | 16 <sup>bB</sup>   | 18 <sup>aB</sup>   | 16 <sup>bB</sup>    | 13.2 <sup>cB</sup>  | 10.5 <sup>dB</sup> | 9 <sup>eB</sup>  | 6 <sup>fB</sup>  |
|                                                                           | bSa                       | 9.5 <sup>dC</sup>  | 11.5 <sup>cC</sup>  | 15 <sup>bC</sup>   | 16 <sup>aC</sup>   | 15 <sup>bC</sup>    | 13 <sup>cC</sup>    | 11 <sup>dC</sup>   | 8 <sup>eC</sup>  | 7 <sup>fC</sup>  |
|                                                                           | bAb                       | 10 <sup>dCD</sup>  | 11.5 <sup>cCD</sup> | 15 <sup>bCD</sup>  | 17 <sup>aCD</sup>  | 15.5 <sup>bCD</sup> | 13 <sup>cCD</sup>   | 10 <sup>dCD</sup>  | 7 <sup>eCD</sup> | –                |
|                                                                           | نایسین<br>(Nisin)         | 10 <sup>dD</sup>   | 12 <sup>cD</sup>    | 14.2 <sup>bD</sup> | 16 <sup>aD</sup>   | 15 <sup>bD</sup>    | 11.5 <sup>cD</sup>  | 10 <sup>dD</sup>   | –                | –                |
| لیستریا<br>مونوسایتوجنز<br>( <i>Listeria monocytogenes</i> )<br>PTCC1165  | b10A                      | 13 <sup>dA</sup>   | 15.5 <sup>cA</sup>  | 17 <sup>bA</sup>   | 19 <sup>aA</sup>   | 17.5 <sup>bA</sup>  | 14 <sup>cA</sup>    | 11.5 <sup>dA</sup> | 9 <sup>eA</sup>  | 6 <sup>fA</sup>  |
|                                                                           | bS6                       | 11 <sup>dB</sup>   | 13 <sup>cB</sup>    | 16 <sup>bB</sup>   | 18 <sup>aB</sup>   | 16 <sup>bB</sup>    | 14 <sup>cB</sup>    | 11 <sup>dB</sup>   | 9 <sup>eB</sup>  | 6 <sup>fB</sup>  |
|                                                                           | bSa                       | 10 <sup>dC</sup>   | 11 <sup>cC</sup>    | 16.3 <sup>bC</sup> | 19 <sup>aC</sup>   | 15 <sup>bC</sup>    | 12 <sup>cC</sup>    | 11 <sup>dC</sup>   | 8 <sup>eC</sup>  | 6 <sup>fC</sup>  |
|                                                                           | bAb                       | 12 <sup>dCD</sup>  | 15 <sup>cCD</sup>   | 15 <sup>bCD</sup>  | 17 <sup>aCD</sup>  | 15 <sup>bCD</sup>   | 12 <sup>cCD</sup>   | 10 <sup>dCD</sup>  | 7 <sup>eCD</sup> | –                |
|                                                                           | نایسین<br>(Nisin)         | 12 <sup>dD</sup>   | 16 <sup>cD</sup>    | 17.5 <sup>bD</sup> | 19 <sup>aD</sup>   | 17 <sup>bD</sup>    | 14 <sup>cD</sup>    | 10 <sup>dD</sup>   | 7 <sup>eD</sup>  | –                |

b: باکتریوسین؛ 10A: *L. plantarum* strain 3360؛ V3: *L. plantarum* strain Heal 19؛ S6: *L. plantarum* strain 7232؛ Sa: *L. plantarum* strain lb51؛ Ab: *L. plantarum* strain Lan4.

نتایج به صورت میانگین سه تکرار بیان شد. اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) نمی‌باشند. اعداد با حروف مشترک در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) نمی‌باشند.

b: bacteriocin; 10A: *L. plantarum* strain 3360; V3 *L. plantarum* strain Heal 19; S6: *L. plantarum* strain 7232; Sa: *L. plantarum* strain lb51; Ab: *L. plantarum* strain Lan4.

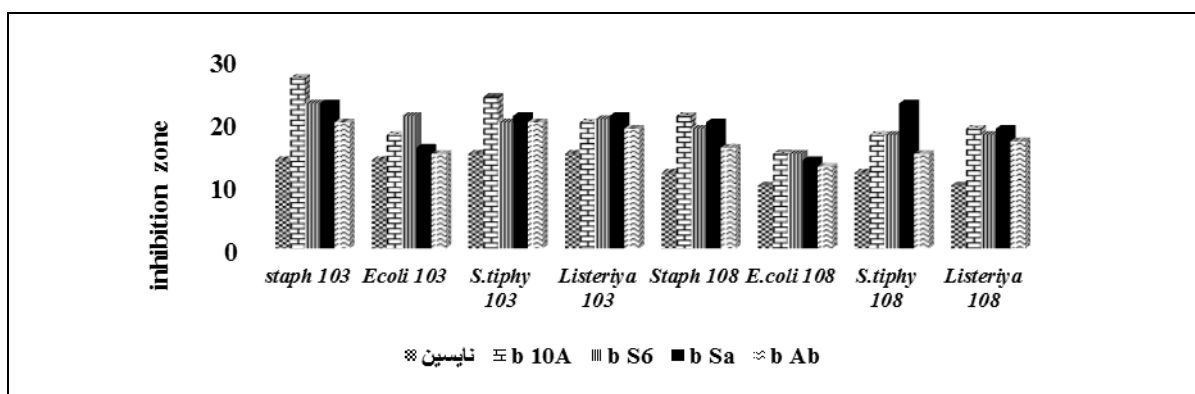
The results were expressed as the average of three repetitions. Numbers with same letters in each column do not have significant differences ( $p > 0.05$ ). Numbers with same letters in each row do not have a significant difference ( $p > 0.05$ ).

جدول ۱۰- MIC و MBC باکتریوسین‌های خالص شده و نایسین علیه شاخص‌های گرم مثبت و منفی  
Table 10- MIC and MBC of purified bacteriocins and Nisin against Gram positive and Gram negative indicators

| میکروارگانیسم شاخص<br>(Indicator microorganisms)<br>۱۰ <sup>۶</sup> CFU/mL | باکتریوسین<br>(Bacteriocin) | غلظت<br>(Concentration- ppm) |     |     |
|----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----|-----|
|                                                                            |                             | 650                          | 480 | 240 |
| استافیلوکوکوس اورئوس<br>( <i>Staphylococcus aureus</i> )<br>ATCC25922      | b10A                        | -                            | MIC | MBC |
|                                                                            | bS6                         | MIC                          | MBC | -   |
|                                                                            | bSa                         | MIC                          | MBC | -   |
|                                                                            | bAb                         | -                            | MIC | MBC |
|                                                                            | نایسین<br>(Nisin)           | MIC                          | MBC | -   |
| اشریشیا کلی<br>( <i>Escherichia coli</i> )<br>ATCC25923                    | b10A                        | -                            | MIC | MBC |
|                                                                            | bS6                         | MIC                          | MBC | -   |
|                                                                            | bSa                         | MIC                          | MBC | -   |
|                                                                            | bAb                         | -                            | MIC | MBC |
|                                                                            | نایسین<br>(Nisin)           | MIC                          | MBC | -   |

b: باکتریوسین؛ 10A: لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتاروم گونه ۳۳۶۰؛ V3: لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتاروم گونه 19؛ S6: لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتاروم گونه 7232؛ Sa: *L. plantarum* strain 3360؛ Ab: ۷۲۳۲: لاکتی پلانتهی باسیلوس پلانتاروم گونه Lan4.

b: bacteriocin; 10A: *L. plantarum* strain 3360; V3 *L. plantarum* strain Heal 19; S6: *L. plantarum* strain 7232; Sa: *L. plantarum* strain lb51; Ab: *L. plantarum* strain Lan4.



شکل ۵- مقایسه اثر باکتریوسین‌های استخراج شده با نایسین تجاری در مهار سویه‌های شاخص در رقت ۱۰<sup>۸</sup> و ۱۰<sup>۶</sup>

Fig. 6- Comparison of the effect of bacteriocins with commercial nisin in inhibiting the indicator strains in dilution 10<sup>3</sup> and 10<sup>8</sup>

سویه‌های بیماری‌زا فعالیت باکتریوسین جدا شده از سویه ۳۳۶۰ (b10A) در مقایسه با سه باکتریوسین دیگر و حتی نایسین بیشتر گزارش شد. ویژگی بازدارندگی تمامی باکتریوسین‌های استحصال شده در رقت ۱۰<sup>۸</sup> CFU/mL بیماری‌زا نیز حفظ گردید. با توجه به منابع، بیشترین اندازه هاله بازدارنده از رشد برای نایسین، در برابر لیستریا مونوسایتوژنز هست که در مقایسه با نتایج این آزمایش ویژگی ضدلیستریایی نایسین را ثابت می‌کند. نتایج این آزمایش با مطالعات

#### مقایسه فعالیت باکتریوسین‌های استخراج شده با نایسین تجاری

با توجه به نتایج MIC (جدول ۱۰) و برگه راهنمای نایسین، محلول ۶۵۰ میلی‌گرم در اسیدکلریدریک ۰/۰۲ نرمال معادل AU/ml ۶۵۰ باعث توقف رشد بیماری‌زاهای در هر دو رقت ۱۰<sup>۸</sup> و ۱۰<sup>۳</sup> گردید، رقت‌های مساوی از باکتریوسین‌های استخراج شده و نایسین تهیه و بعد از انجام آزمون چاهک‌گذاری در محیط مولر هینتون آگار بزردهی شده با رقت‌های ۱۰<sup>۳</sup> و ۱۰<sup>۸</sup> از باکتری‌های شاخص از نظر ویژگی بازدارندگی مورد ارزیابی قرار گرفتند. با توجه به شکل ۵ در رقت پایین

گرم منفی مانند لیستریا مونو سایتوزنز، سالمونلا تایفی موریوم و اشریشیا کلی در رقت  $10^8$  دارای ویژگی بازدارندگی بودند و تحت تاثیر آنزیمهای پیسین و پروتئیناز K این ویژگی با کاهش فعالیت باکتریوسین از بین می‌رود. با توجه به اینکه تمامی باکتریوسین‌های تولید شده در این پژوهش به درجه حرارت‌های بالا تا دمای  $121^\circ\text{C}$  درجه سانتی‌گراد (دمای اتوکلاو) مقاوم بودند، پایداری اثر مهاری در pHهای اسیدی و قلیایی و همچنین پایداری حرارتی، ویژگی‌های مهمی برای باکتریوسین‌های خالص شده محسوب می‌شود چرا که استفاده از آن‌ها را به عنوان محافظ میکروبی فرآورده‌های غذایی و دارویی که در طی فرایند، نگهداری و بسته بندی آن‌ها از حرارت‌های بالا استفاده می‌شود، میسر می‌سازد. هر چهار باکتریوسین حاصل در مقایسه با نایسین تجاری شده (Niseen - S) که در صنعت غذا به عنوان نگهدارنده بیولوژیک کاربرد زیادی داشته است، در رقت  $10^8$  بیماری‌زاهای شاخص دارای فعالیت بازدارندگی و هاله عدم رشد بزرگتری بودند. بدنبال خالص‌سازی و جداسازی این پپتیدها، پژوهش در خصوص ریزپوشانی و استفاده از این عوامل در فرآورده‌های غذایی با محدوده pH اسیدی و قلیایی از جمله انواع آبمیوه‌ها، فرآورده‌های گوشتی و انواع سس‌ها، بصورت ریزپوشانی شده و آزاد ادامه دارد.

### سپاسگزاری

از مرکز مطالعات و همکاری‌های بین‌المللی به دلیل حمایت مالی در انجام این پروژه قدردانی می‌گردد.

بنچ و همکاران (Benech et al., 2002) استفاده از نایسین Z برای متوقف کردن رشد لیستریا/ینوکوا و نتایج پژوهش انجام شده توسط شگری و همکاران (Shokri et al., 2013) در مورد ویژگی آنتی لیستریایی پلانتارسین DSH2O و مطالعات آشاری و همکاران (Ashari et al., 2019) بررسی حداقل مقدار کشندگی نایسین و همخوانی نزدیکی دارد. بالا بودن ویژگی ضد میکروبی باکتریوسین‌های استخراج شده در این آزمون در مقایسه با مقدار یکسان نایسین تجاری با باکتریوسین‌های استخراج شده از سویه‌های مختلف، نشان دهنده قدرت و فعالیت بالای آن‌ها در مقایسه با نایسین در مهار بیماری‌زا است (شکل ۵).

### نتیجه‌گیری

امروزه بحث‌هایی در مورد کاربرد مواد ضد میکروبی بیولوژیک در سیستم‌های غذایی به‌عنوان محافظ، در مقابل بیماری‌زاهای بیماری‌زا و عامل فساد وجود دارد که طی آن بر جست و جوی مواد و تکنولوژی‌های نوین برای نگهداری غذا و افزایش زمان ماندگاری آن‌ها بدون کاربرد مواد شیمیایی سنتزی در صنعت غذا تاکید شده است. در این میان باکتریوسین‌ها به دلیل ویژگی‌های مطلوب، ماهیت پروتئینی، عدم سمیت، قابلیت هضم بالا در برابر آنزیم‌های گوارشی و داشتن خصوصیت ضد میکروبی مهم تلقی شده‌اند. یافته‌های این پژوهش نشان داد باکتریوسین تمامی سویه‌های لاکتی پلانتی باسیلوس پلانتاروم علاوه بر باکتری‌های گرم مثبت بر باکتری‌های

### منابع

1. Abdollahzadeh, A., Rezaei, M., Hosseini, H., & Safari, R., (2012). The effect of nisin and thyme essential oil of Shirazi thyme alone and in combination on the population of *Listeria monocytogenes* inoculated in the minced meat of phytophagous fish. *Iranian Journal of Food Science*, 4, 13-20.
2. Ahn, H., Kim, J., & Kim, W.J. (2017). Isolation and characterization of bacteriocin-producing *Pediococcus acidilactici* HW01 from malt and its potential to control beer spoilage lactic acid bacteria. *Food Control*, 80, 59-66. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.04.022>.
3. Alirezalu, K., Hesari, J., Besharti, M., Yaghoubi, M., Nemati, Z., & Malayeri, H. (2020). Investigation the effects of nisin and nisin nanoparticles on physicochemical, microbial, sensory and shelf life of Frankfurter sausages. *Research and Innovation in Food Science and Technology*, 9, 221-236. <https://doi.org/10.22101/JRIFST.2020.195438.1108>.
4. Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M., & Joyandeh, H. (2021). Evaluation of activity and characterization of bacteriocin produced by lactobacilli bacteria isolated from local yogurt in Behbahan city. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Industry*, 16(2), 111-120. <https://doi.org/10.52547/nsft.16.2.111>
5. Alizadeh, P., Jamalifar, H., Samadi, N., Eidi, A., & Fazeli, M. (2010). The effect of NaCl on the growth and antimicrobial properties of *Lactobacillus* isolated from sourdough of traditional breads in Markazi province. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Industry*, 5(3), 47-56.
6. Ashari, D., Nissa, A., Nursiwi, A., Sari, A., & Utami, R. (2019). Antimicrobial effect of *Zingiber officinale* var. *officinale* essential oil and nisin against pathogenic and spoilage microorganisms. Paper presented at the IOP Conference Series: *Materials Science and Engineering*. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/633/1/012005>.
7. Ashtiani, S.H.M., Rafiee, M., Morad, M.M., Khojastehpour, M., Khani, M.R., Rohani, A., Shokri, B., & Martynenko, A. (2020). Impact of gliding arc plasma pretreatment on drying efficiency and physicochemical

- properties of grape. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 63, 102381. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102381>.
8. Attar, M.A., Yavarmanesh, M., Mortazavi, A., Dovom, M.R.E., & Najafi, M.B.H. (2018). Antibacterial effects of *Lactococcus lactis* isolated from Lighvan cheese regarding the recognition of Nisin, Lacticin and Lactococcin structural genes. *LWT-Journal of Food Science and Technology*, 89, 186-191. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.044>.
9. Benech, R.O., Kheadr E.E., Laridi R., Lacroix C., & Fliss I. (2002). Inhibition of listeria innocua in Cheddar cheese by addition of Nisin Z in Liposomes or by in situ production in mixed culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(8), 3683-3690. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.8.3683-3690.2002>.
10. Blana, V.A., Grounta, A., Tassou, C.C., Nychas, G.J.E., & Panagou, E.Z. (2014). Inoculated fermentation of green olives with potential probiotic *Lactobacillus pentosus* and *Lactobacillus plantarum* starter cultures isolated from industrially fermented olives. *Food Microbiology*, 38, 208-218. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.09.007>.
11. Calo-Mata, P., Arlindo, S., Boehme, K., de Miguel, T., Pascoal, A., & Barros-Velazquez, J. (2008). Current applications and future trends of lactic acid bacteria and their bacteriocins for the biopreservation of aquatic food products. *Food and Bioprocess Technology*, 1, 43-63. <https://doi.org/10.1007/s11947-007-0021-2>.
12. Chen, L., Gu, Q., Li, P., Li, Y., Song, D., & Yang, J. (2018). Purification and characterization of plantaricin ZJ316, a novel bacteriocin against *listeria monocytogenes* from *lactobacillus plantarum* ZJ316. *Journal of Food Protection*, 81, 1929-1935. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-306>.
13. Cotter, P.D., Stanton, C., Ross, R.P., & Hill, C. (2012). The impact of antibiotics on the gut microbiota as revealed by high throughput DNA sequencing. *Discovery Medicine*, 13, 193-199.
14. Ebrahimi, Z., Ismaili, A., Ahmadi, T.A., Emami, H., & Rabbani, M. (2016). Isolation and molecular identification of *Lactobacillus brevis* from native vinegar. *Biology of Microorganisms*, 5, 95-106. <https://doi.org/10.22108/bjm.2016.20386>.
15. El-Shouny, W., Abo-Kamar, A., El-Shanshoury, A.E.R., & Ragy, S. (2020). Production of plantarcin by *Lactobacillus plantarum* SR18. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 9, 1488-1504.
16. Fagundes, C., Sousa Santos, N., Albano, M., & Bastos, F. (2017). Genetic and biochemical characterization of hyicin 3682, the first bacteriocin reported for *Staphylococcus hyicus*. *Microbiological Research*, 198, 36-46. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.02.003>.
17. Ferchichi, M., Valcheva, R., Prévost, H., Onno, B., & Dousset, X. (2007). Molecular identification of the microbiota of French sourdough using temporal temperature gradient gel electrophoresis. *Food Microbiology*, 24, 678-686. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2007.04.001>.
18. Garriga, M., Hugas, M., Aymerich, T., & Monfort, J. (1993). Bacteriocinogenic activity of lactobacilli from fermented sausages. *Journal of Applied Bacteriology*, 75, 142-148. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1993.tb02759.x>.
19. Gonzalez, B., Arca, P., Mayo, B., & Suárez, J.E. (1994). Detection, purification, and partial characterization of plantaricin C, a bacteriocin produced by a *Lactobacillus plantarum* strain of dairy origin. *Applied and Environmental Microbiology*, 60, 2158-2163. <https://doi.org/10.1128/aem.60.6.2158-2163.1994>.
20. Grosu-Tudor, S.S., & Zamfir, M. (2011). Isolation and characterization of lactic acid bacteria from Romanian fermented vegetables. *Romanian Biotechnological Letters*, 16, 148-154.
21. Hosseininezhad, M., & Yazdi, M. (2016). Bacteriocins: Natural, safe, bio-preservatives and viable alternatives to chemical additives. *Journal of Biosafety*, 9, 49-59. <https://doi.org/20.1001.1.27170632.1395.9.2.8.2>.
22. Hu, M., Zha, H., Chong Zhang, C., Jiansheng, Yu, J., & Lu, Z. (2013). Purification and characterization of plantaricin 163, a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* 163 isolated from traditional Chinese fermented vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 11676-11682. <https://doi.org/10.1021/jf403370y>.
23. Hwanhlem, N., Ivanova, T., Biscola, V., Choiset, Y., & Haertle, T. (2017). Bacteriocin producing *Enterococcus faecalis* isolated from chicken gastrointestinal tract originating from Phitsanulok, Thailand: Isolation, screening, safety evaluation and probiotic properties. *Food Control*, 78, 187-195. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.02.060>.
24. Jiménez-Díaz, R., Rios-Sanchez, R., Desmazeaud, M., Ruiz-Barba, J.L., & Piard, J.C. (1993). Plantaricins S and T, two new bacteriocins produced by *Lactobacillus plantarum* LPCO10 isolated from a green olive fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 59, 1416-1424. <https://doi.org/10.1128/aem.59.5.1416-1424.1993>.
25. Kazemipoor, M., Radzi, C.W.J.W.M., Begum, K., & Yaze, I. (2012). Screening of antibacterial activity of lactic acid bacteria isolated from fermented vegetables against food borne pathogens. *ArXiv Preprint ArXiv*, 1206-6366. <https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0272>.

26. Kelly, W., Asmundson, R., & Huang, C. (1996). Characterization of plantaricin KW30, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Applied Bacteriology*, 81, 657-662. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1996.tb03561.x>.
27. Kumari, K., Sharma, S., & Kaundal, K. (2018). Production, purification and efficacy of bacteriocin isolated from natural lactic acid fermentation of wild Himalayan fig fruit. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 12, 879-885. <https://dx.doi.org/10.22207/JPAM.12.2.50>
28. Miraei Ashtiani, S.H., Aghkhani, M.H., Feizy, J., & Martynenko, A. (2023). Effect of cold plasma pretreatment coupled with osmotic dehydration on drying kinetics and quality of mushroom (*Agaricus bisporus*). *Food and Bioprocess Technology*, 1-23. <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03096-z>.
29. Miraei Ashtiani, S.H., Rafiee, M., Mohebi Morad, M., & Martynenko, A. (2022). Cold plasma pretreatment improves the quality and nutritional value of ultrasound-assisted convective drying: The case of goldenberry. *Drying Technology*, 40(8), 1639-1657. <https://doi.org/10.1080/07373937.2022.2050255>.
30. Navarro, L., Zarazaga, M., Aenz, J., Ruiz- Larrea, F., & Torres, C. (2000). Bacteriocin production by lactic acid bacteria isolated from Rioja red wines. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 44-51. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00865.x>.
31. Noktehsanj Avval, M., Hosseini-zhad, M., Pahlavanlo, A., & Ghoddusi, H.B. (2023). Creating optimal conditions for bacteriocin production from *Lactiplantibacillus plantarum* isolated from traditionally fermented fruits and vegetables. *Research and Innovation in Food Science and Technology*, 11(4), 351-366. <https://doi.org/10.22101/JRIFST.2022.331749.1332>.
32. Persulesy, C.B., Kusdiyantini, E., Ferniah, R.S., Agustini, T.W., & Budiharjo, A. (2020). Ina sua: The traditional Food Fermentation from Teon Nila Serua, Central of Maluku, Indonesia. *Journal of Ethnic Foods*, 7(1), 1-7. <https://doi.org/10.1186/s42779-020-00055-3>.
33. Rodríguez, E., Arqués, J.L., Rodríguez, R., Peiróten, Á., Landete, J.M., & Medina, M. (2012). Antimicrobial properties of probiotic strains isolated from breast-fed infants. *Journal of Functional Foods*, 4, 542-551. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.02.015>.
34. Schliep, K.P. (2011). phangorn: phylogenetic analysis in R. *Bioinformatics*, 27, 592-593. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq706>
35. Shahidi, F., Heydari, Sh., & Shahidi, M. (2014). Production of oral antimicrobial film to inhibit *Listeria monocytogenes* in meat. Paper presented at the 3rd National Conference on Food Science and Technology Quchan.
36. Shokri, D., Zaghian, S., Fazeli, H., Mobasherizadeh, S., & Ataei, B. (2013). Isolation and Purification of an Ultraviolet-Stable Bacteriocin Produced by Enterococcus Faecium Strain DSH20 against *Listeria monocytogenes*. *Journal of Isfahan Medical School*, 31, 236-242. [http://jims.mui.ac.ir/article\\_14071\\_20f000224d7a9652dfd89c1d4f6fb8df.pdf](http://jims.mui.ac.ir/article_14071_20f000224d7a9652dfd89c1d4f6fb8df.pdf)
37. Singh, S., & Sethi, S. (2018). *Fermentation Technology in Vegetables Advances in Postharvest Technologies of Vegetable*, Apple Academic Press, 355-379. <https://doi.org/10.1201/9781315161020>
38. Szutowska, J., & Gwiazdowska, D. (2021). Probiotic potential of lactic acid bacteria obtained from fermented curly kale juice. *Archives of Microbiology*, 203, 975-988. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-02095-4>.
39. Tafvizi, F., & Tajabadi Ebrahimi, M. (2012). DNA Fingerprinting Based on Repetitive Sequences of Iranian Indigenous Lactobacilli Species by (GTG)<sub>5</sub>- REP-PCR. *Journal of Fasa University of Medical Sciences*, 2, 218-226. <http://dorl.net/dor/20.1001.1.22285105.2012.2.3.14.2>
40. Thomas, L., & Delves-Broughton, J. (2005). *Nisin. Antimicrobials in Food*. Davidson PM, Sofos JN and Branen AL New York, NY: CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420028737>
41. Tiwari, S. K., & Srivastava, S. (2008). Purification and characterization of plantaricin LR14: a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* LR/14. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 79, 759-767. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1482-6>
42. Todorov, S., Onno, B., Sorokine, O., Chobert, J., Ivanova, I., & Dousset, X. (1999). Detection and characterization of a novel antibacterial substance produced by *Lactobacillus plantarum* ST 31 isolated from sourdough. *International Journal of Food Microbiology*, 48, 167-177. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(99\)00048-3](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(99)00048-3).
43. Udhayashree, N., Senbagam, D., Senthilkumar, B., Nithya, K., & Gurusamy, R. (2012). Production of bacteriocin and their application in food products. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2, S406-S410. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60197-X](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60197-X).
44. Xiang, Y.Z., Li, X.Y., Zheng, H.L., Chen, J.Y., Lin, L.B., & Zhang, Q.L. (2021). Purification and antibacterial properties of a novel bacteriocin against *Escherichia coli* from *Bacillus subtilis* isolated from blueberry ferments. *LWT-Journal of Food Science and Technology*, 146, 111456. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111456>.

45. Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M., Harris, H., Mattarelli, P., & Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of Lactobacillaceae and Leuconostocaceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2782-2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>.





## Evaluation the Effect of Wheat Germ Fermentation Using Yeast and Lactic Acid Bacteria on the Bioactive Compounds

E. Bayat asl<sup>1</sup>, M. Mousavinasab<sup>2</sup>, M. Fazaeli<sup>3\*</sup>

Received: 2021.12.18

Revised: 2022.05.11

Accepted: 2022.05.15

Available Online: 2022.05.15

### How to cite this article:

Bayat asl, E., Mousavinasab, M., & Fazaeli, M. (2023). Evaluation the effect of wheat germ fermentation using yeast and lactic acid bacteria on the bioactive compounds. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 19(2), 333-347. (In Persian with English abstract). <http://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.74066.1123>

### Introduction

Wheat germ is a valuable nutritional supplement and a by-product of the flour milling industry used for animal feed and oil extraction. Quinone compounds found in wheat germ have anti-cancer properties that are abundantly found in wheat germ. The aim of this study was to investigate the effect of fermentation conditions on the bioactive compounds in wheat germ with anti-cancer properties. For this purpose, the *Saccharomyces cerevisiae* 5022 and *Lactobacillus plantarum* strain 1058 were used for fermentation of wheat germ under different pH levels (4.5, 6, and 7.5) over different time (24, 48, and 72h). Response Surface Methodology was used to find the optimal fermentation conditions and to investigate the effects of above-mentioned conditions on DPPH radical scavenging activity, total phenolics and dimethoxy benzoquinone (DMBQ) content. Moreover, the amounts of bio-peptides and gamma aminobutric acid (GABA) were also determined under optimum conditions.

### Materials and Methods

To accomplish the fermentation process, 10 g of wheat germ was suspended in 200 mL of sodium phosphate buffer solution. Bacterial and yeast cells were then separated from the culture medium by a centrifugation at 6,000×g for 5 min at room temperature. The harvested cells were then washed with sterile phosphate buffer multiple times, resuspended in water to achieve a cell population of 108 CFU/mL, and finally homogenized using a vortex unit. The yeast and bacterial cells were incubated at 28° C and 37° C, respectively, for 24, 48, and 72 h at pH levels of 4.5, 6.0, and 7.5. Upon the completion of each fermentation process, the obtained samples were lyophilized. Total phenolic content (TPC) was measured using the method adapted by Liu *et al.* (2017). Briefly, the Folin-Ciocalteu phenol reagent was diluted ten times using distilled water. Subsequently, 0.1 mL of the extract was mixed with 0.75 mL of the diluted reagent. After 10 min, 0.75 mL sodium carbonate solution (2% w/v) was added to the mixture and vortexed. The absorbance was measured at 765 nm by a spectrophotometer. The antioxidant activity of fermented wheat germs was assessed using the free radical scavenging activity of the samples evaluated through a DPPH radical assay. Briefly, 2 mL of wheat germ extract was diluted with 100 mL 90% methanol aqueous solution. The methanol extract was then mixed with 4 mL of DPPH stock solution. The tube was subsequently kept in the dark for 45 min. The absorbance of each sample was then read using a spectrophotometer at 517 nm (Adedoyin *et al.*, 2013). Dimethoxy benzoquinone (DMBQ) content was measured by an HPLC system. Briefly, 10 g of lyophilized wheat germ sample was dissolved in 250 mL of distilled water and extracted three times by shaking with 200 mL of chloroform. The chloroform layers were collected, washed three times with distilled water, and exposed to sodium sulfate solution to induce drying of the sample. The filtrate was then evaporated using a vacuum evaporator at 30° C to achieve a stable dry material. The dried sample was thereafter

1 and 3- M.Sc. and Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran, respectively.

2- Professor, Aquatic Research Group, Faculty of Agriculture Shiraz University, Shiraz, Iran

(\*- Corresponding Author Email: [fazaeli@shirazu.ac.ir](mailto:fazaeli@shirazu.ac.ir))

DOI: [10.22067/ifstrj.2022.74066.1123](http://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.74066.1123)

dissolved in the mobile phase and injected into the HPLC column to determine the DMBQ content. The HPLC system was equipped with a C-18 column and a UV detector operating at 245 nm. The mobile phase consisted of 20% acetonitrile-80% water (v/v) mixture at a flow rate of 0.5 mL/min and a temperature of 25° C.

### Results and Conclusion

The highest biological activity was found when fermentation proceeded by *L. plantarum* under pH 6 for 48 h. Under these optimal conditions, total phenol content (3.33 mg of GAE/g), free DPPH radical scavenging (86.49%), dimethoxy benzoquinone content (DMBQ) (0.56 mg/g), peptide content (607 µg/mL) and gamma aminobutyric acid (GABA) (19983.88 mg/kg) were significantly higher than those of raw non-fermented samples. During the fermentation process, increasing the pH levels led to enhancement of antioxidant activity, total phenolic and DMBQ contents up to 48 h followed by a decline. Also, the fermentation time had a positive effect in the amount of the antioxidant activity, while it allowed an increased followed by a decrease in the contents of total phenolic and DMBQ. These findings underscore the importance of fermentation conditions of wheat germ by *L. plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae* and can potentially serve as a promising way for the development of valuable products with anti-cancer and antioxidant functions.

**Keywords:** Gamma Aminobutyric Acid, Quinone, *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cerevisiae*

## مقاله پژوهشی

# ارزیابی تأثیر تخمیر جوانه گندم با استفاده از مخمر و باکتری‌های اسید لاکتیک بر میزان ترکیبات زیست‌فعال

الناز بیات اصل<sup>۱</sup> - مرضیه موسوی نسب<sup>۲</sup> - محبوبه فضایی<sup>۳\*</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۲۷

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۲/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۲۵

## چکیده

جوانه‌ی گندم یک مکمل غذایی پر ارزش و یک محصول جانبی کارخانه‌ی آرد است که برای تامین غذای دام و تولید روغن مورد استفاده قرار می‌گیرد. ترکیبات کوئینون موجود در جوانه‌ی گندم دارای خاصیت ضد سرطانی است که به وفور در جوانه‌ی گندم یافت می‌شود. هدف از این پژوهش، مطالعه و بررسی اثر تخمیر بر ترکیبات زیست فعال موجود در جوانه‌ی گندم با خواص ضدسرطانی است. در این مطالعه تخمیر جوانه‌ی گندم توسط مخمر ساکارومایسس سرویسیه 5052 و باکتری لاکتوباسیلوس پلانتراروم 1058 در pH های معادل ۴/۵، ۶ و ۷/۵ و زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت صورت گرفت و از روش سطح پاسخ جهت یافتن شرایط بهینه تخمیر استفاده شد و جوانه‌ی گندم تخمیری بعد از خشک شدن از لحاظ خصوصیات فیزیکوشیمیایی و ترکیبات زیست فعال مورد بررسی قرار گرفت. پس از ۴۸ ساعت تخمیر میزان ترکیبات زیست فعال به بالاترین میزان خود رسید و در ادامه روند کاهش میزان این ترکیبات مشاهده شد و در ۷۲ ساعت به کمترین میزان رسیدند. به عنوان مثال میزان ترکیبات فنولی و دی متوکسی بنزوکوئینون نمونه‌های جوانه گندم تخمیر شده با مخمر در pH معادل ۶ در زمان‌های تخمیر ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب عبارت بودند از: ۲/۴۶، ۲/۹۰ و ۲/۷۵ میلی گرم معادل گالیک اسید در گرم و ۰/۰۷۶، ۰/۲۳۰ و ۰/۱۷۰ میلی گرم در گرم. شرایط بهینه‌ی به دست آمده در این مطالعه تخمیر جوانه گندم به وسیله باکتری لاکتوباسیلوس پلانتراروم 1058 در مدت زمان ۴۸ ساعت و pH معادل ۶ بدست آمد. در شرایط بهینه‌ی بدست آمده میزان فنول کل، رابندگی رادیکال آزاد DPPH و میزان دی متوکسی بنزوکوئینون به ترتیب ۳/۳۳ میلی گرم معادل گالیک اسید در گرم، ۸۶/۴۹ درصد و ۰/۵۶ میلی گرم در گرم بدست آمد.

**واژه‌های کلیدی:** ساکارومایسس سرویسیه، کوئینون، گاما آمینوبوتریک اسید، لاکتوباسیلوس پلانتراروم

## مقدمه

ابتدا در چین، هند، روسیه، ایالات متحده، فرانسه، کانادا، آلمان، پاکستان، استرالیا و اوکراین کشت می‌شد و میزان برداشت آن به ۷۶۰ میلیون تن در سال ۲۰۱۷ رسید (Babu et al., 2018). دانه‌ی گندم از سه بخش اصلی آندوسپرم (۸۵٪)، سبوس (۱۳٪) و جوانه (۲٪) تشکیل شده است. از بین سه قسمت مذکور جوانه‌ی گندم یکی از پرارزش‌ترین مکمل‌های غذایی و یک محصول جانبی کارخانه‌ی تولید آرد است که برای تامین غذای دام و تولید روغن به کار می‌رود (Rizzello et al., 2011).

جوانه‌ی گندم دارای بالاترین ارزش تغذیه‌ای و منبعی غنی از  $\alpha$  توکوفرول، ویتامین‌های گروه B و E، فیبرهای رژیمی، مواد معدنی

گندم بعد از برنج دومین غله‌ی پرمصرف انسان است. این گیاه یکی از اصلی‌ترین محصولات غذایی است که به دلیل داشتن کالری زیاد بیش از یک سوم از جمعیت جهان آن را مصرف می‌کنند. گندم

۱ و ۳- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد و استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران  
(Email: fazaeli@shirazu.ac.ir)

۲- استاد، پژوهشکده فرآوری آبزیان، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

DOI: 10.22067/ifstrj.2022.74066.1123

حال حاضر فرض بر این است که دو نوع کوئینون موجود در جوانه‌ی گندم یعنی متوکسی بنزو کوئینون و دی‌متوکسی بنزو کوئینون احتمالاً مسئول برخی از خواص بیولوژیکی هستند (Rizzello et al., 2013). تا به امروز بیش از ۲۰۰۰ نوع کوئینون طبیعی مانند آنتراکسونین ها، نفتاپوکینون ها و بنزو کینون ها شناخته شده است و مشخص گردیده بین غذاهای گیاهی جوانه‌ی گندم احتمالاً بهترین منبع متوکسی بنزو کوئینون و دی‌متوکسی بنزو کوئینون می‌باشد (Kim et al., 2010).

در مطالعاتی از ژنگ و همکاران (Zheng et al., 2016) که به بررسی بهینه‌سازی فرآیند تخمیر جوانه‌ی گندم با مخمر ساکارومایسس سرویسسه RC212 به منظور افزایش تولید فلاونوئیدها و بنزو کوئینون بر اساس پارامترهای سرعت، دما، زمان و pH پرداختند، نتایج بدست آمده نشان دهنده‌ی بیشترین میزان متوکسی بنزو کوئینون و دی‌متوکسی بنزو کوئینون در مقابل پایین‌ترین مقدار فلاونوئیدها بود و این موضوع رابطه‌ی عکسی با میزان متابولیسم مخمر داشت یعنی افزایش متابولیسم ساکارومایسس سرویسسه منجر به کاهش فلاونوئید در طول تخمیر شد (Zheng et al., 2016). عصاره‌ی جوانه‌ی گندم تخمیر شده با مخمر حاوی صدها تا هزاران مولکول مختلف می‌باشد و علاقه به تخمیر جوانه‌ی گندم با استفاده از مخمر و باکتری‌های اسید لاکتیک روبه‌روز در حال افزایش است (Zhang et al., 2015).

در مطالعه‌ای دیگر از ژنگ و همکاران (Zhang et al., 2015) تاثیرات عصاره‌ی جوانه‌ی گندم تخمیری با باکتری لاکتوباسیلوس پلانتراروم dy-1 بر سلول سرطانی HT-29 مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد فعالیت آنتی‌اکسیدانی و خاصیت ضد سرطانی عصاره‌ی جوانه‌ی گندم امکان دارد علاوه بر کوئینون‌ها به عوامل دیگری نیز وابسته باشد (Zhang et al., 2015). پپتیدهای زیست فعالی که در محصولات مختلف از جمله غلات، حبوبات، شیر، گوشت، تخم مرغ و موجودات دریایی مختلف وجود دارد می‌تواند عاملی بسیار مهم و موثر در فعالیت‌های زیستی از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی باشد (Rizzello et al., 2013). تخمیر در تولید پپتیدهای کوچکتر بسیار موثر است و افزایش فنول‌ها و پپتیدهای زیست فعال در کنار هم منجر به افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود (Liu et al., 2017).

اولین هدف از این پژوهش، تخمیر جوانه‌ی گندم در زمان‌ها و pHهای متفاوت با استفاده از مخمر ساکارومایسس سرویسسه PTCC 5052 و باکتری لاکتوباسیلوس پلانتراروم PTCC 1058 جهت به دست آوردن شرایط بهینه به منظور افزایش ترکیبات فعال زیستی و

مانند کلسیم، فسفر، روی، ید، سلنیوم و منیزیم و پروتئین‌های به طور غالب آلومین و گلوبولین است و به طور کلی منبع بی‌نظیری از مواد مغذی می‌باشد که برای سلامتی بسیار مفیدند (Zhang et al., 2017). جوانه‌ی گندم سرشار از اسیدآمینه‌های ضروری لیزین، متیونین و ترئونین است که در بسیاری از غلات کمبود آن‌ها دیده می‌شود، این اسیدهای آمینه بایستی از طریق جیره‌ی غذایی روزانه به بدن برسند در غیر این صورت عوارض کمبود آنها ظاهر می‌شود. گفتنی است ترکیب اسیدهای آمینه در پروتئین‌های جوانه‌ی گندم از لحاظ شیمیایی مشابه پروتئین‌های موجود در تخم‌مرغ است (Rizzello et al., 2010). ترکیبات فعال زیستی موجود در جوانه‌ی گندم شامل فنولیک اسیدها، ساپونین ها، فلاونوئیدها، آلفا آمینوبوتیریک اسید (GABA)، کینون‌ها و پپتیدهای فعال زیستی هستند (Rizzello et al., 2013). جوانه‌ی گندم همچنین دارای مقادیر زیادی اسیدهای چرب اشباع نشده عمدتاً اسیدهای اولئیک، لینولئیک و  $\alpha$  لینولئیک است (Zhu et al., 2006).

با وجود تمام فوایدی که ذکر شد استفاده از جوانه‌ی گندم به دلیل داشتن فاکتورهای ضد تغذیه‌ای اسید فیتیک، رافینوز و آگلوتنین و ماندگاری کم به دلیل وجود اسیدهای چرب اشباع نشده و فعالیت زیاد آنزیم‌های لیپاز و لیپوکسیژناز هنوز چالش برانگیز است و استفاده‌ی غذایی اندکی برای انسان دارد. پسماند سالانه‌ی جوانه در دنیا ۲۵,۰۰۰,۰۰۰ تن ارزیابی شده است. با تکنیک‌های زیستی مثل تخمیر می‌توان ارزش بیولوژیکی جوانه را افزایش داد و دسترسی به ترکیبات زیست فعال آن را زیاد کرد (Zhang et al., 2015).

مواد غذایی تخمیر شده در سراسر جهان حدود یک سوم رژیم غذایی را تشکیل می‌دهند. پروتئین‌ها و ویتامین‌های موجود در غلات می‌توانند با تخمیر بهبود یابند (Kohajdov and Karovi, 2007). تخمیر ممکن است تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله میکروارگانیسم مورد استفاده، pH، دما و زمان تخمیر قرار گیرد. شایان توجه است که انتخاب نوع میکروارگانیسم به کار رفته در فرایند تخمیر بستگی به محصول نهایی مورد نظر دارد هم‌چنین فاکتور pH از مهمترین پارامترهای محیطی است که بر تخمیر مواد غذایی تأثیر می‌گذارد و با رشد میکروبی در طول تخمیر ارتباط نزدیکی دارد. تغییرات دما نیز بر روند فرایند تخمیر بسیار موثر است و حفظ دمای مطلوب در طول تخمیر منجر به رشد مناسب میکروارگانیسم و فعالیت آنزیمی می‌گردد (Hur et al., 2014). از این رو به دست آوردن شرایط بهینه فرایند تخمیر از اهمیت بسیاری برخوردار است.

در مطالعات متعددی اشاره شده که تخمیر جوانه‌ی گندم با مخمر ساکارومایسس سرویسسه با نام تجاری آومار دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی می‌باشد (Zhang et al., 2015). در

دومین هدف بررسی میزان ترکیبات زیست فعال در عصاره‌ی جوانه‌ی گندم تخمیر شده و خاصیت آنتی اکسیدانی آنها می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### مواد اولیه‌ی مورد استفاده

جوانه‌ی گندم رقم شیراز از کارخانه‌ی آرد خوشه‌ی شیراز تهیه شد و به منظور جلوگیری از اکسید شدن و تغییرات نامطلوب در دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری گردید. مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق عبارتند از: هیدروکسید سدیم (سود سوزآور)، سدیم کلرید، استونیتریل، کلروفرم، محیط کشت YGC (Yeast Glucose) و Chloramphenicol (MRS (de Man-Rogosa-Sharpe) و محصول شرکت مرک، آلمان می‌باشند. اتانول، متانول و هگزان نرمال محصول شرکت آلمان سینا، ایران می‌باشند و استاندارد دی متوکسی بنزوکوئینون نیز از شرکت سیگما تهیه شد. میکروارگانیزم‌های مورد استفاده در تحقیق حاضر مخمر ساکارومایسس سرویسیه PTCC 5052 و باکتری لاکتوباسیلوس پلاتناروم PTCC 1058 از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شدند.

### تخمیر جوانه‌ی گندم

در این تحقیق سیستم تخمیر از نوع تخمیر غوطه وری می‌باشد. مخمر ساکارومایسس سرویسیه در محیط کشت YGC تحت دمای ۲۸ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت داخل شیکر انکوباتور با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه گرمخانه‌گذاری و فعالسازی گردید. باکتری لاکتوباسیلوس پلاتناروم به مدت ۴۸ ساعت در انکوبه ۳۷ درجه‌ی سلسیوس با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه گرمخانه‌گذاری و فعالسازی و سپس تعداد سلول میکروارگانیزم با روش مک فارلند تعیین گردید. ۱۰ گرم جوانه گندم با ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات سدیم (۰/۰۵ مولار) استریل مخلوط شد. فرایند تخمیر با مخمر و باکتری به ترتیب در دمای ۲۸ و ۳۷ درجه سلسیوس در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت و در pHهای معادل ۴/۵، ۶/۰ و ۷/۵ صورت گرفت. پس از اتمام فرایند تخمیر، نمونه‌ها با استفاده از خشک‌کن انجمادی خشک گردید و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس برای آنالیزهای شیمیایی بیشتر نگهداری شدند.

### خصوصیات فیزیکی و شیمیایی

اندازه‌گیری مقدار رطوبت نمونه‌ها طبق روش استاندارد (AACC) به شماره ۴۴-۱۹، خاکستر با استفاده از روش استاندارد (AACC) به شماره ۰۸-۰۱، مقدار چربی با استفاده از روش سوکسله طبق روش استاندارد (AACC) به شماره ۱۰-۳۰ و پروتئین از روش میکروکلدال

طبق استاندارد (AACC) به شماره ۱۰-۴۶ انجام شد (AACC, 2000).

### میزان فنول کل

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل مطابق روش ارائه شده توسط لو و همکاران (Lu et al., 2012) انجام شد. برای عصاره‌گیری، ۲ گرم از نمونه در متانول ۹۰ درصد حل شد و در سانتریفیوژ (شتاب  $600 \times g$  به مدت ۳۰ دقیقه) قرار گرفت. عصاره به دست آمده در دمای ۴- درجه سلسیوس نگهداری شد. در این روش ابتدا معرف فولین سیوکالتیو به وسیله‌ی آب مقطر به میزان ۱۰ برابر رقیق شد سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره با ۰/۷۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتیو رقیق شده، مخلوط شده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۰ درجه‌ی سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد. سپس ۰/۷۵ میلی‌لیتر از محلول سدیم کربنات ۲ درصد (وزنی/حجمی) به مخلوط اضافه شده و مخلوط در تاریکی و به مدت ۴۵ دقیقه نگهداری شد و پس از آن میزان جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان ترکیبات فنولی کل با استفاده از استاندارد گالیک‌اسید (۰/۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میلی‌گرم در لیتر) تعیین و به صورت میلی‌گرم معادل گالیک‌اسید در گرم نمونه گزارش شد (Lu et al., 2012).

### ربا‌ی‌دگی رادیکال آزاد DPPH

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی از دی‌فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) استفاده شد. ابتدا در حلال متانول ۹۰ درصد، ۲ میلی‌لیتر از عصاره‌های مختلف استخراج شده جوانه‌ی گندم رقیق سازی گردید. سپس محلول DPPH به غلظت ۴ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال (متانول ۹۰ درصد) را تهیه کرده و به هر ۲ میلی‌لیتر از محلول عصاره ۱ میلی‌لیتر محلول DPPH اضافه شد و بعد از به‌هم‌زدن، لوله‌ها به مدت ۴۵ دقیقه در تاریکی قرار گرفت. در نمونه‌ی کنترل، به جای محلول عصاره از حلال استفاده شد. پس از گذشت این زمان با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر میزان جذب محلول قرائت شد (Adedoyin et al., 2013). درصد ربا‌ی‌دگی رادیکال آزاد DPPH طبق معادله زیر محاسبه گردید:

$$RSA = \{(A_C - A_S) / A_C\} \times 100 \quad (1)$$

A<sub>C</sub>: جذب RSA: ربا‌ی‌دگی رادیکال آزاد DPPH (درصد)، A<sub>S</sub>: جذب نمونه کنترل،

### میزان دی متوکسی بنزوکوئینون (DMBQ)

اندازه‌گیری میزان دی متوکسی بنزوکوئینون با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و پمپ ۱۰۰۰ (کنابر، آلمان) انجام

ماده‌ای چسبناک بود که در ته فالكون قرار داشت. ۱ میلی‌لیتر آب یون زدایی شده، رقیق گردید و محلول رقیق شده از فیلتر غشایی ۰/۴۵ میکرومتر عبور داده شد و با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، پمپ ۱۰۰۰ (کنابر، آلمان) و شناساگر IR میزان گابا اندازه‌گیری گردید. مراحل مذکور برای استانداردهای گابا تکرار شد. میزان ۲۰ میکرولیتر از نمونه به ستون دستگاه (125×3mm, 5μm) HPLC column Nucleodur C18 Pyramaid تزریق شد. دمای ستون ۲۵ درجه‌ی سلسیوس و فاز ثابت ستون، آب و سرعت جریان ۰/۶ میلی‌لیتر بر دقیقه بود (Donkor et al., 2012).

### تحلیل آماری

در این مطالعه ۲۶ نمونه با شرایط تخمیر متفاوت مورد بررسی قرار گرفت. جهت یافتن شرایط بهینه‌ی تخمیر از نرم‌افزار Design Expert (نسخه ۱۰)، روش سطح پاسخ و طرح مرکب مرکزی استفاده شد. شکل‌ها با استفاده از نرم‌افزار Design Expert و نرم‌افزار اکسل (2016) رسم گردید. به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از طرح آماری بلوک کاملاً تصادفی و نرم‌افزار آماری بسته نرم‌افزاری (SPSS) استفاده گردید. آزمون‌ها در سه تکرار انجام شد سپس میانگین و انحراف معیار داده به دست آمد. مقایسه میانگین داده‌ها و بررسی معنی‌دار بودن اختلاف بین آن‌ها توسط آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

### نتایج و بحث

#### ترکیب شیمیایی نمونه جوانه گندم

ترکیب شیمیایی اصلی نمونه جوانه گندم خام استفاده شده حاوی میانگین چربی ۱۴/۰۰٪، پروتئین ۳۲/۰۰٪، خاکستر ۲/۵۰٪ و رطوبت ۱۵/۵۰٪ بوده است.

#### بدست آوردن شرایط بهینه‌ی تخمیر جوانه‌ی گندم

جهت یافتن شرایط بهینه از روش سطح پاسخ و طرح مرکب مرکزی استفاده شد. آزمایش‌های مربوطه با توجه به نقاط تعریف شده در روش سطح پاسخ انجام گردید. جهت بهینه‌سازی شرایط تخمیر، اثر متغیرهای مستقل شامل pH ( $X_1$ ) و زمان ( $X_2$ ) در سه سطح و نوع میکروارگانیسم ( $X_3$ ) در دو سطح مورد ارزیابی قرار گرفت. آزمون‌ها و نتایج حاصل از هر آزمون در جدول ۱ ارائه شده است. آزمون‌ها شامل ۲۶ تیمار بود. برای یافتن شرایط عملیاتی بهینه در ابتدا اهداف بهینه‌سازی را مشخص کرده و سپس سطوح پاسخ و متغیرهای مستقل را تنظیم کرده و با استفاده از روش سطح پاسخ، بهترین پاسخ‌ها بدست آمد.

شد. ۱۰ گرم از نمونه‌ی خشک شده در ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید و با همزن در ۲۰۰ میلی‌لیتر کلروفرم سه بار استخراج آن صورت گرفت. لایه‌های کلروفرم جمع‌آوری و سه بار شسته شد سپس در مجاورت سدیم سولفات ( $Na_2SO_4$ ) خشک گردید. ماده‌ی عبور کرده از فیلتر با استفاده از اواپراتور تحت خلاء در دمای ۳۰ درجه‌ی سلسیوس تبخیر گشت و به یک شرایط خشک و پایدار رسانده شد. ماده خشک در فاز متحرک حل شد و از فیلتر ۰/۴۵ میکرونی عبور داده شد و در ادامه با ستون HPLC (250×4.6 mm, 5μm) column Nucleodur C18 Pyramaid در طیف فرابنفش ۲۴۵ نانومتری با دکتور UV اندازه‌گیری مقدار دی متوکسی بنزو کوئینون صورت گرفت. فاز متحرک شامل ۲۰ درصد استونیتریل و ۸۰ درصد آب و نرخ جریان ۰/۵ میلی‌لیتر بر دقیقه و دما ۲۵ درجه‌ی سلسیوس بود. استاندارد دی متوکسی بنزو کوئینون در فاز متحرک حل شد و به عنوان مرجع مورد استفاده قرار گرفت. شناسایی پیک‌ها با زمان بازدارندگی صورت گرفت. غلظت دی متوکسی بنزو کوئینون بر اساس استاندارد تهیه شده تعیین گردید. تمام اندازه‌گیری‌ها با سه بار تکرار انجام شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم بر گرم ماده خشک بیان گشت (Zheng et al., 2017).

#### میزان پپتید در شرایط بهینه

نخست ۰/۲۵ میلی‌لیتر از نمونه‌ی جوانه‌ی تخمیر شده توزین شد و با ۲ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات ۰/۲۱۲۵ مولار با pH معادل ۸/۲ مخلوط شد سپس ۲ میلی‌لیتر محلول تری‌نیترو بنزوسولفوریک اسید (TNBS) ۰/۱ (حجمی/حجمی) به مخلوط افزوده گشت. مخلوط حاصل به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه‌ی سلسیوس در تاریکی گرمخانه‌گذاری و سپس برای متوقف کردن واکنش، ۴ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال به آن افزوده گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد. در نهایت جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۴۰ نانومتر قرائت گردید. برای تعیین میزان پپتید نمونه از اسیدآمینه‌ی L-Leuainy در غلظت‌های ۱/۲ - ۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به عنوان نمودار استاندارد استفاده شد (Rizzello et al., 2010).

#### میزان گاما آمینو بوتیریک اسید (گابا) در شرایط بهینه

۰/۲۵ گرم از نمونه جوانه‌ی تخمیر شده توزین و با ۱ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد مخلوط گردید. این مخلوط تحت سانتریفیوژ (۱۰۰۰۰ دور در دقیقه، ۴ درجه سلسیوس، ۱۰ دقیقه) قرار گرفت، مایع فوقانی برداشته شد و درون یک فالكون ریخته شد. مرحله‌ی بالا تکرار و مایع فوقانی جدید به مایع فوقانی قبلی اضافه گردید. حلال با استفاده از آون در دمای ۴۰ درجه‌ی سلسیوس تبخیر گشت. باقیمانده‌ی نمونه



جدول ۱- نقاط مشخص شده با طرح مرکب مرکزی جهت بررسی ویژگی‌های جوانه گندم تخمیر شده

Table 1- The points marked with the central composite design to investigate the characteristics of the fermented wheat germ

| نمونه<br>Sample | pH  | زمان <sup>۱</sup><br>Time | نوع میکروارگانیسم<br>Microorganism Type | TPC <sup>۲</sup> | RSA <sup>۳</sup> | DMBQ <sup>۴</sup> |
|-----------------|-----|---------------------------|-----------------------------------------|------------------|------------------|-------------------|
| 1               | 7.5 | 24                        | مخمر<br>Yeast                           | 1.80             | 50.01            | 0.069             |
| 2               | 7.5 | 48                        | باکتری<br>Bacteria                      | 2.43             | 78.13            | 0.210             |
| 3               | 7.5 | 72                        | باکتری<br>Bacteria                      | 2.05             | 82.37            | 0.160             |
| 4               | 7.5 | 72                        | مخمر<br>Yeast                           | 2.33             | 71.01            | 0.120             |
| 5               | 7.5 | 48                        | مخمر<br>Yeast                           | 2.76             | 65.09            | 0.200             |
| 6               | 6.0 | 48                        | باکتری<br>Bacteria                      | 2.89             | 65.82            | 0.520             |
| 7               | 6.0 | 24                        | باکتری<br>Bacteria                      | 2.75             | 77.78            | 0.098             |
| 8               | 4.5 | 48                        | مخمر<br>Yeast                           | 2.53             | 77.53            | 0.150             |
| 9               | 4.5 | 24                        | باکتری<br>Bacteria                      | 1.83             | 59.49            | 0.088             |
| 10              | 6.0 | 24                        | مخمر<br>Yeast                           | 2.46             | 75.44            | 0.076             |
| 11              | 6.0 | 72                        | باکتری<br>Bacteria                      | 3.05             | 89.15            | 0.360             |
| 12              | 4.5 | 72                        | باکتری<br>Bacteria                      | 2.26             | 80.19            | 0.210             |
| 13              | 6.0 | 48                        | باکتری<br>Bacteria                      | 2.95             | 83.24            | 0.530             |
| 14              | 4.5 | 72                        | مخمر<br>Yeast                           | 2.33             | 82.77            | 0.084             |
| 15              | 7.5 | 24                        | باکتری<br>Bacteria                      | 1.64             | 61.08            | 0.079             |
| 16              | 6.0 | 48                        | باکتری<br>Bacteria                      | 3.41             | 85.64            | 0.600             |
| 17              | 4.5 | 48                        | باکتری<br>Bacteria                      | 2.54             | 75.85            | 0.400             |
| 18              | 6.0 | 48                        | باکتری<br>Bacteria                      | 3.62             | 86.88            | 0.620             |
| 10              | 6.0 | 72                        | مخمر<br>Yeast                           | 2.75             | 87.27            | 0.170             |
| 20              | 6.0 | 48                        | مخمر<br>Yeast                           | 2.90             | 80.19            | 0.230             |
| 21              | 4.5 | 24                        | مخمر<br>Yeast                           | 1.59             | 61.08            | 0.065             |
| 22              | 6.0 | 48                        | مخمر<br>Yeast                           | 3.45             | 85.00            | 0.350             |
| 23              | 6.0 | 48                        | مخمر<br>Yeast                           | 3.10             | 81.80            | 0.250             |
| 24              | 6.0 | 48                        | مخمر<br>Yeast                           | 3.20             | 82.34            | 0.270             |
| 25              | 6.0 | 48                        | مخمر<br>Yeast                           | 3.34             | 85.73            | 0.380             |
| 26              | 6.0 | 48                        | باکتری<br>Bacteria                      | 3.99             | 88.95            | 0.640             |

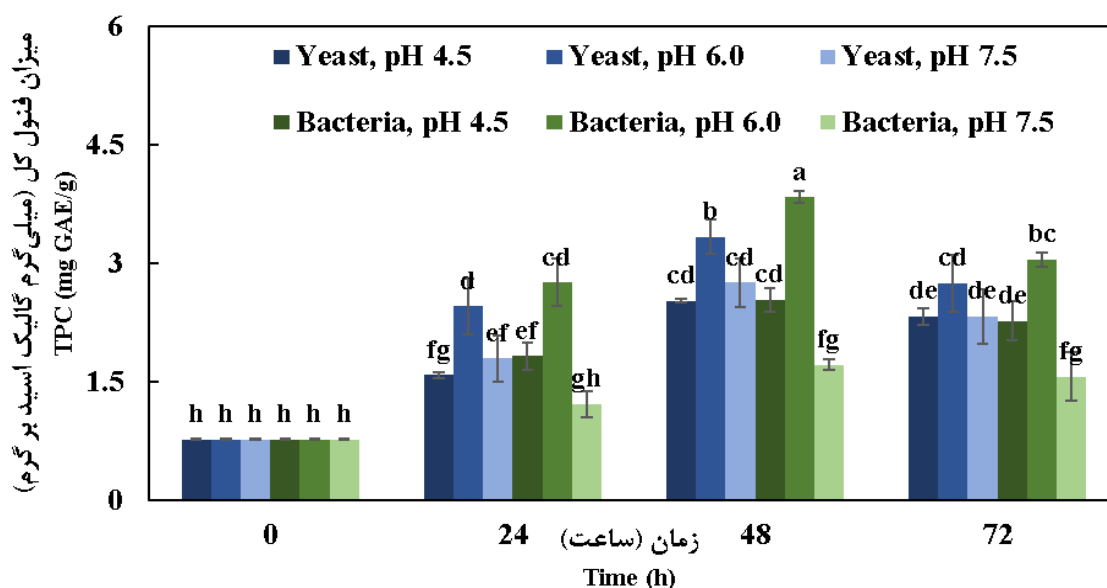
<sup>۱</sup> برحسب ساعت؛ <sup>۲</sup> میزان فنول کل برحسب میلی‌گرم معادل گالیک اسید در گرم؛ <sup>۳</sup> رابندگی رادیکال آزاد DPPH بر حسب درصد؛ <sup>۴</sup> دی متوکسی بنزوکینون بر حسب میلی گرم در گرم

<sup>1</sup> by the hour; <sup>2</sup> The amount of total phenol in milligrams equivalent to gallic acid per gram; <sup>3</sup> DPPH free radical scavenging in percentage; <sup>4</sup> Dimethoxybenzoquinone in mg/g

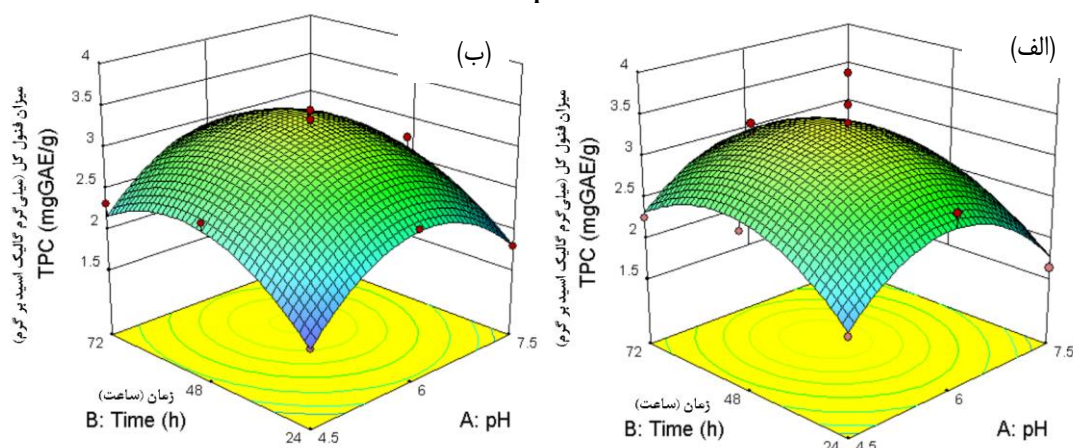
### میزان فنول کل

تغییرات میزان فنول کل در جوانه‌ی گندم تخمیر شده توسط مخمر و باکتری در شکل ۱ نشان داده شده است و همچنین با روش سطح پاسخ به صورت نمودار سه بعدی به ترتیب در شکل‌های ۲ (الف) و (ب) نشان داده شده است. میزان فنول کل جوانه‌ی گندم تخمیرشده در محدوده ۴-۱/۶ میلی گرم معادل گالیک اسید در گرم قرار دارد.

تنظیمات اعمال شده برای بهینه‌سازی شامل حداکثر شدن میزان فنول کل، حداکثر شدن درصد ربایندگی رادیکال آزاد DPPH و حداکثر شدن میزان دی متوکسی بنزوکوئینون بود. شرایط بهینه‌ی تخمیر جوانه‌ی گندم تخمیر شده توسط باکتری در pH برابر با ۶ و زمان تخمیر ۴۸ ساعت با مطلوبیت ۰/۸۳۲ بدست آمد. در این شرایط میزان فنول کل، ربایندگی رادیکال آزاد DPPH و میزان دی متوکسی بنزوکوئینون به ترتیب ۳/۳۳ میلی گرم معادل گالیک اسید در گرم، ۸۶/۴۹ درصد و ۰/۵۶ میلی گرم بدست آمد.



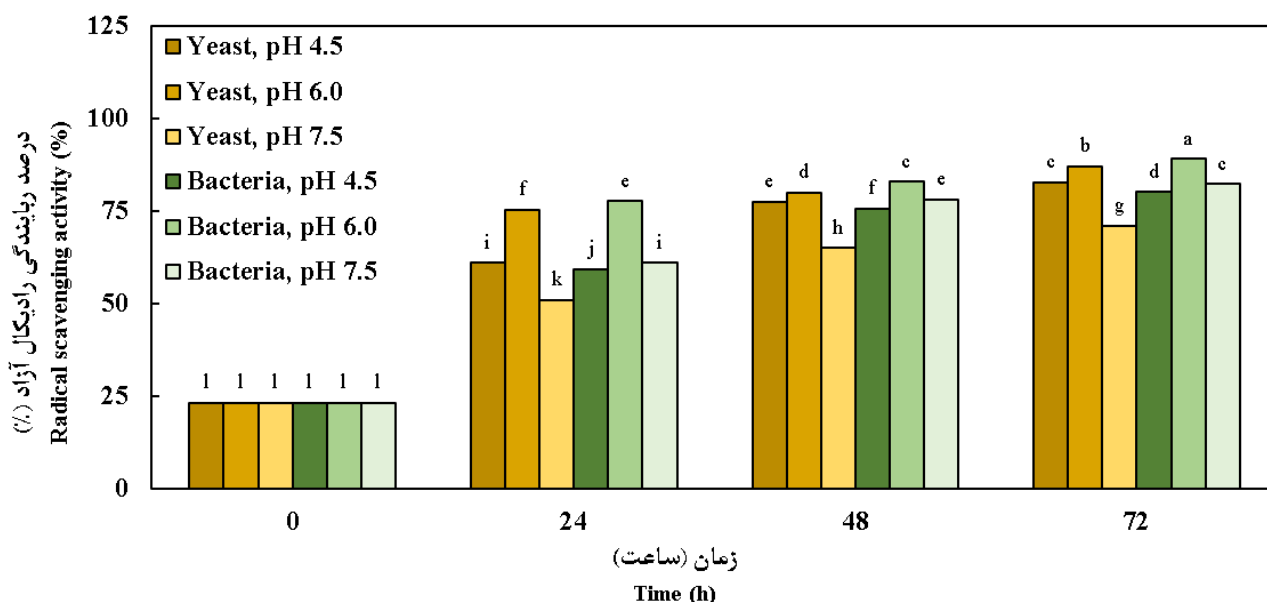
شکل ۱- مقایسه اثر نوع میکروارگانیسم بر میزان فنول کل جوانه گندم طی تخمیر در pH ها و زمان‌های مختلف تخمیر  
Fig. 1- Comparison of the effect of the type of microorganism on the amount of total phenol in wheat germ during fermentation at different pHs and fermentation times



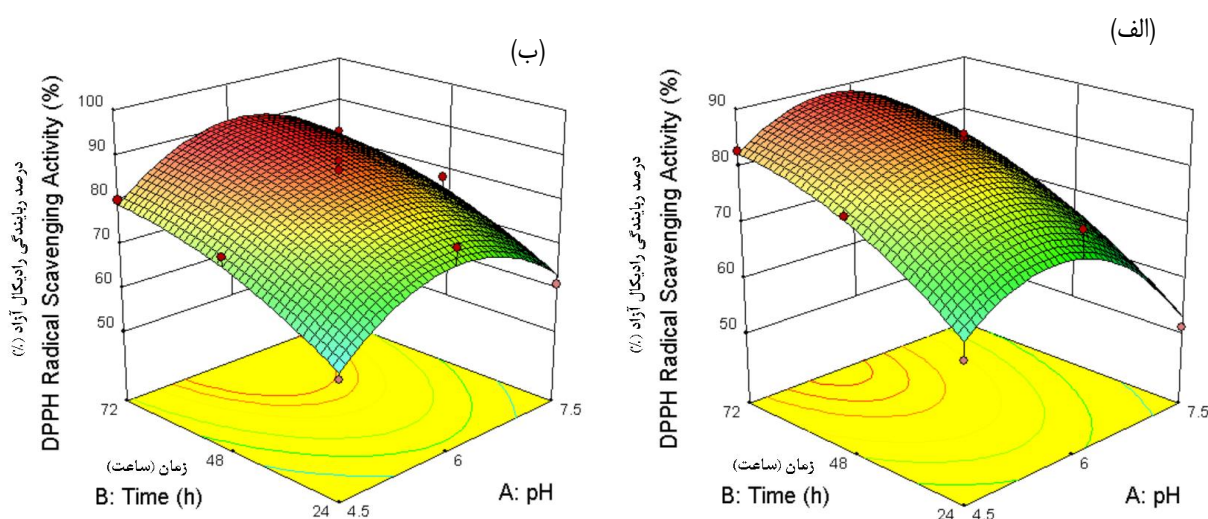
شکل ۲- اثر pH و زمان بر میزان فنول کل جوانه گندم تخمیر شده توسط (الف) مخمر و (ب) باکتری  
Fig. 2- Effect of pH and time on total phenolic content of wheat germ fermented by (a) yeast and (b) bacteria

بعد از تخمیر در ۷۲ ساعت به بالاترین میزان خود (۲۶/۰۲ میلی گرم گالیک اسید در گرم) رسید (Liu et al., 2017). ساندهو و همکاران (Sandhu et al., 2016) تخمیر جوانه‌ی گندم را با اسپرژیلوس انجام دادند و فنول کل جوانه گندم را ۱/۳ میلی گرم گالیک اسید در گرم گزارش کردند که بعد از تخمیر و از روز دوم میزان آن افزایش یافت و به ۳/۵۴ میلی گرم گالیک اسید در گرم رسید، آن‌ها به این نتیجه رسیدند میزان تغییرات ترکیبات فنولی وابسته به نوع میکروارگانیسم، بستره و شرایط محیطی متغیر است (Sandhu et al., 2016). در باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمر ساکارومایسس سرویسیه آنزیم‌هایی از قبیل بتاگلوکوزیداز، کربوکسیلاز، آلفاگلوکوزیداز و فسفوکینازها گسترده است که در طی تخمیر بیشتر فیبرهای دیواره سلولی مانند سلولز، همی سلولز و پنتوزان‌ها را تخریب می‌کنند و در نتیجه پلی فنول‌های اتصال یافته به همی سلولز آزاد گشته و باعث افزایش پلی فنول می‌شوند. در این مطالعه گزارش شد که فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز تولید شده توسط میکروارگانیسم‌ها مسئول افزایش پلی فنول بوده و همچنین در رابطه با تأثیر pH بر میزان ترکیبات فنولی هور و همکاران (Hur et al., 2014) به این نتیجه رسیدند که میزان تغییرات ترکیبات فنولی و pH به نوع میکروارگانیسم مورد استفاده بستگی دارد که در مورد باکتری اسید لاکتیک محیط اسیدی بوده و بنابراین امکان کم شدن فنول وجود داشت (Hur et al., 2014).

در سطوح یکسان pH، با افزایش زمان تخمیر با هر دو نوع میکروارگانیسم مخمر و باکتری تا زمان ۴۸ ساعت میزان ترکیبات فنولی به طور معنی داری افزایش یافت ( $p < 0.05$ ) پس از این زمان (تا انتهای زمان تخمیر، ۷۲ ساعت) میزان فنول کل تقریباً ثابت ماند و در بعضی نقاط کاهش یافت که می‌تواند به دلیل فعالیت آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز باشد. در ارتباط با مخمر، بالاترین میزان فنول کل مربوط به زمان ۴۸ ساعت و pH معادل ۶/۰ بود. در نهایت در مقایسه با جوانه‌ی گندم خام (جوانه‌ی گندم تخمیر نشده) تخمیر باعث افزایش معنی دار میزان فنول کل شد. ژنگ و همکاران (Zheng et al., 2016) گزارش کردند که تغییرات فلاونوئید در تخمیر جوانه‌ی گندم با مخمر ساکارومایسس سرویسیه باعث شد که میزان فلاونوئید در بالاترین سطح ۳/۶ میلی گرم گالیک اسید برگرم قرار گیرد. طبق مطالعات آن‌ها بعد از ۴۸ ساعت فلاونوئید کاهش پیدا کرد و به ۱/۵ میلی گرم گالیک اسید برگرم رسید (Zheng et al., 2016). در زمان تخمیر ۴۸ ساعت میزان فنول کل جوانه‌ی گندم تخمیر شده با باکتری به طور معنی داری بیشتر از جوانه گندم تخمیر شده با مخمر بود. بیشترین میزان فنول کل جوانه‌ی گندم در pH معادل ۶/۰ و زمان تخمیر ۴۸ ساعت توسط باکتری مشاهده شد. لیو و همکاران (Liu et al., 2017) اثر تخمیر با باکتری لاکتوباسیلوس سابتیلیس را بر جوانه‌ی گندم خام بررسی نمودند. آن‌ها میزان فنول کل در جوانه‌ی گندم خام را ۱۰/۵۵ میلی گرم گالیک اسید در گرم گزارش کردند که



شکل ۳- مقایسه اثر نوع میکروارگانیسم بر درصد ربایندگی رادیکال آزاد DPPH جوانه گندم طی تخمیر در pH ها و زمان‌های مختلف تخمیر  
 Fig. 3- Comparison of the effect of the type of microorganism on the DPPH free radical scavenging percentage of wheat germ during fermentation at different pHs and fermentation times



شکل ۴- اثر pH و زمان بر درصد ربایندگی رادیکال آزاد DPPH جوانه گندم تخمیر شده توسط (الف) مخمر و (ب) باکتری  
Fig. 4- Effect of pH and time on DPPH free radical scavenging percentage of wheat germ fermented by (a) yeast and (b) bacteria

افزایش ۳۳ درصدی در مقایسه با جوانه‌ی گندم خام شد (Rizzello et al., 2013). بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی به دلیل هم‌افزایی پلی‌فنول‌ها و پپتیدهای آزاد شده در اثر تخمیر است (Liu et al., 2017). براساس نتایج به دست آمده در سال‌های اخیر بیان این نکته حائز اهمیت است که تخمیر تأثیر مثبت خود را بر میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در غلات نشان داده است البته گونه‌ی میکروارگانیسم مورد استفاده بسیار مهم است چرا که آنزیم‌های تولید شده توسط میکروارگانیسم‌ها متفاوت بوده و بر میزان ترکیبات زیست فعال بسیار تأثیرگذار است. بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی با تخمیر عمدتاً به دلیل افزایش ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها است که از طریق تأثیر آنزیم‌های تولید شده میکروارگانیسم‌ها است (Đorđević et al., 2010).

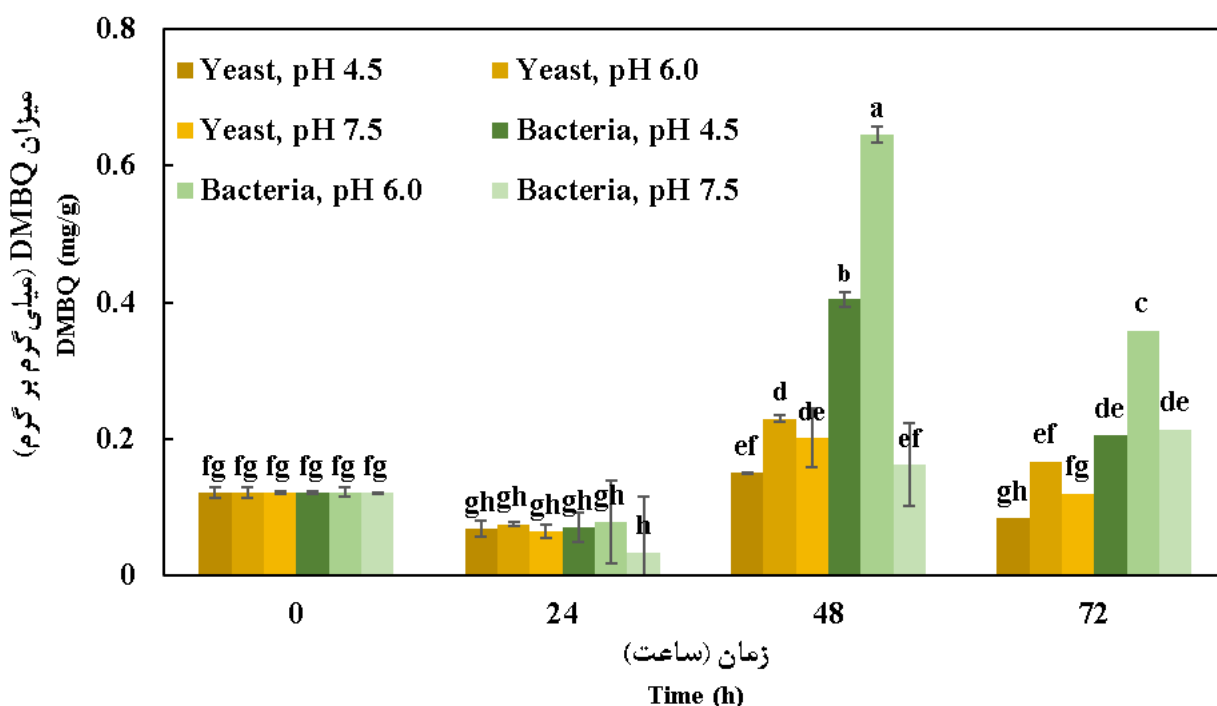
#### میزان دی متوکسی بنزو کوئینون DMBQ

کوئینون‌ها یکی از ترکیبات زیست فعال موجود در جوانه‌ی گندم می‌باشند. متوکسی بنزو کوئینون و دی متوکسی بنزو کوئینون از جمله مشتقات کوئینون به حساب می‌آیند. در مطالعات متعددی در رابطه با نقش کوئینون و تأثیرات آن بر سلول‌های سرطانی بحث شده است. تغییرات میزان دی متوکسی بنزو کوئینون در جوانه‌ی گندم تخمیر شده توسط مخمر و باکتری در شکل ۵ نشان داده شده است و همچنین نمودار سه بعدی حاصل از روش سطح پاسخ در شکل‌های ۶ (الف) و (ب) نشان داده شده است. مقادیر حداقل و حداکثر میزان دی متوکسی بنزو کوئینون جوانه گندم تخمیر شده به ترتیب ۰/۱۰ و ۰/۶۰ mg/g بوده‌اند.

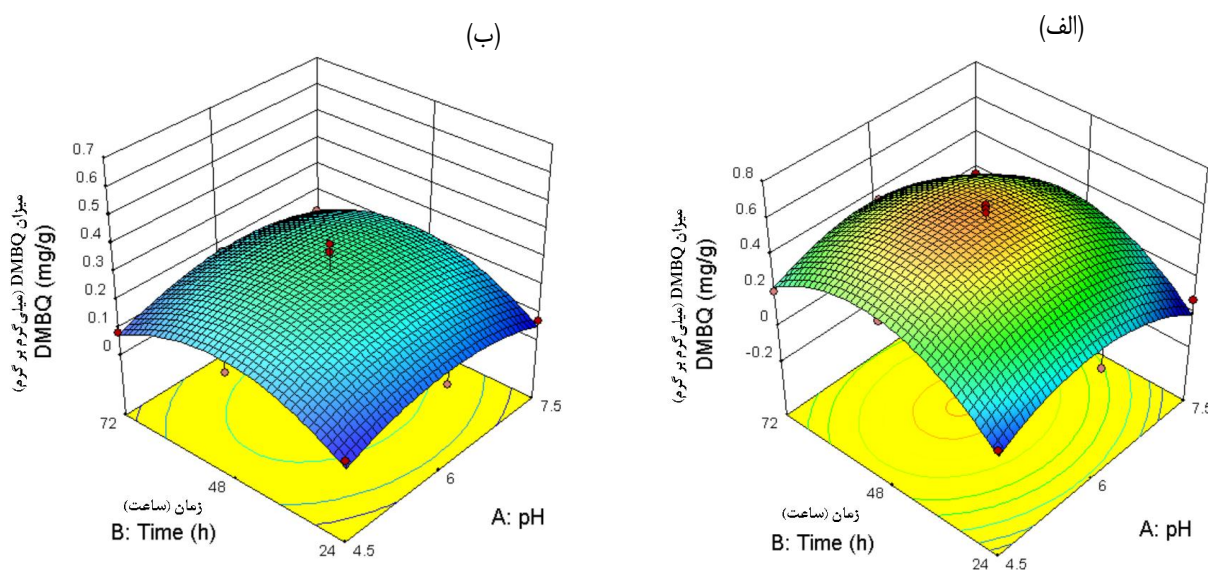
#### ربایندگی رادیکال آزاد DPPH

تغییرات درصد ربایندگی رادیکال آزاد DPPH در جوانه گندم تخمیر شده توسط مخمر و باکتری در شکل ۳ نشان داده شده است و همچنین نمودارهای سه بعدی حاصل از روش سطح پاسخ به ترتیب در شکل‌های ۴ (الف) و (ب) نشان داده شده است. مقادیر حداقل و حداکثر ربایندگی رادیکال آزاد DPPH جوانه گندم تخمیر شده به ترتیب ۵۱/۰۰ و ۸۹/۲۰ درصد می‌باشد.

در سطوح یکسان pH با افزایش زمان تخمیر درصد ربایندگی رادیکال آزاد DPPH به طور معنی‌داری افزایش یافت. بالاترین درصد ربایندگی رادیکال آزاد DPPH مربوط به pH معادل ۶/۰ در زمان ۷۲ ساعت برای مخمر و باکتری بود. در نهایت در مقایسه با جوانه‌ی گندم خام (جوانه‌ی گندم تخمیر نشده) تخمیر باعث افزایش معنی‌دار درصد ربایندگی رادیکال آزاد DPPH شد. مزایای سلامتی بخش مانند اثرات ضد سرطانی ترکیبات زیست فعال به ظرفیت آنتی اکسیدانی آنها بستگی دارد (Zhang et al., 2017). لیو و همکاران (Liu et al., 2017) در پژوهش خود تخمیر جوانه‌ی گندم با لاکتوباسیلوس سابتیلیس را بررسی کردند و در رابطه با فعالیت آنتی اکسیدانی گزارش کردند که در ساعات مختلف بین زمان صفر تا ۷۲ ساعت تغییر در فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاملاً مشخص بود و از ۱۰ درصد در جوانه‌ی خام به حدوداً ۸۷ درصد در نمونه‌ی تخمیر شده با باکتری رسید (Liu et al., 2017). ریزلو و همکاران (Rizzello et al., 2013) گزارش کردند که تخمیر جوانه‌ی گندم توسط دو باکتری لاکتوباسیلوس پلانتراروم LB1 و لاکتوباسیلوس روسی LB5 باعث



شکل ۵- مقایسه اثر نوع میکروارگانیسم بر میزان دی متوکسی بنزو کوئینون جوانه گندم طی تخمیر در pH ها و زمان های مختلف تخمیر  
Fig. 5- Comparison of the effect of the type of microorganism on the amount of dimethoxybenzoquinone in wheat germ during fermentation at different pHs and fermentation times



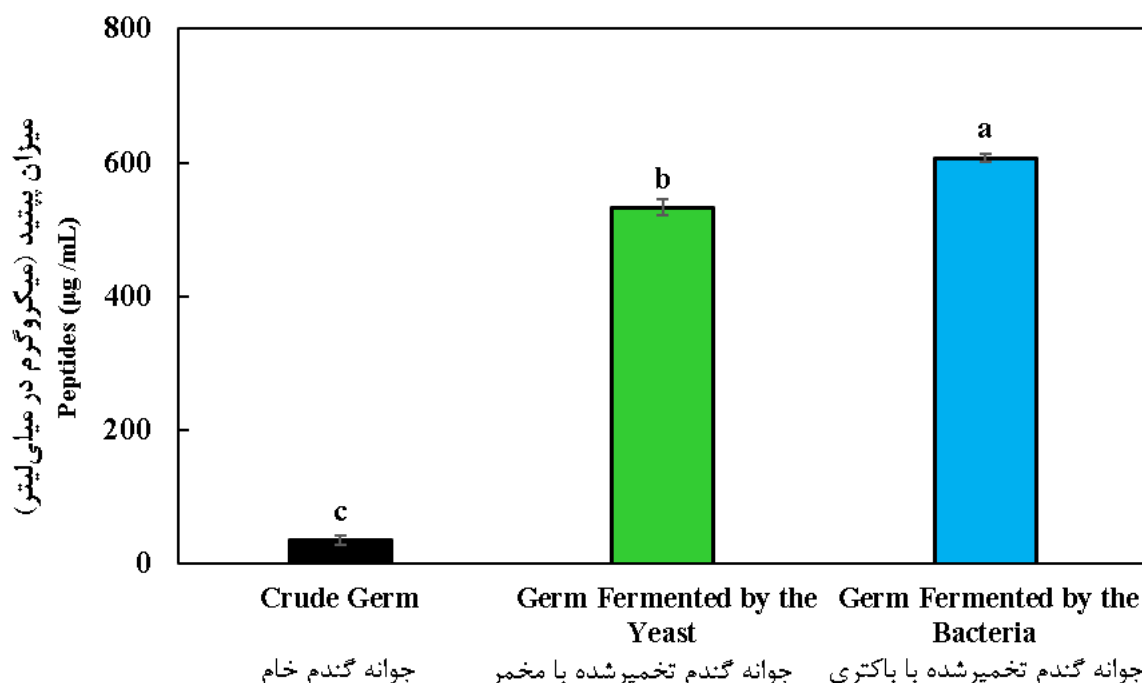
شکل ۶- اثر pH و زمان دی متوکسی بنزو کوئینون جوانه گندم تخمیر شده توسط (الف) مخمر و (ب) باکتری  
Fig. 6 - Effect of pH and time of dimethoxybenzoquinone on wheat germ fermented by (a) yeast and (b) bacteria

دی متوکسی بنزو کوئینون از ۰/۱ میلی گرم بر گرم در جوانه‌ی گندم خام به ۰/۴ میلی گرم بر گرم در جوانه‌ی تخمیری رسید. در فرآیند تخمیر با باکتری و مخمر پیوندهای بتاگلوکوزیداز به دلیل وجود آنزیم بتاگلوکوزیداز موجود در آنها شکسته شده و میزان متوکسی بنزو کوئینون و دی متوکسی بنزو کوئینون افزایش می‌یابد. دو هیدرو کوئینون توسط پرواکسیداز موجود در جوانه‌ی گندم نیز کاتالیز می‌شوند. آنزیم بتاگلوکوزیداز و پرواکسیداز عاملی مهم برای ایجاد این دو هیدرو کوئینون می‌باشد.

### میزان پپتید در شرایط بهینه

میزان پپتید در جوانه‌ی گندم تخمیر شده و جوانه‌ی گندم خام (تخمیر نشده) در شکل ۷ نشان داده شده است. پپتیدهای زیست فعال در نتیجه‌ی هیدرولیز آنزیمی یا مراحل فرآیند مواد غذایی از جمله تخمیر، جوانه زنی و رسیدن محصول تولید می‌شوند (Zhu et al., 2006). براساس منابع، پپتیدهای زیست فعال عوامل بسیار مهم و موثر در فعالیتهای زیستی از جمله خاصیت آنتی اکسیدانی و فعالیت ضد سرطانی می‌باشند.

نتایج نشان داد که در مورد تخمیر با هر دو نوع میکروارگانیسم مخمر و باکتری افزایش pH تا ۶/۰ و زمان تخمیر تا ۴۸ ساعت موجب افزایش تولید دی متوکسی بنزو کوئینون شد. همچنین برای هر دو مورد طبق نتایج بدست آمده با افزایش pH و زمان تخمیر روند تولید دی متوکسی بنزو کوئینون روندی نزولی داشت. ژنگ و همکاران در پژوهشی که انجام دادند در رابطه با بهینه‌یابی شرایط تخمیر جوانه‌ی گندم با مخمر ساکارومایسس سرویژه به این نتیجه رسیدند که میزان متوکسی بنزو کوئینون و دی متوکسی بنزو کوئینون بعد از تخمیر افزایش می‌یابد. این میزان در جوانه‌ی گندم خام نزدیک به ۰/۱ میلی گرم بر گرم بود که بعد از تخمیر مجموع این دو کوئینون به ۲/۸ میلی گرم بر گرم رسید (Zheng et al., 2016). میزان دی متوکسی بنزو کوئینون جوانه‌ی گندم تخمیر شده با باکتری به طوری معنی داری بیشتر از جوانه‌ی تخمیر شده با مخمر بود. بیشترین میزان دی متوکسی بنزو کوئینون برای جوانه‌ی گندم تخمیر شده توسط باکتری در زمان ۴۸ ساعت و سطح pH معادل ۶/۰ مشاهده شد. در پژوهشی دیگر ژنگ و همکاران (Zhang et al., 2015) گزارش دادند که میزان دی متوکسی بنزو کوئینون از ۳۳/۸ میکروگرم بر گرم در جوانه‌ی خام به ۱۸۱/۱ میکروگرم بر گرم افزایش داشت. ریزلو و همکاران (Rizzello et al., 2013) نیز چنین بیان کردند که میزان



شکل ۷- میزان پپتید در جوانه گندم خام و جوانه های گندم تخمیر شده

Fig. 7- The amount of peptide in raw wheat germ and fermented wheat germ

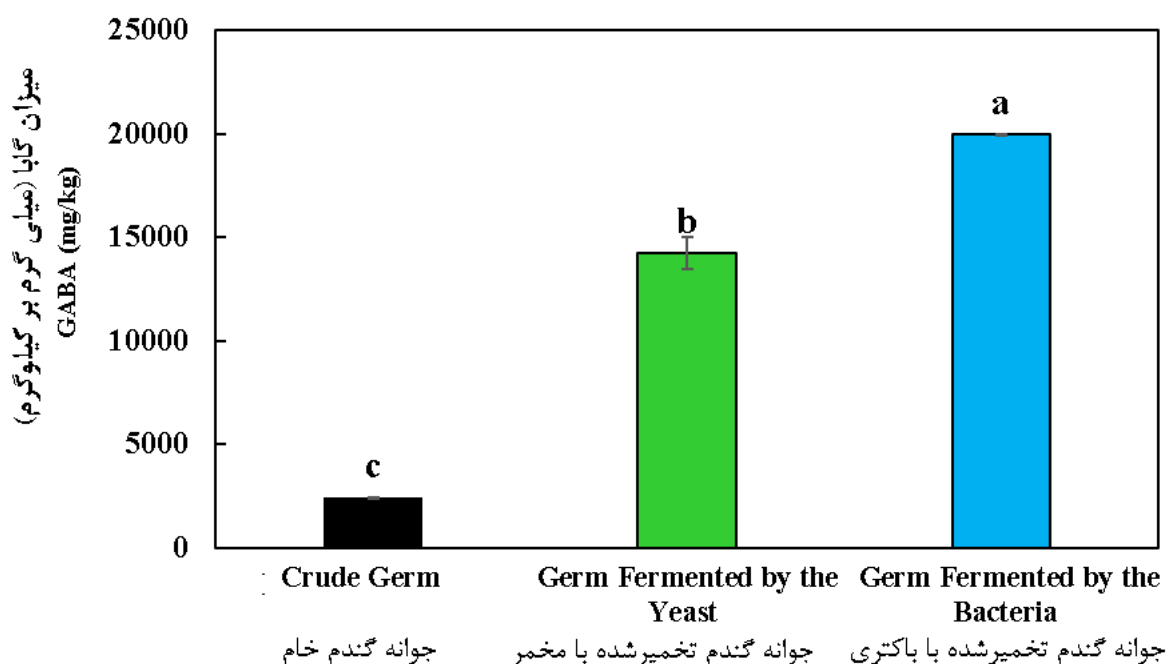


پپتیدها را تولید نماید (Liu et al., 2017). نیو و همکاران (Niu et al., 2013) نیز گزارش کردند میزان پپتید از زمان صفر تا ۴۸ ساعت بالاترین میزان را داشت و بعد از گذشت ۴۸ ساعت شروع به کاهش کرد.

#### میزان گاما آمینوبوتیریک اسید (گابا) در شرایط بهینه

میزان گابا در شکل ۸ ارائه شده است. گاما آمینو بوتیریک اسید، اسید آمینه آزاد چهار کربنی غیرپروتئینی است که به دلیل داشتن اثرات سلامت‌بخش آن از جمله ضد فشارخون، ضد دیابت، ضد سرطان، کاهش چاقی، اثرات آرام‌بخش، کاهش احتمال ابتلا به بیماری‌های قلبی و بیماری آلزایمر حائز اهمیت می‌باشد. در این پژوهش میزان گابا به دست آمده از جوانه‌ی گندم خام (تخمیر نشده) معادل ۲۴۲۱/۶۷ میلی گرم بر کیلوگرم بود و در اثر تخمیر جوانه‌ی گندم با مخمر گابا به میزان معادل ۱۳۶۷۵/۶۲ میلی گرم بر کیلوگرم و در تخمیر با باکتری به میزان ۱۹۹۸۳/۸۸ میلی گرم بر کیلوگرم رسید.

نتایج این پژوهش نشان داد بخشی از فعالیت‌های زیستی عصاره‌ی جوانه‌ی گندم خام تخمیری می‌تواند ناشی از حضور پپتیدها باشد. بدین منظور میزان پپتیدهای زیست فعال در جوانه‌ی گندم خام و تخمیر شده (به وسیله‌ی باکتری و مخمر) اندازه‌گیری شد. در این پژوهش میزان پپتید در جوانه گندم خام (تخمیر نشده) ۳۵/۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد و بعد از تخمیر توسط مخمر میزان پپتید به ۵۳۲/۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و در اثر تخمیر با باکتری به ۶۰۷/۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر رسید. میزان پپتید در جوانه‌ی گندم تخمیر شده به طور معنی داری بیشتر از جوانه‌ی گندم تخمیر نشده و میزان پپتید در جوانه‌ی گندم تخمیر شده با باکتری به طور معنی داری بیشتر از جوانه‌ی گندم تخمیر شده با مخمر بود. در گزارشی مشابه از لیو و همکاران (Liu et al., 2017) میزان پپتید نمونه‌ها در مرحله‌ی اولیه تخمیر (۰ تا ۴۸ ساعت) به طور مداوم افزایش یافت اما به دنبال آن (از ۴۸ تا ۷۲ ساعت) کاهش یافت (از ۴ درصد به ۲۹ درصد و سپس به ۲۵ درصد). پروتئیناز تولید شده توسط باکتری باسیلوس سابتیلیس می‌تواند پروتئین را هیدرولیز کرده و



شکل ۸- میزان گابا در جوانه گندم خام و جوانه های گندم تخمیر شده  
Fig. 8- The amount of GABA in raw wheat sprouts and fermented wheat sprouts

انجام شده توسط ریزلو و همکاران (Rizzello et al., 2010) که طی تخمیر جوانه‌ی گندم با دو نوع باکتری اسید لاکتیک (لاکتوباسیلوس پلانتراروم LB1 و لاکتوباسیلوس روسی LB5) روند افزایشی در میزان

لازم به ذکر است میزان گابا در جوانه‌ی تخمیری دارای تفاوت معناداری با جوانه‌ی گندم خام است و همچنین در تخمیر با باکتری تفاوت معناداری به نسبت تخمیر با مخمر وجود دارد. در پژوهش

گابا وجود داشت. آن‌ها میزان گابا در جوانه‌ی گندم خام را ۹۰۳ میلی‌گرم در کیلوگرم و در جوانه‌ی تخمیر شده ۲۰۴۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش دادند (Rizzello et al., 2010). در این مطالعه نیز میزان گابا افزایش پیدا کرد اما در پژوهش حاضر افزایش بیشتری وجود دارد که ممکن است به دلیل تفاوت در نوع و سویه باکتری باشد.

## نتیجه‌گیری

در این مطالعه شرایط بهینه تخمیر جوانه گندم، تخمیر توسط باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم 1058 PTCC در pH برابر با ۶ و

## منابع

زمان تخمیر ۴۸ ساعت بدست آمد. در اثر فرایند تخمیر میزان فنول کل، ربایندگی رادیکال آزاد DPPH، میزان دی متوکسی بنزو کوئینون، پیتید، گاما آمینوبوتیریک اسید نمونه‌ی جوانه‌ی گندم تخمیر شده توسط باکتری نسبت به جوانه‌ی خام بیشتر بود. در فرایند تخمیر جوانه‌ی گندم با افزایش pH، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، میزان ترکیبات فنولی کل و میزان دی متوکسی بنزو کوئینون ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت و همچنین در طول فرایند تخمیر جوانه‌ی گندم با افزایش زمان تخمیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش ولی میزان ترکیبات فنولی کل و میزان دی متوکسی بنزو کوئینون ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت.

1. AACC. (2000). *Approved Methods of the AACC*. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, Minnesota. (Methods 08-01, 30-10, 44-19, 46-10).
2. Adedoyin, R.A., Afolabi, A., Adegoke, O.O., Akintomide, A.O., & Awotidebe, T.O. (2013). Relationship between socioeconomic status and metabolic syndrome among Nigerian adults. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 7(2), 91-94. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2013.02.014>
3. Babu, C.R., Ketanapalli, H., Beebi, S.K., & Kolluru, V.C. (2018). Wheat bran-composition and nutritional quality: a review. *Advanced Biotechnology Microbiology*, 9(1), 1-7.
4. Donkor, O.N., Stojanovska, L., Ginn, P., Ashton, J., & Vasiljevic, T. (2012). Germinated grains—Sources of bioactive compounds. *Food Chemistry*, 135(3), 950-959. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.058>
5. Đorđević, T.M., Šiler-Marinković, S.S., & Dimitrijević-Branković, S.I. (2010). Effect of fermentation on antioxidant properties of some cereals and pseudo cereals. *Food Chemistry*, 119(3), 957-963. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.049>
6. Hur, S.J., Lee, S.Y., Kim, Y.C., Choi, I., & Kim, G.B. (2014). Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. *Food Chemistry*, 160, 346-356. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.112>
7. Karovičová, Z.K.J., & Kohajdova, J. (2007). Fermentation of cereals for specific purpose. *Journal of Food and Nutrition Research*, 46(2), 51-57. <https://doi.org/10.4014/jmb.1004.04037>
8. Katina, K., Juvonen, R., Laitila, A., Flander, L., Nordlund, E., Kariluoto, S., & Poutanen, K. (2012). Fermented wheat bran as a functional ingredient in baking. *Cereal Chemistry*, 89(2), 126-134. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-08-11-0106>
9. Kim, M.H., Jo, S.H., Ha, K.S., Song, J.H., Jang, H.D., & Kwon, Y.I. (2010). Antimicrobial activities of 1, 4-benzoquinones and wheat germ extract. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(8), 1204-1209.
10. Liu, F., Chen, Z., Shao, J., Wang, C., & Zhan, C. (2017). Effect of fermentation on the peptide content, phenolics and antioxidant activity of defatted wheat germ. *Food Bioscience*, 20, 141-148. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.10.002>
11. Lu, Q., Bjørnstad, Å., Ren, Y., Asad, M. A., Xia, X., Chen, X., & Lillemo, M. (2012). Partial resistance to powdery mildew in German spring wheat 'Naxos' is based on multiple genes with stable effects in diverse environments. *Theoretical and Applied Genetics*, 125, 297-309. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1834-6>
12. Niu, L.Y., Jiang, S.T., & Pan, L.J. (2013). Preparation and evaluation of antioxidant activities of peptides obtained from defatted wheat germ by fermentation. *Journal of Food Science and Technology*, 50, 53-61. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0318-z>
13. Rizzello, C. G., Cassone, A., Coda, R., & Gobbetti, M. (2011). Antifungal activity of sourdough fermented wheat germ used as an ingredient for bread making. *Food Chemistry*, 127(3), 952-959. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.063>
14. Rizzello, C. G., Mueller, T., Coda, R., Reipsch, F., Nionelli, L., Curiel, J. A., & Gobbetti, M. (2013). Synthesis of 2-methoxy benzoquinone and 2, 6-dimethoxybenzoquinone by selected lactic acid bacteria during sourdough fermentation of wheat germ. *Microbial Cell Factories*, 12(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-12-105>

15. Rizzello, C.G., Nionelli, L., Coda, R., De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2010). Effect of sourdough fermentation on stabilisation, and chemical and nutritional characteristics of wheat germ. *Food Chemistry*, 119(3), 1079-1089. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.016>
16. Sandhu, K.S., Punia, S., & Kaur, M. (2016). Effect of duration of solid state fermentation by *Aspergillus awamori* on antioxidant properties of wheat cultivars. *LWT-Food Science and Technology*, 71, 323-328. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.008>
17. Zhang, J. Y., Xiao, X., Dong, Y., Wu, J., Yao, F., & Zhou, X. H. (2015). Effect of fermented wheat germ extract with lactobacillus plantarum dy-1 on HT-29 cell proliferation and apoptosis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(9), 2449-2457. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b00041>
18. Zhang, X.Y., Chen, J., Li, X.L., Yi, K., Ye, Y., Liu, G., & Wang, Z.G. (2017). Dynamic changes in antioxidant activity and biochemical composition of tartary buckwheat leaves during *Aspergillus niger* fermentation. *Journal of Functional Foods*, 32, 375-381. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.03.022>
19. Zheng, Z. Y., Guo, X. N., Zhu, K. X., Peng, W., & Zhou, H.M. (2017). Artificial neural network–Genetic algorithm to optimize wheat germ fermentation condition: Application to the production of two anti-tumor benzoquinones. *Food Chemistry*, 227, 264-270. <https://doi.org/10.1039/C5RA27004A>
20. Zheng, Z., Guo, X., Zhu, K., Peng, W., & Zhou, H. (2016). The optimization of the fermentation process of wheat germ for flavonoids and two benzoquinones using EKF-ANN and NSGA-II. *RSC Advances*, 6(59), 53821-53829. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.077>
21. Zhu, K., Zhou, H., & Qian, H. (2006). Antioxidant and free radical-scavenging activities of wheat germ protein hydrolysates (WGPH) prepared with alcalase. *Process Biochemistry*, 41(6), 1296-1302. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.12.029>



## Investigation of Quality and Shelf Life of Marinated Chicken Meat by Asymmetric and Symmetric Multivariate Methods

S. Gheibi<sup>1\*</sup>, A. Pourfarzad<sup>2</sup>, A. Rastkar Allahverdizadeh<sup>3</sup>

Received: 2022.01.08

Revised: 2022.02.19

Accepted: 2022.02.21

Available Online: 2022.05.15

### How to cite this article:

Gheibi, S., Pourfarzad, A., & Rastkar Allahverdizadeh, A. (2023). Investigation of quality and shelf life of marinated chicken meat by asymmetric and symmetric multivariate methods. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 19(2), 349-364. (In Persian with English abstract). <http://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.74304.1127>

### Introduction

Marinated chicken meat is one of the traditional foods in Iran which is an indoor and outdoor popular food in different areas of Iran due to its convenience and pleasant taste. It is also one of the authentic foods which is categorized in Iranian traditional kebabs. This product is constituted of fresh pieces of chicken meat, diced in different pieces, marinated with salt, lemon juice, verjuice, vegetables, saffron, spices, fruits and oil and then supplied as fresh and/or frozen form. After the seasoning, it is grilled using a skewer. Therefore, it is necessary to investigate its microbial load, shelf life, and quality changes during storage. To the best of our knowledge, there are no reports on the chemical and microbial properties of processed chicken meat used as a factor to predict its shelf life. Thus, the present study was designed to examine the relationship between physicochemical, microbial and sensory properties of the marinated chicken meat during storage using symmetric multivariate (determination of correlation coefficients and principal components analysis) and asymmetric methods (partial least squares regression).

### Materials and Methods

In this study, 30 samples of marinated chicken meat were collected from restaurants. Then, the asymmetric method (completely randomized factorial and partial least squares regression) and symmetric method (coefficients of determination and Principal components analysis) were used for the study of chemical ( $a_w$ , TVN, pH, O/R) and microbial (total count, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*) and organoleptic characteristics of samples on the storage days of 0, 3, 6 and 9. An  $a_w$  meter was used to measure the aqueous activity ( $a_w$ ), an automatic Kjeldahl device was used to measure total volatile nitrogen (TVN) and a pH meter was used to measure pH and redox potential (O / R). The dilution method was used to count the total bacteria. The cooked meat and bird parker media were used to identify *Staphylococcus aureus*. The MPN method was used to identify *Escherichia coli*. Sensory evaluations were carried out by 10 trained panelists. All assessors of the internal sensory panel assumed the basic odor test and color vision test. Each sample contained 50g marinated chicken meat, which was given to panelists in plastic containers at room temperature. The color, odor and overall acceptance of the marinated chicken meat were assessed. Each evaluator randomly evaluated the samples and served drinking water before each evaluation. Each parameter was scored in a 5-point scaling ranging from 1 (lowest) to 5 (highest). The data on the physicochemical, sensory and microbial properties of marinated chicken meat were statistically analyzed using Minitab 15 software (Minitab Inc., State College, PA, USA). The mean values of the

1 and 2- Assistant Professor and Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran, respectively.

(\* - Corresponding Author Email: [sgheibe@yahoo.com](mailto:sgheibe@yahoo.com))

3- M.Sc. Graduated Student, Islamic Azad University of Rasht, Rasht, Iran

DOI: [10.22067/ifstrj.2022.74304.1127](http://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.74304.1127)

treatments were compared by Duncan's multiple range test at a confidence level of 95%. Each experiment was performed in three replications. The PCA and PLSR modeling were also performed on the datasets.

## Results and Discussion

Results from the statistical analysis suggest that the microbial and chemical parameters of marinated chicken meat were greatly capable of predicting its shelf life. Determination coefficients, principal components analysis (PCA), and partial least squares regression (PLSR) models are able to extract relevant information and offer an easy and promising approach for the interpretation microbial and chemical properties of samples and their correlation with shelf life. The obtained results indicated that three parameters including pH, redox potential and total count had the highest correlation with shelf life, recommended as the predictive components. The results of measuring water activity in chicken meat samples during storage at refrigerator temperature showed that the  $a_w$  parameter did not change significantly during storage time in the samples while the pH, TVN and O / R parameters were significantly affected. Changes in the total count, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were also significant during refrigeration. Sensory evaluation experiments showed that all samples had no signs of spoilage until the sixth day.

## Conclusion

The obtained results indicated that three parameters including pH, redox potential and total count had the highest correlation with shelf life, recommended as the predictive components. Overall, we can produce a product with higher quality and shelf-life if high quality raw materials are supplied with suitable pH values and also, hygienic production is considered.

**Keywords:** Marinated chicken meat, Principal component analysis, Regression, Shelf life

## مقاله پژوهشی

# بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی گوشت مرغ مزه‌دار شده با استفاده از روش‌های چندمتغیره متقارن و نامتقارن

سیامک غیبی<sup>۱\*</sup> - امیر پورفرزاد<sup>۲</sup> - احد راستکار الهوردی زاده<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۱۸

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۱۱/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۰۲

## چکیده

گوشت مرغ مزه دار شده، یکی از غذاهای سنتی و پرطرفدار در کشور ایران می‌باشد و مشتریان در رستوران‌های اغلب نقاط کشور، تقاضای زیادی برای این محصول دارند. بررسی میزان آلودگی میکروبی و ماندگاری این محصول و نیز حفظ کیفیت آن در طی مدت نگهداری، لازم و ضروری به نظر می‌رسد. در این پژوهش، ۳۰ نمونه گوشت مرغ مزه‌دار شده از رستوران‌ها جمع‌آوری شد. سپس از روش‌های چندمتغیره متقارن (تعیین ضرایب همبستگی و آنالیز مؤلفه‌های اصلی) و نامتقارن (فاکتوریل کاملاً تصادفی و رگرسیون حداقل مربعات جزئی) به منظور مطالعه خصوصیات شیمیایی (pH، فعالیت آبی، پتانسیل اکسیداسیون-احیا، ازت فرار تام)، میکروبی (شمارش کلی، استافیلوکوکوس/اورتوس و اشریشیا کلی) و حسی این نمونه‌ها در روزهای ۰، ۳، ۶ و ۹ استفاده گردید. آنالیزهای آماری نشان داد که خصوصیات میکروبی و شیمیایی گوشت مرغ مزه‌دار شده، تا حد زیادی قادر به پیشگویی ماندگاری آن هستند. ضرایب همبستگی، آنالیز مؤلفه‌های اصلی و مدل‌های رگرسیونی حداقل مربعات جزئی، قادر به استخراج اطلاعات مناسبی هستند و می‌توانند به عنوان روش‌هایی آسان برای تحلیل و تفسیر خواص شیمیایی و میکروبی نمونه‌ها و ارتباط آنها با ماندگاری مورد استفاده قرار گیرند. نتایج حاصله نشان داد که سه خصوصیت pH، پتانسیل اکسیداسیون-احیا و شمارش کل باکتری که دارای بیشترین همبستگی داخلی با ماندگاری بودند، می‌توانند به عنوان مؤلفه‌های پیشگو مورد استفاده قرار گیرند.

**واژه‌های کلیدی:** رگرسیون، گوشت مرغ مزه‌دار شده، ماندگاری، ویژگی‌های حسی

## مقدمه

پروتئین به طور وسیعی در تغذیه انسان در تمامی دنیا مورد استفاده قرار گرفته است (Barakat et al., 2000).

جوجه کباب یکی از غذاهای سنتی در کشور ایران است که به خاطر قابلیت آماده شدن سریع، مزه دلچسب و هزینه‌ی مناسب، از پرطرفدارترین غذاهای عرضه شده در بیرون از منزل در مناطق مختلف ایران است (Firouzi et al., 2011). جوجه کباب، فرآورده‌ای است که به صورت کبابی در رستوران‌ها و منازل مورد استفاده قرار می‌گیرد. این

طیف گسترده‌ای از غذاهای تهیه شده از مواد خام مزه‌دار شده به عنوان منبع بیماری در کشورهای مختلف گزارش شده است (Angelillo et al., 2000). گوشت طیور به علت بالا بودن درصد پروتئین، کم بودن افت پس از کشتار، قابلیت هضم بالا، سرعت رشد طیور و پایین بودن قیمت نسبت به سایر گوشت‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. لذا، گوشت طیور به عنوان یک منبع غذایی حاوی

۱ و ۲- به ترتیب استادیار و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران  
(\*)- نویسنده مسئول: Email: sgheibe@yahoo.com

۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات گیلان، رشت، ایران



همچنین، از آنجا که پژوهش‌های خاصی در زمینه ماندگاری و میزان حفظ کیفیت گوشت مرغ مزه‌دار شده در زمان نگهداری در یخچال وجود نداشت و همچنین افزودن مواد طعم دهنده و ادویه‌ها نظیر زعفران، نمک، پیاز و آبلیمو، در روند افزایش یا کاهش ماندگاری و ظهور علائم فساد موثر هستند؛ ما را به چالش واداشت تا در انجام این پروژه گام برداریم. لذا هدف از این پژوهش، بررسی خصوصیات میکروبی، شیمیایی و حسی (ماندگاری) گوشت مرغ مزه‌دار شده در شرایط نگهداری در یخچال بود. از آنجا که در هیچکدام از پژوهش‌های موجود، از خواص شیمیایی و میکروبی گوشت مرغ مزه‌دار شده به عنوان عاملی برای پیشگویی ماندگاری آن استفاده نشده است. لذا در گام بعدی، ارتباط بین خصوصیات میکروبی و شیمیایی، با ماندگاری بدست آمده از آزمون حسی با استفاده از روش‌های چند متغیره متقارن (تعیین ضرایب همبستگی و آنالیز مؤلفه‌های اصلی) و نامتقارن (رگرسیون حداقل مربعات جزئی) مورد ارزیابی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

### روش نمونه‌برداری و آماده سازی گوشت مرغ مزه‌دار شده

برای انجام نمونه‌برداری در این پژوهش، ۱۰۰ رستوران مورد تحقیق و بررسی قرار گرفت. سپس به طور تصادفی و میدانی ۳۰ واحد از این رستوران‌ها جهت نمونه‌برداری شناسایی شد. برای هر کدام از این ۳۰ رستوران، پرسشنامه تهیه گردید تا مشخص شود هر رستوران جهت تهیه گوشت مرغ مزه‌دار شده از چه ترکیباتی و به چه مقدار استفاده می‌کند. ترکیبات افزوده شده به جوجه کباب نظیر آبلیمو، نمک، زعفران، پیاز و ... و مقدار آن‌ها برای هر رستوران متفاوت بود. برای ارزیابی میکروبی، شیمیایی، حسی و میزان ماندگاری گوشت مرغ مزه‌دار شده از هر رستوران، ۳۰۰ گرم نمونه تهیه شد. پس از دریافت نمونه، نمونه‌ها در شرایط استریل و خنک طی ۲-۱ ساعت به آزمایشگاه منتقل شد. بلافاصله پس از رسیدن نمونه‌ها به آزمایشگاه، در داخل یخچال قرار داده شدند. ۳۰ نمونه دریافتی از رستوران‌ها مورد آنالیز میکروبی، شیمیایی و حسی اولیه قرار گرفتند و بر اساس نتایج و مشاهدات شیمیایی، میکروبی و حسی به ۱۰ گروه تقسیم شدند. ۱۰ نمونه بدست آمده در یخچال نگهداری و در روزهای ۰، ۳، ۶ و ۹ مورد ارزیابی شیمیایی (شامل اندازه گیری مقادیر pH،  $\text{aw}$ ،  $\text{O/R}$  و TVN)، میکروبی (شامل شمارش باکتریایی کلی، *اشریشیا* کلی و *استافیلوکوکوس/اورئوس*) و حسی (شامل رنگ، بو، بافت و مقبولیت کلی) قرار گرفتند. افزایش زمان ارزیابی به دلیل استفاده از ترکیبات

محصول متشکل از قطعات تازه گوشت مرغ بوده که پس از قطعه‌بندی با نمک، آبلیمو، آبنوره، سبزیجات، زعفران، ادویه‌ها و میوه‌ها، روغن مایع مخلوط شده و به صورت تازه و یا منجمد عرضه می‌گردد و پس از طعم‌دار شدن گوشت آن را کباب کرده و مصرف می‌کنند (Iran Food and Drug Administration, 2013).

در هنگام تهیه گوشت مرغ مزه‌دار شده به خاطر افزایش نسبت سطح به حجم به دلیل خردکردن گوشت و اضافه کردن افزودنی‌ها جهت مزه‌دار کردن، تغییرات شیمیایی، میکروبی و حسی در نوع مزه‌دار شده نسبت به ساده متفاوت می‌باشد. از جمله این تغییرات می‌توان به فاکتور شمارش کلی باکتری، فاکتور شیمیایی و مقدار ازت فرار تام (TVN)<sup>۱</sup> اشاره نمود (Brannan, 2008). این فرآورده می‌تواند محیط مناسبی برای رشد باکتری‌های بیماری‌زا همچون *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا* کلی باشد (Mahdavi-Roshan et al., 2022).

نگهداری صحیح مواد غذایی جهت افزایش ماندگاری یکی از روش‌های مورد استفاده برای جلوگیری از ضایعات مواد غذایی محسوب می‌شود (Gould, 1996). در یک پژوهش که در خصوص تغییرات میکروبی در انواع اغذیه آماده خوردن انجام گرفت، مشخص شد که مواد غذایی همچون جوجه کباب مقدار شمارش کلی باکتریایی، کلی فرم، کپک و مخمر و باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* آن نسبت به انواع دیگر بیشتر است (Pourjafar et al., 2020). در مطالعه توکلی و همکاران (Tavakoli et al., 2013)، با عنوان بررسی آلودگی باکتریایی غذاهای مصرفی در مراکز درمانی و آموزشی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله الاعظم (عج)، گوشت کوبیده از آلوده‌ترین غذاها از نظر شمارش کل باکتری، کلی فرم‌ها و آلودگی به باکتری‌های بیماری‌زا، گزارش شد. در مطالعات دیگر که به منظور بررسی مسمومیت‌های باکتریایی ناشی از مواد غذایی در تهران انجام گرفت به این نتیجه رسیدند که باکتری‌های بیماری‌زا نظیر *استافیلوکوکوس اورئوس* از طرق مختلف به ویژه دست‌های آلوده کارکنان و یا ظروف آلوده انتقال می‌یابند (Parsaei Mehr et al., 2011). در مطالعه‌ای دیگر، تغییرات رنگ کنسرو جوجه کباب را در طی زمان نگهداری و تحت شرایط تسریع شده، ارزیابی و از آن برای پیشگویی ماندگاری استفاده نمودند (Jahanbin et al., 2008).

به دلیل عدم وجود اطلاعات در خصوص بیماری زایی ناشی از مصرف گوشت مرغ مزه‌دار شده و فقدان استانداردهای میکروبیولوژی کافی برای این محصول غذایی پرطرفدار، بررسی جمعیت میکروارگانیسم‌های گوشت مرغ مزه‌دار شده ضروری به نظر می‌رسد.

بود. سپس میانگین امتیازات حاصل برای هر یک از ویژگی‌های حسی محاسبه شد. مقبولیت کلی هر نمونه بر اساس میانگین امتیازات صفات مورد بررسی، در نظر گرفته شد و به عنوان شاخص ماندگاری استفاده شد (Qaziyani et al., 2019).

### تجزیه و تحلیل آماری

برای انجام آنالیز داده‌ها و بررسی اطلاعات به دست آمده از آزمون‌های مختلف از طرح کاملاً تصادفی در قالب آرایش فاکتوریل استفاده گردید. به منظور تعیین اختلاف بین میانگین اعداد (دو تکرار برای هر آزمایش)، پس از آنالیز واریانس، از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. سپس آنالیز مؤلفه‌های اصلی<sup>۴</sup> و تعیین ضرایب همبستگی و نیز رگرسیون حداقل مربعات جزئی<sup>۵</sup> بر روی داده‌های خواص شیمیایی، میکروبی و نیز ماندگاری نمونه‌های گوشت مرغ مزه‌دار شده، انجام گرفت. در تمام مراحل، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار مینی‌ت‌ب<sup>۶</sup> نسخه ۱۵ صورت گرفت.

### نتایج و بحث

نتایج حاصل از اندازه‌گیری فعالیت آبی در نمونه‌های گوشت مرغ مزه‌دار شده در طی نگهداری در دمای یخچال در شکل ۱ گزارش شده است. همان‌طور که مشاهده می‌گردد، در طی مدت نگهداری، فعالیت آبی نمونه‌ها کاهش معنی داری نداشته است. همچنین مشخص گردید که فعالیت آبی ۱۰ نمونه مورد بررسی با توجه به مقادیر مورد استفاده افزودنی‌ها، اختلاف معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) با هم نداشته‌اند که می‌تواند نشان دهنده عدم تاثیر مقدار و نوع ترکیبات افزوده شده بر روی فعالیت آبی گوشت مرغ باشد. نتایج بدست آمده توسط حسن زاده و همکاران (Hassanzadeh et al., 2011) که از نمونه‌های مختلف گوشت مرغ در پژوهش خود استفاده کردند نیز نشان داد که میزان  $a_w$  در طول ۲۱ روز نگهداری در یخچال و در نمونه‌های مختلف با هم اختلاف معنی-داری نداشتند.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری TVN در نمونه‌ها، در شکل ۲ گزارش شده است. بررسی نتایج حاصل نشان می‌دهد که در طی نگهداری نمونه‌ها در یخچال، TVN آنها به طور معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) افزایش یافت. دلیل افزایش TVN می‌تواند نتیجه تخریب پروتئین گوشت به ترکیبات کوچکتر همچون آمونیاک باشد که این خود نیز می‌تواند pH جوجه کباب را در طول مدت نگهداری در یخچال افزایش دهد. از مقایسه میانگین TVN در نمونه‌های مختلف می‌توان دریافت که

مورد استفاده به منظور مزه‌دار کردن آن است که می‌تواند در مدت ماندگاری آن نیز نقش داشته باشد.

### آزمون‌های شیمیایی

برای اندازه‌گیری  $a_w$  با استفاده از دستگاه  $a_w$  متر (Water activity meter, ms1-a, Novasina, Switzerland) با قرار دادن حدود ۳ گرم نمونه در کیت مخصوص دستگاه بررسی‌های لازم انجام گرفت. برای اندازه‌گیری مواد از ته فرار (TVN) با استفاده از دستگاه تقطیر کج‌دال مقدار ۱۰ گرم نمونه مورد استفاده قرار گرفت، بعد از تقطیر از ته فرار آن توسط اسید بوریک ۲٪ جذب و مقدار آن به وسیله تیتراسیون با اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال بر اساس استاندارد ملی شماره ۹۶۲۶ (ISIRI, 2007a) اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری مقدار pH و O/R، مقدار ۱۰ گرم نمونه در ۹۰ میلی لیتر آب مقطر توسط دستگاه هموژنیزاتور هموژنیزه شد و با وارد کردن الکتروود pH متر (pH-W pH meter (Hangzhou Wanda Instrument Factory, Zhejiang, China) در مخلوط، pH و O/R بر اساس استاندارد ملی به شماره ۱۰۲۸ (ISIRI, 2007b) اندازه‌گیری شد.

### آزمون‌های میکروبی

ابتدا نمونه‌برداری بر اساس استاندارد ملی شماره ۷۵۷۰ انجام شد (INSO, 2020) و برای رسیدن به رقت‌های مورد نیاز از سرم فیزیولوژی استریل بر اساس استانداردهای ملی شماره ۸۹۲۳-۱ (INSO, 2018b) و ۸۹۲۳-۲ (INSO, 2018a) استفاده گردید و سپس نسبت به انجام آزمون‌های میکروبی اقدام شد. برای شمارش باکتریایی کلی از روش سطحی روی محیط پلیت کانت آگار مطابق با استاندارد ملی شماره ۵۲۷۲-۲ (INSO, 2015)، برای شمارش اشریشیا کلی از روش بیشترین تعداد احتمالی (MPN)<sup>۳</sup> مطابق با استاندارد ملی شماره ۲۹۴۶ (INSO, 2021) و برای شمارش استافیلوکوکوس/اورئوس کوکولاز مثبت از روش سطحی روی محیط کشت برد پارکر آگار<sup>۳</sup> مطابق با استاندارد ملی شماره ۶۸۰۶-۳ (ISIRI, 2022) استفاده گردید.

### آزمون‌های حسی

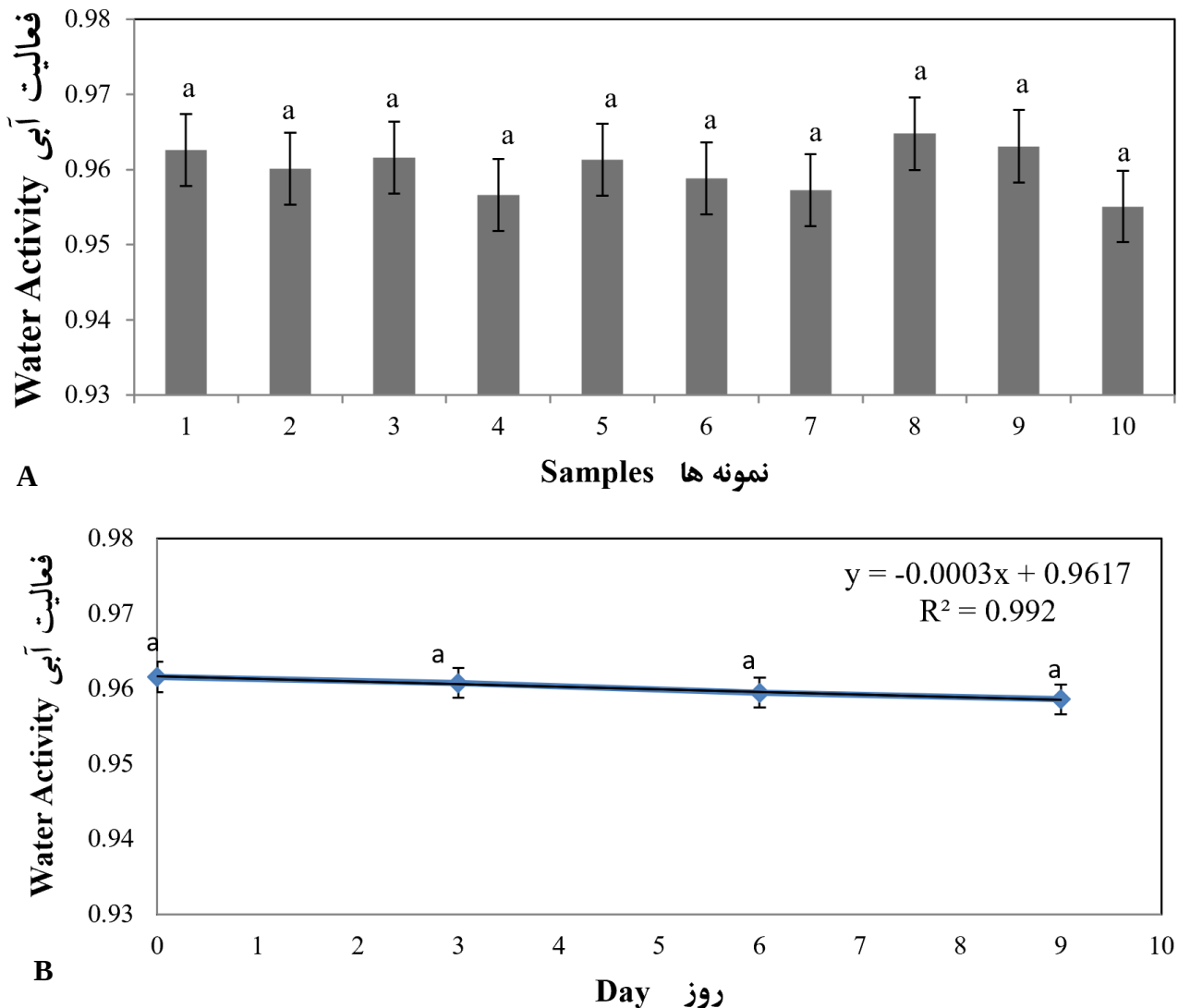
ارزیابی حسی نمونه‌های گوشت مرغ مزه‌دار شده به وسیله ۱۰ ارزیاب آموزش‌دیده در روزهای ۰، ۳، ۶ و ۹ انجام شد. رنگ، بو، بافت و مقبولیت کلی نمونه‌ها با مقیاس ۵ امتیازی بررسی شد. امتیازهای ۱ و ۵ به ترتیب مربوط به نمونه‌های دارای کم‌ترین و بیش‌ترین مطلوبیت

4- Principal Components Analysis (PCA)  
5- Partial Least Squares Regression Analysis (PLSR)  
6- Minitab 15 (Minitab Inc., State College, PA, USA)

1- Plate Count Agar  
2- Most Probable Number (MPN)  
3- Baird Parker Agar

جوانمرد (Niknam and Javanmard, 2015) و همچنین با نتایج بررسی TVN در گوشت قرمز در یخچال توسط سیکورسکی و کولوزیسکا (Sikorski and Kołodziejska, 1986) همخوانی دارد.

نمونه‌های ۱، ۳ و ۹ دارای بیش‌ترین و نمونه‌های ۲، ۵ و ۶ دارای کم‌ترین مقدار TVN بودند که دلیل آن می‌تواند استفاده از ترکیباتی همچون آلبیمو باشد. این نتایج با نتایج حاصل از مطالعات تعیین پيشرفت فساد و ماندگاری گوشت مرغ در یخچال توسط نیک نام و



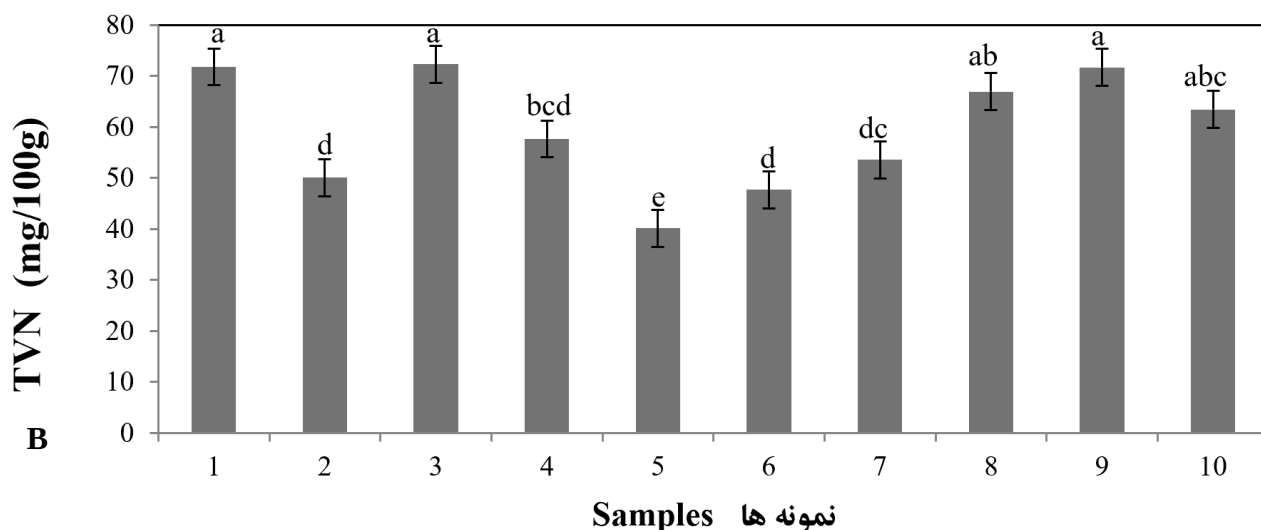
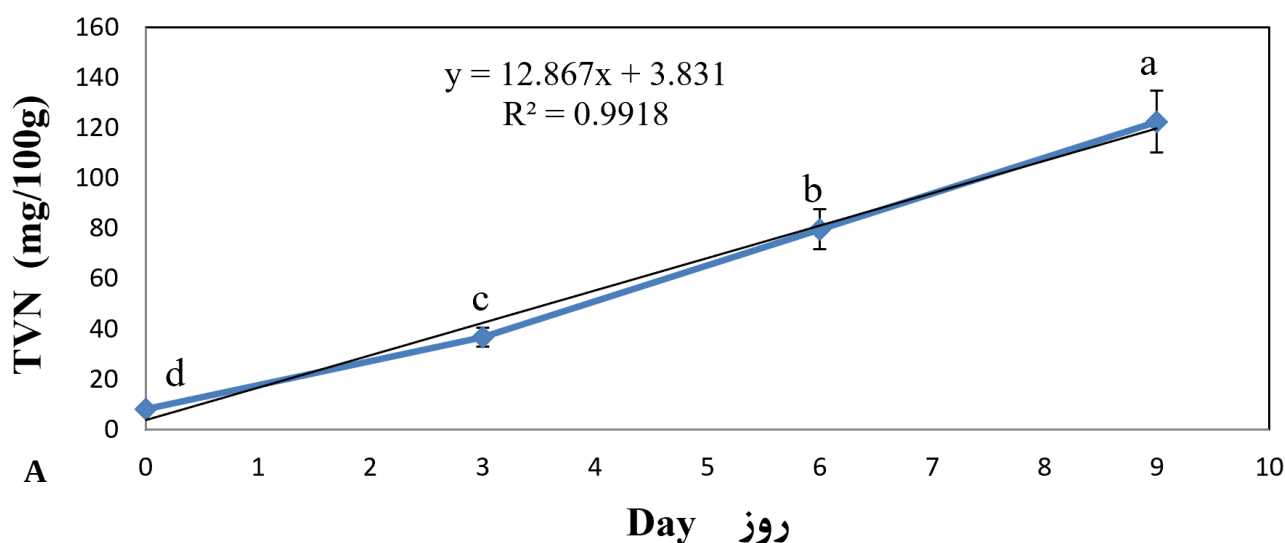
شکل ۱- نتایج حاصل از اندازه‌گیری فعالیت آبی در ۱۰ نمونه گوشت مرغ مزه‌دار شده در روز صفر (A) و در زمان‌های مختلف نگهداری در یخچال (B) حروف یکسان، نشان‌دهنده عدم وجود معنی‌داری در سطوح آماری ۹۵ درصد می‌باشد.

Fig. 1- Results of  $a_w$  measurement in 10 marinated chicken meat samples on first day (A) and at different times of storage in the refrigerator (B)

The same letters indicate no significant difference at the confidence level of 95%.

تا ۶/۵۵ و میانگین ۵/۷۸ رسید. نتایج نشان می‌دهد که pH نمونه‌ها در طی زمان نگهداری، به طور معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) افزایش یافته است. همچنین مشخص گردید که کم‌ترین pH مربوط به نمونه‌های ۵ و ۷ بود.

بررسی pH در ۱۰ نمونه مورد ارزیابی، نشان داد که میزان pH روز صفر در تمام نمونه‌ها در محدوده بین ۴/۷۴ تا ۵/۶۵ و میانگین ۵/۲۷ بود که دلیل این تفاوت pH استفاده از مقادیر مختلف آلبیمو جهت فراوری جوجه کباب در مراکز تهیه این محصول بود. این میزان در طی مدت نگهداری افزایش یافت، بطوری که در روز نهم به محدوده ۴/۸۹



شکل ۲- نتایج حاصل از اندازه‌گیری ازت فرار تام در ۱۰ نمونه گوشت مرغ مزه‌دار شده در روز صفر (A) و در زمان‌های مختلف نگهداری در یخچال (B)

حروف یکسان، نشان‌دهنده عدم وجود معنی‌داری در سطوح آماری ۹۵ درصد می‌باشد.

Fig. 2- Results of TVN measurement in 10 marinated chicken meat samples on first day (A) and at different times of storage in the refrigerator (B)

The same letters indicate no significant difference at the confidence level of 95%.

می‌تواند بدلیل رشد میکروارگانیسم‌های هوازی و بی‌هوازی اختیاری و مصرف اکسیژن موجود در محیط توسط آنها باشد. بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار O/R در روز صفر به ترتیب مربوط به نمونه‌های ۵ و ۴ بود که این اختلاف می‌تواند به دلیل اندازه قطعات گوشت و ترکیبات افزوده شده و نحوه فراوری جوجه کباب باشد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری O/R در نمونه‌ها در شکل ۴ آورده شده است. این نتایج با نتایج مطالعات سوگومونیان و همکاران (Soghomonyan *et al.*, 2011) و اکتیارسکی و اسمیرنوا (Oktyabrskii and Smirnova, 2012)

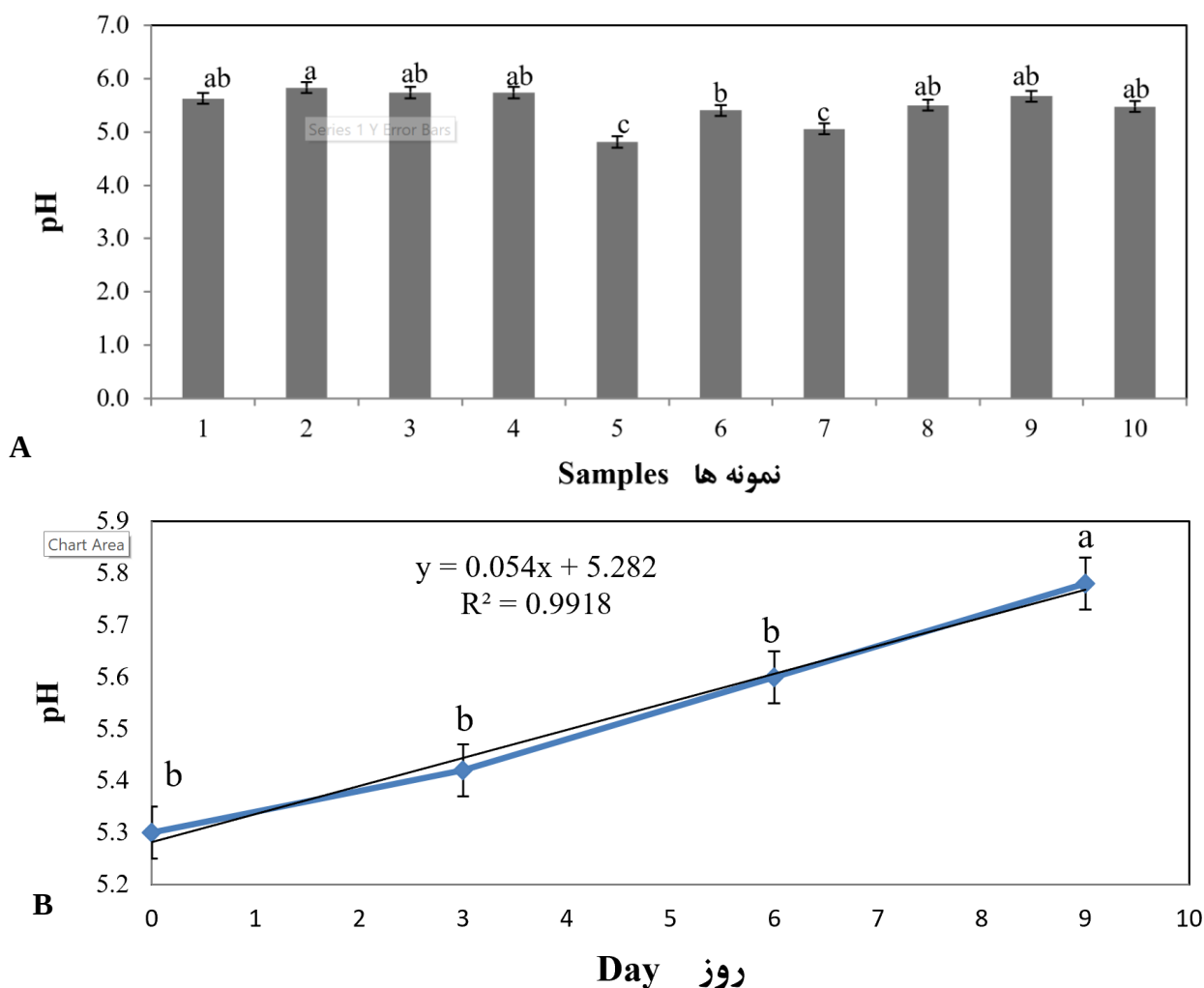
نتایج حاصل از اندازه‌گیری pH در روز صفر در نمونه‌ها در شکل ۳ گزارش شده است. این نتایج با نتایج حاصل از مطالعات فرهنگ فر و همکاران (Farhangfar *et al.*, 2011) که نشان داد با گذر زمان میزان pH افزایش پیدا می‌کند، هم‌خوانی دارد.

نتایج ارزیابی O/R در نمونه‌های مورد بررسی نشان داد که در روز صفر میزان O/R در تمام نمونه‌ها در دامنه‌ی بین ۷۰ تا ۱۴۳ + بود و پس از گذشت نه روز به طور معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) کاهش یافت و به محدوده‌ی بین ۲۱ تا ۱۱۵ + با میانگین ۶۶/۸ + رسید که این

باکتری در طول زمان نگهداری نمونه‌ها در یخچال اختلاف معنی‌داری را نشان داد ( $p \leq 0.05$ ). لذا با افزایش مدت نگهداری، شمارش کلی باکتری‌ها به صورت معنی‌دار افزایش یافت. همچنین تعداد کل باکتری در روز صفر بر زمان نگهداری گوشت مرغ مزه‌دار شده در طول نگهداری در یخچال موثر بوده است بطوری که با افزایش تعداد باکتری در روز صفر مدت ماندگاری کاهش می‌یابد. کمترین جمعیت باکتریایی مربوط به نمونه ۵ بود که در روز شروع آزمایش (روز صفر) تعداد آن  $4/6 \text{ Log cfu/g}$  شمارش شد که این تعداد در شرایط یخچال در روز آخر شمارش (روز نهم) به  $5/6 \text{ Log cfu/g}$  رسید این نمونه از نظر خصوصیات کلی و میزان بار میکروبی بر اساس استاندارد ملی کشور در خصوص گوشت تازه مرغ به شماره ۹۷۱۴ در روز آخر آزمایش سالم بود.

همخوانی دارد. در این مطالعات نشان داده شد که با رشد میکروارگانیسم‌های هوازی در مواد غذایی، O/R ماده غذایی کاهش می‌یابد.

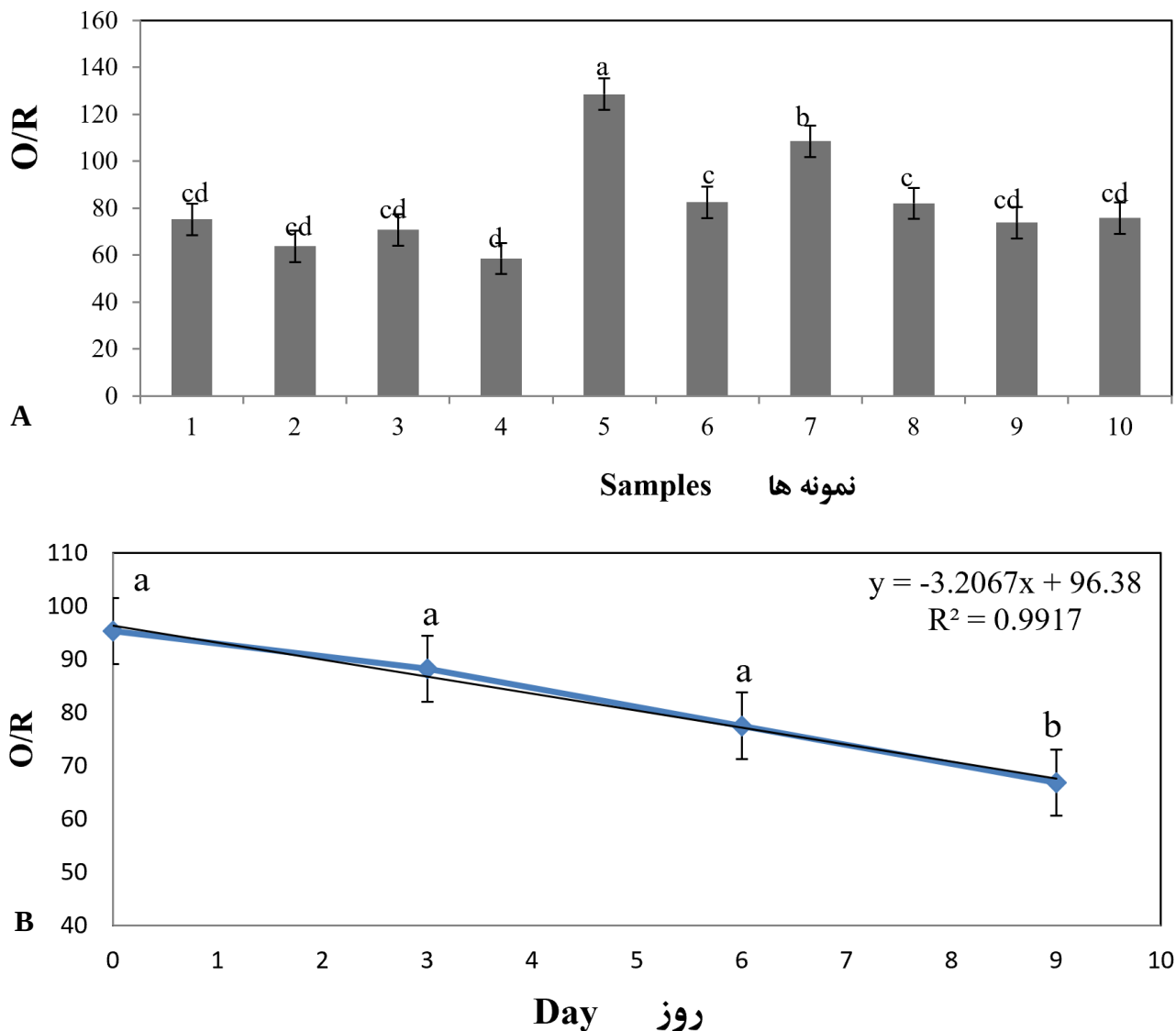
نتایج حاصل از شمارش کل باکتری در نمونه‌های گوشت مرغ مزه دار شده در طی نگهداری در یخچال در شکل ۵ گزارش شده است. همان‌طور که مشاهده می‌گردد، در طی مدت نگهداری، جمعیت کل باکتری در نمونه‌ها به طور معنی‌داری افزایش یافته است ( $p \leq 0.05$ ). همچنین مشخص گردید که کم‌ترین میزان جمعیت کل باکتری در روز صفر در نمونه شماره ۵ و بیش‌ترین میزان در نمونه‌های ۲، ۳ و ۸ وجود داشت که دلیل آن می‌تواند بار میکروبی پایین گوشت مرغ، ترکیبات مورد استفاده و رعایت بهداشت در هنگام فراوری جوجه کباب نمونه شماره ۵ باشد. آنالیز آماری نمونه‌ها در خصوص مقادیر شمارش کل



شکل ۳- نتایج حاصل از اندازه‌گیری pH در ۱۰ نمونه گوشت مرغ مزه‌دار شده در روز صفر (A) و در زمان‌های مختلف نگهداری در یخچال (B)  
 حروف یکسان، نشان‌دهنده عدم وجود معنی‌داری در سطوح آماری ۹۵ درصد می‌باشد.

Fig. 3- Results of pH measurement in 10 marinated chicken meat samples on first day (A) and at different times of storage in the refrigerator (B)

The same letters indicate no significant difference at the confidence level of 95%.



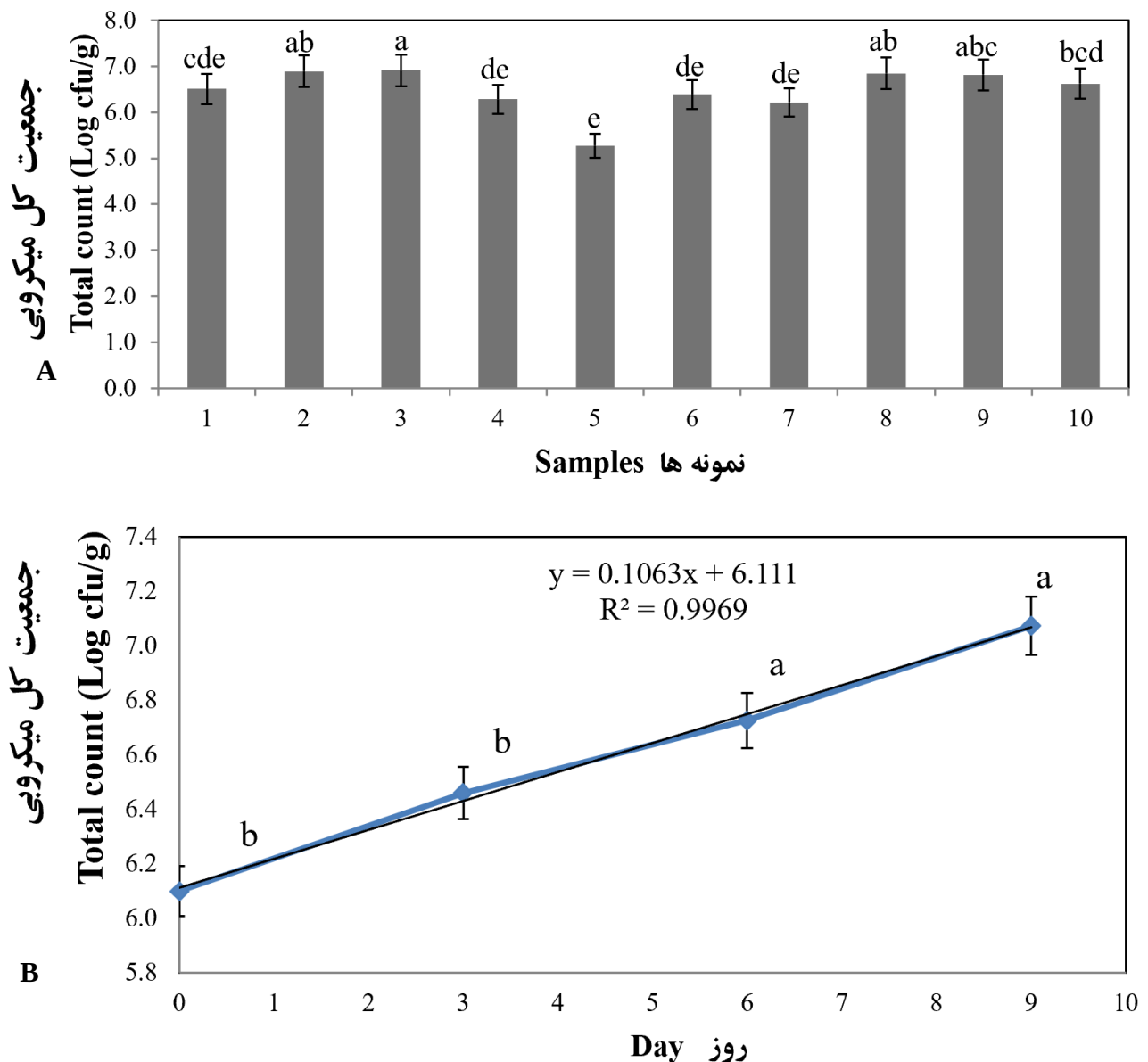
شکل ۴- نتایج حاصل از اندازه‌گیری پتانسیل اکسیداسیون- احیا در ۱۰ نمونه گوشت مرغ مزه‌دار شده در روز صفر (A) و در زمان‌های مختلف نگهداری در یخچال (B)

حروف یکسان، نشان‌دهنده عدم وجود معنی‌داری در سطوح آماری ۹۵ درصد می‌باشد.

**Fig. 4- Results of O/R measurement in 10 marinated chicken meat samples on first day (A) and at different times of storage in the refrigerator (B)**

The same letters indicate no significant difference at the confidence level of 95%.





شکل ۵- نتایج حاصل از شمارش کل باکتریایی در ۱۰ نمونه گوشت مرغ مزه‌دار شده در روز صفر (A) و در زمان‌های مختلف نگهداری در یخچال (B)

حروف یکسان، نشان‌دهنده عدم وجود معنی‌داری در سطوح آماری ۹۵ درصد می‌باشد.

Fig. 5- Results of bacterial total count measurement in 10 marinated chicken meat samples on first day (A) and at different times of storage in the refrigerator (B)

The same letters indicate no significant difference at the confidence level of 95%.

به منظور ارزیابی دقیق جمعیت باکتریایی موجود در نمونه‌های مختلف، تعداد پرگنه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* آنها نیز در روز صفر و در طول زمان نگهداری نمونه‌ها در یخچال شمارش گردید (شکل‌های ۶ و ۷). بیش‌ترین میزان پرگنه *استافیلوکوکوس اورئوس* در روز صفر در نمونه ۶ و کم‌ترین میزان در نمونه ۱ مشاهده

این مسئله نشان می‌دهد که هرچه بار باکتریایی در جوجه کباب در روز صفر کمتر باشد، فساد دیرتر اتفاق می‌افتد. این نتایج با نتایج مطالعات سوریانو و همکاران (Soriano and Rico, 2004) همخوانی دارد.

جهت انجام آزمایشات ارزیابی حسی، نمونه‌ها در روزهای تعیین شده مورد ارزیابی قرار داده شدند (شکل ۸). همه نمونه‌ها تا روز ۶ سالم بودند و فقط در نمونه ۸ تغییر جزئی در بافت و رنگ مشاهده شد. بقیه نمونه‌ها بجز نمونه ۵ علائم فساد شامل اسلایم، بوی نامطلوب، تغییر بافت و رنگ را در روز هشتم نشان دادند.

به منظور تجزیه و تحلیل نتایج بدست آمده و بررسی ارتباط بین پارامترهای مختلف، آنالیز مؤلفه‌های اصلی و نیز تعیین ضرایب همبستگی پیرسون بر روی خصوصیات نمونه‌های گوشت مرغ مزه‌دار شده انجام گرفت (شکل ۹ و جدول ۱).

از تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی برای کمک به درک ساختار داده‌های زیربنایی و تشکیل تعداد کمتری از متغیرهای نامرتبط (مثلاً برای جلوگیری از چند خطی بودن در رگرسیون) استفاده می‌شود (Hair *et al.*, 2020). در این پژوهش، مؤلفه اول، ۳۸/۳٪ و مؤلفه دوم، ۲۳/۱٪ و در مجموع ۶۱/۴٪ از تغییرپذیری را پیش‌بینی نمودند. همان‌طور که نمودار آنالیز مؤلفه‌های اصلی نشان می‌دهد، پتانسیل اکسیداسیون-احیا، ماندگاری و تعداد پرکنه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* ارتباط غیرمستقیمی با مؤلفه اول داشتند در حالی که سایر پارامترها، ارتباطی مستقیم از خود نشان دادند. مؤلفه اصلی دوم، با پارامترهای pH، شمارش کل باکتری، فعالیت آبی و تعداد پرکنه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* ارتباطی غیرمستقیم و با سایر پارامترهای مورد بررسی در نمونه‌های گوشت مرغ مزه‌دار شده، ارتباطی مستقیم داشتند. بررسی ضرایب همبستگی پیرسون نشان می‌دهد که ماندگاری نمونه‌ها، با پارامترهای pH، پتانسیل اکسیداسیون-احیا و شمارش کل باکتری دارای رابطه معنی دار است.

از روش رگرسیون حداقل مربعات جزئی برای بررسی ارتباط بین خصوصیات حسی (ماندگاری) و خصوصیات دستگاهی استفاده گردید. با توجه به اینکه در ماتریس ضرایب همبستگی پیرسون، ماندگاری با پارامترهای pH، پتانسیل اکسیداسیون-احیا و شمارش کل باکتری دارای ارتباط معنی‌دار بود، لذا برای پیشگویی ماندگاری نمونه‌های گوشت مرغ مزه‌دار شده، این پارامترها به عنوان مؤلفه‌های رگرسیونی به کار برده شدند. معادله رگرسیونی بدست آمده جهت پیشگویی ماندگاری گوشت مرغ مزه‌دار شده به صورت زیر می‌باشد:

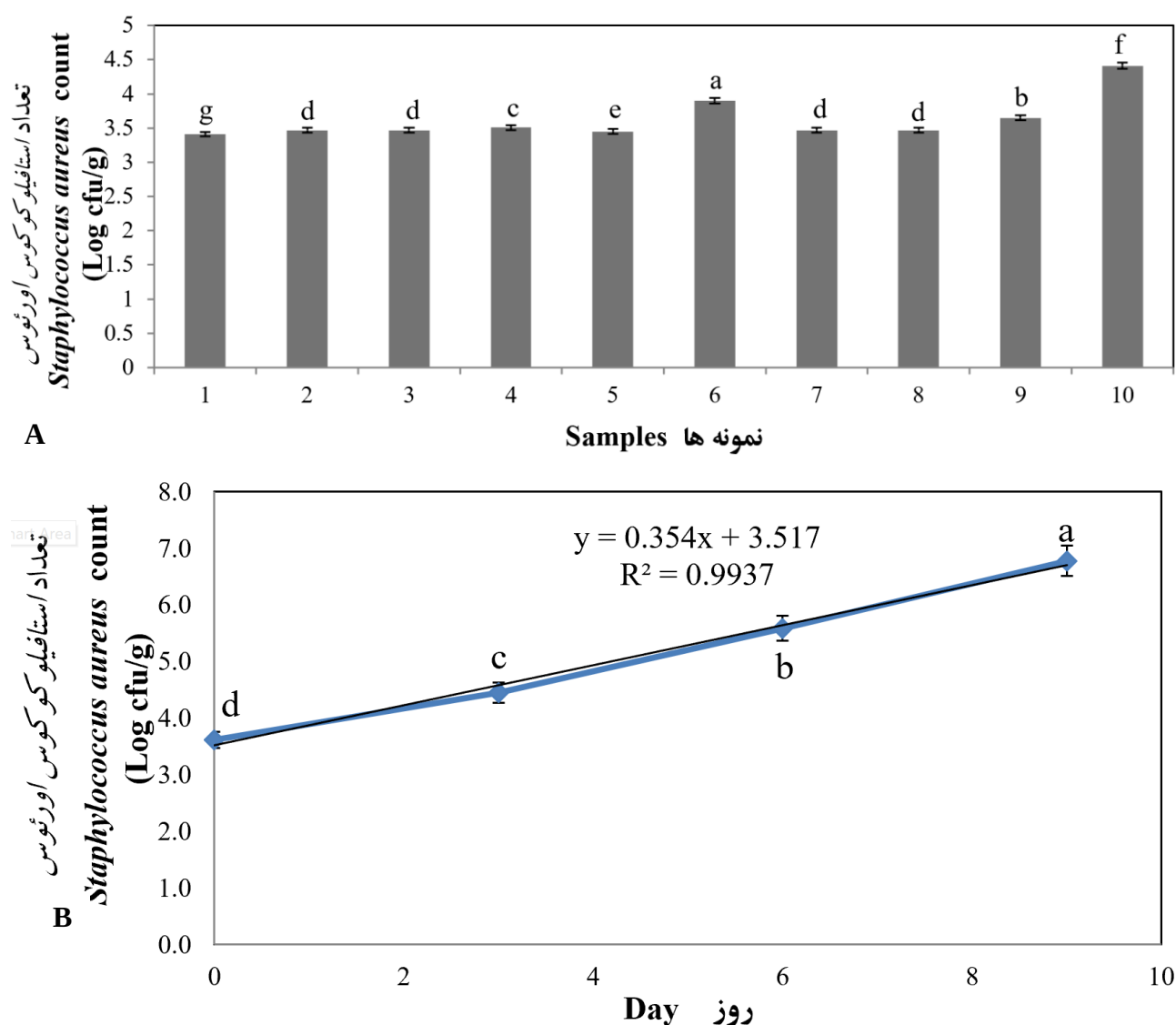
$$\text{O/R} = 1/875 + 82/966 \text{ pH} - 527/816 + (\text{ماندگاری})^2$$

(معادله ۱)  $\text{Total count} = 0.0000764$

$R^2$  و  $\text{adj } R^2$  معادله رگرسیونی بدست آمده به ترتیب برابر با ۷۶/۵۵ و ۶۴/۸۲ بود که نشان‌دهنده کارایی بالای این معادله در پیشگویی ماندگاری گوشت مرغ مزه‌دار شده با استفاده از pH، پتانسیل اکسیداسیون-احیا و کل جمعیت باکتریایی می‌باشد.

گردید. میانگین شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* برای قطعه‌های جوجه کباب در روز شروع آزمایش  $3/77 \text{ Log cfu/g}$  اندازه‌گیری شد. بیشینه *استافیلوکوکوس اورئوس* بر طبق استاندارد ملی کشور به شماره ۹۷۱۴، در مورد قطعات گوشت مرغ  $3 \text{ Log cfu/g}$  می‌باشد که نتایج حاصل حاکی از این هست که میزان *استافیلوکوکوس اورئوس* از ابتدا در این فراورده بیشتر از حد استاندارد بوده است. که دلیل آن می‌تواند، استفاده از افزودنی‌ها و فرآوری آن توسط پرسنل رستوران‌ها برای تولید این محصول باشد. در بررسی آلودگی باکتریایی غذاهای مصرفی در مراکز درمانی و آموزشی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله نتایج مشابهی مشاهده شد، در این تحقیق نیز میزان آلودگی جوجه کباب به *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت فراتر از حد استاندارد بود (Tavakoli *et al.*, 2013). در مطالعه‌ای دیگر که توسط پارسایی مهر و همکاران (Parsaei Mehr *et al.*, 2011) در خصوص بررسی مسمومیت‌های باکتریایی ناشی از مواد غذایی در تهران انجام شد به این نتیجه رسیدند که باکتری‌های بیماری‌زا نظیر *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت از طرق مختلف به ویژه دست‌های آلوده کارکنان و یا ظروف آلوده انتقال می‌یابند. روند رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در روزهای نگهداری گوشت مرغ مزه‌دار شده در یخچال ۵ درجه سلسیوس در کلیه نمونه‌ها یک روند افزایشی را نشان داد که با توجه به افزایش زمان ماندگاری جوجه کباب مزه‌دار شده نسبت به جوجه کباب بدون فرآوری می‌تواند سلامت مصرف کنندگان را تهدید نماید. این نتایج با نتایج مطالعات پایاندان و همکاران (Payandan *et al.*, 2017) همخوانی دارد.

کم‌ترین میزان *اشریشیا کلی* نیز در محیط کشت‌های حاصل از نمونه‌های ۲، ۵، ۶ و ۹ مشاهده گردید. میانگین شمارش *اشریشیا کلی* برای قطعه‌های گوشت مرغ مزه‌دار شده  $2/4 \text{ Log cfu/g}$  شمارش شد. بیشینه *اشریشیا کلی* بر طبق استاندارد ملی کشور به شماره ۹۷۱۴، در مورد قطعات گوشت مرغ  $2/7 \text{ Log cfu/g}$  اعلام شده است. نتایج حاصل نشان می‌دهد نمونه‌ها از نظر تعداد *اشریشیا کلی* در حد مطلوب و قابل قبولی بودند. آلودگی گوشت و فرآورده‌های گوشتی به *اشریشیا کلی* در سه دهه قبل به مراتب بیشتر از امروز بوده است. این نشان‌دهنده بهبود وضعیت بهداشتی در کشتارگاه‌ها و کارخانه‌های صنایع گوشت می‌باشد. این نتایج با نتایج حاصل از مطالعه‌ای که توسط وازگسر و همکاران (Vazgecer *et al.*, 2004) تحت عنوان کیفیت میکروبی دونه کباب در کشور ترکیه انجام دادند و میزان *اشریشیا کلی* در نمونه‌های مورد بررسی در حد مطلوبی گزارش شد، همخوانی دارد. همچنین نتایج نشان داد که روند رشد *اشریشیا کلی* در مقایسه با *استافیلوکوکوس اورئوس* در گوشت مرغ مزه‌دار شده در طول مدت نگهداری در یخچال آهسته‌تر می‌باشد.

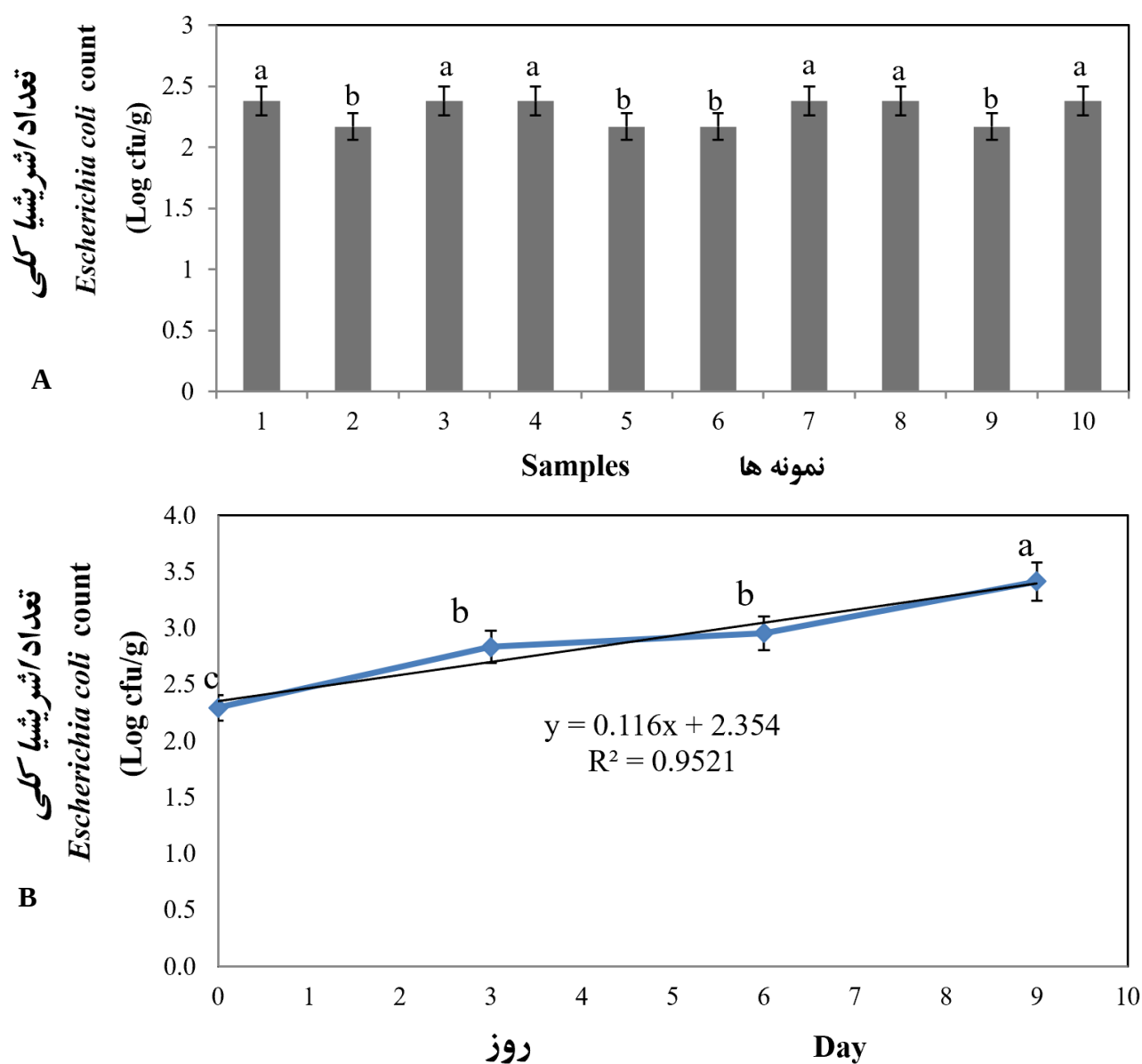


شکل ۶- نتایج حاصل از اندازه‌گیری تعداد/استافیلوکوکوس/اورئوس در ۱۰ نمونه گوشت مرغ مزه‌دار شده در روز صفر (A) و در زمان‌های مختلف نگهداری در یخچال (B)

حروف یکسان، نشان‌دهنده عدم وجود معنی‌داری در سطوح آماری ۹۵ درصد می‌باشد.

Fig. 6- Results of *Staphylococcus aureus* measurement in 10 marinated chicken meat samples on first day (A) and at different times of storage in the refrigerator (B)

The same letters indicate no significant difference at the confidence level of 95%.

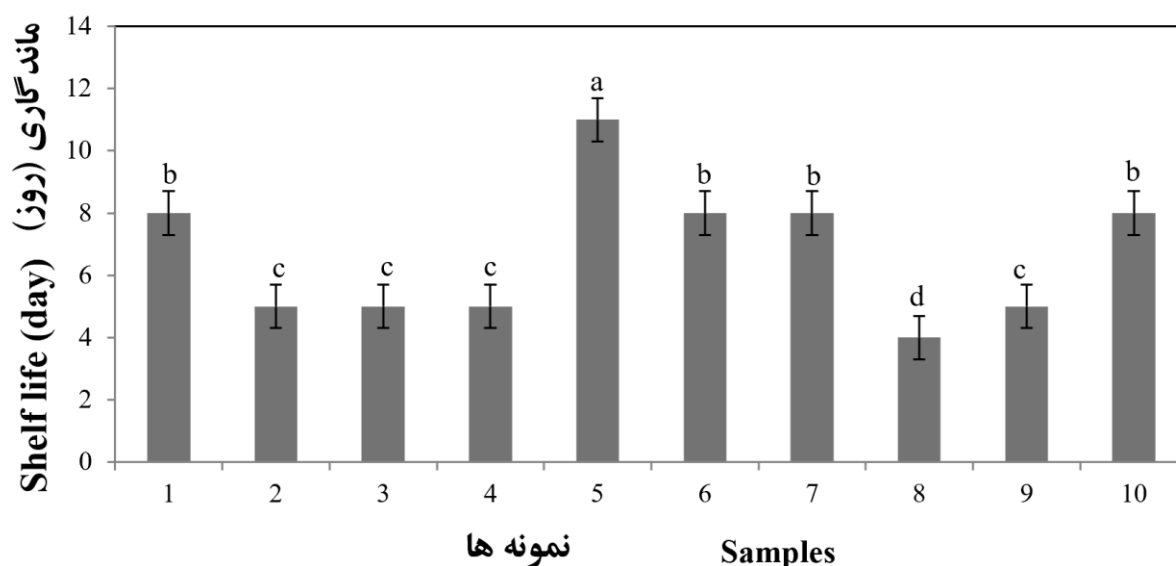


شکل ۷- نتایج حاصل از اندازه‌گیری تعداد/شریشیا کلی در ۱۰ نمونه گوشت مرغ مزه‌دار شده در روز صفر (A) و در زمان‌های مختلف نگهداری در یخچال (B)

حروف یکسان، نشان‌دهنده عدم وجود معنی داری در سطوح آماری ۹۵ درصد می‌باشد.

Fig. 7- Results of *Escherichia coli* measurement in 10 marinated chicken meat samples on first day (A) and at different times of storage in the refrigerator (B)

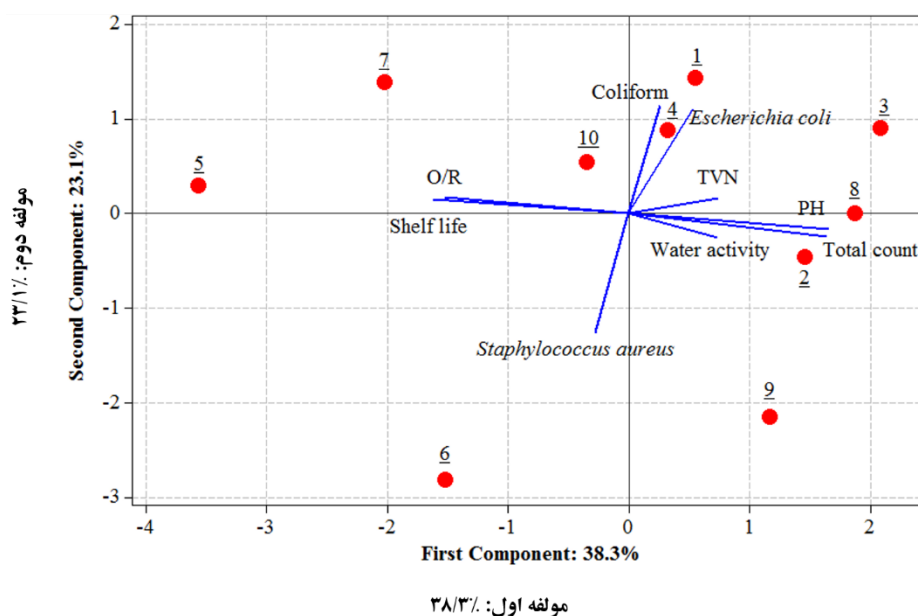
The same letters indicate no significant difference at the confidence level of 95%.



شکل ۸- نتایج حاصل از میانگین ارزیابی حسی در ۱۰ نمونه گوشت مرغ مزه‌دار شده در زمان‌های مختلف نگهداری در یخچال. حروف یکسان، نشان‌دهنده عدم وجود معنی‌داری در سطوح آماری ۹۵ درصد می‌باشد.

Fig. 8- Results of average sensory analysis measurement in 10 marinated chicken meat samples at different times of storage in the refrigerator

The same letters indicate no significant difference at the confidence level of 95%.



شکل ۹- نمودار آنالیز مؤلفه‌های اصلی بر روی خصوصیات نمونه‌های گوشت مرغ مزه‌دار شده

Fig. 9- Biplot of principal component analysis on properties of marinated chicken meat samples

## نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که استفاده از افزودنی‌ها در فرآوری جوجه کباب توانسته است علایم فساد را در قطعات گوشت مرغ به تأخیر بیندازد که این می‌تواند ناشی از ترکیباتی همچون آلیمو، پیاز، ادویجات و غیره باشد همچنین نشان داد که سه خصوصیت pH، پتانسیل اکسیداسیون-

احیا و شمارش کل باکتری دارای بیشترین همبستگی داخلی با ماندگاری هستند، که می‌توانند به عنوان مؤلفه‌های پیشگو مورد استفاده قرار گیرند. استفاده از ترکیبات دارای بو و رنگ در تهیه گوشت مرغ مزه‌دار شده می‌تواند علایم ظهور فساد را پنهان نماید که با اندازه‌گیری سه مؤلفه pH، پتانسیل اکسیداسیون- احیا و شمارش کل باکتری می

توان فساد را در این نوع محصولات تشخیص داد همچنین نتایج نشان داد که اگر در تهیه گوشت مرغ مزه‌دار شده از مواد اولیه با کیفیت، رعایت بهداشت در زمان تولید و ترکیباتی همچون آلبیمو به مقدار مناسب استفاده شود، بطوری که pH حدود ۴/۵ را ایجاد کند می‌توان محصولی با کیفیت و مدت ماندگاری بالاتر را تولید کرد.

جدول ۱- ماتریس ضرایب همبستگی پیرسون بین خصوصیات نمونه‌های گوشت مرغ مزه‌دار شده

Table 1- Pearson's correlation coefficients between features of marinated chicken meat samples

|                                   | فعالیت آبی<br>(Water activity) | pH        | O/R    | TVN    | جمعیت کل میکروبی<br>(Total Count) | استافیلوکوکوس اورئوس<br>S. aureus | اشریشیا کلی<br>E. coli |
|-----------------------------------|--------------------------------|-----------|--------|--------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------|
| pH                                | 0.113                          |           |        |        |                                   |                                   |                        |
| O/R                               | 0.060                          | -0.976*** |        |        |                                   |                                   |                        |
| TVN                               | 0.620                          | 0.117     | 0.013  |        |                                   |                                   |                        |
| جمعیت کل میکروبی<br>(Total Count) | 0.450                          | 0.712*    | -0.596 | 0.480  |                                   |                                   |                        |
| استافیلوکوکوس اورئوس<br>S. aureus | -0.014                         | 0.031     | -0.082 | -0.301 | -0.091                            |                                   |                        |
| اشریشیا کلی<br>E. coli            | -0.192                         | 0.149     | -0.211 | 0.207  | 0.024                             | -0.556                            |                        |
| ماندگاری<br>Shelf life            | -0.379                         | -0.702*   | 0.663* | -0.146 | -0.763*                           | 0.014                             | -0.253                 |

ضرایب با اندیس یک ستاره، دو ستاره و سه ستاره، به ترتیب نشان دهنده معنی‌داری در سطوح ۹۵٪، ۹۹٪ و ۹۹/۹۹٪ می‌باشد.

Coefficients with the index of one star, two stars and three stars indicate the significance at the levels of 95%, 99% and 99.9%, respectively.

## منابع

- Angelillo, I.F., Viggiani, N., Rizzo, L., & Bianco, A. (2000). Food handlers and foodborne diseases: knowledge, attitudes, and reported behavior in Italy. *Journal of Food Protection*, 63(3), 381-385. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-63.3.381>
- Barakat, R.K., Griffiths, M.W., & Harris, L.J. (2000). Isolation and characterization of *Carnobacterium*, *Lactococcus*, and *Enterococcus* spp. from cooked, modified atmosphere packaged, refrigerated, poultry meat. *International Journal of Food Microbiology*, 62(1-2), 83-94. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00381-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00381-0)
- Brannan, R. (2008). Effect of grape seed extract on physicochemical properties of ground, salted, chicken thigh meat during refrigerated storage at different relative humidity levels. *Journal of Food Science*, 73(1), C36-C40. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00588.x>
- Farhangfar, A., Tajik, H., Razavi Rohani, S.M., Moradi, M., & Aliakbarlu, J. (2011). Combined influence of the clove essential oil and grape seed extract on the spoilage related bacteria of Buffalo Patties during the storage at 8 °C. *Journal of Food Research*, 21(1), 105-116.
- Firouzi, R., Shekarforoush, S.S., & Malekzadeh, M. (2011). Effect of essential oils of oregano and nutmeg on growth and survival of *Staphylococcus aureus* in barbecued chicken. *Journal of Food Science and Technology*, 32(2), 35-41.
- Gould, G.W. (1996). Methods for preservation and extension of shelf life. *International Journal of Food Microbiology*, 33(1), 51-64. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(96\)01133-6](https://doi.org/10.1016/0168-1605(96)01133-6)
- Hair Jr, J.F., Howard, M.C., & Nitzl, C. (2020). Assessing measurement model quality in PLS-SEM using confirmatory composite analysis. *Journal of Business Research*, 109, 101-110. <https://doi.org/10.1016/j.jbusres.2019.11.069>
- Hassanzadeh, P., Tajik, H., Razavi Rohani, M., Ehsani, A., Aliakbarlu, J., & Moradi, M. (2011). Effects of gamma irradiation and chitosan edible coating on the bacterial, chemical and sensory properties of chicken meat. *Journal of Food Research*, 21(3), 355-369.
- INSO. (2015). Microbiology of the food chain —Horizontal method for the enumeration of microorganisms — Part 2 :Colony count at 30 °C by the surface plating technique. *Iranian National Standardization Organization* 5272-2.
- INSO. (2018a). Microbiology of the food chain- Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examinationPart2: Specific rules for the preparation of meat and meat products. *Iranian National Standardization Organization* 8923-2.



11. INSO. (2018b). Microbiology of the food chain -Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination Part 1:General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions. *Iranian National Standardization Organization* 8923-1.
12. INSO. (2020). Animal feeding stuffs — Sampling. *Iranian National Standardization Organization*, 7570.
13. INSO. (2021). Microbiology of food and animal feeding stuffs -Detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli* -Most probable number technique. *Institute of Standards and Industrial Research of Iran*, 2946.
14. Iran Food and Drug Administration. (2013). Minimum technical and hygienic criteria of units producing ready-to-eat and semi-ready-to-eat foods. The Official Webpage for the IFDA - Ministry of Health and Medical Education.
15. ISIRI. (2007a). Animal feeding stuffs – Determination of total volatile nitrogen content – Test method *Institute of Standards and Industrial Research of Iran*, 9626.
16. ISIRI. (2007b). Meat and meat products – Measurment of pH – Reference test method *Institute of Standards and Industrial Research of Iran*, 1028.
17. ISIRI. (2022). Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of positive Staphylococci –coagulase (*Staphylococcus aureus* and other species )- Part 3 :Detection and MPN technique for low numbers. *Institute of Standards and Industrial Research of Iran*, 6806-3.
18. Jahanbin, K., Emam Jomeh, Z., & Hamed, M. (2008). An Investigation of the Colour Change in Canned Chicken Kebab During Storage Period and under Accelerated Conditions *Iranian Journal of Biosystems Engineering*, 39(1), 103-108.
19. Mahdavi-Roshan, M., Gheibi, S., & Pourfarzad, A. (2022). Effect of propolis extract as a natural preservative on quality and shelf life of marinated chicken breast (chicken Kebab). *Lwt*, 155, 112942. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112942>
20. Niknam, E., & Javanmard, M. (2015). Determination of spoilage and shelf life of meat in the refrigerator using color reagents. *Journal of new Food Science and Technologies*, 2(6), 3-14. [http://jift.irost.ir/pdf\\_90\\_3238897b4b5525cfe6b2009d91363d03.html](http://jift.irost.ir/pdf_90_3238897b4b5525cfe6b2009d91363d03.html)
21. Oktyabrskii, O., & Smirnova, G. (2012). Redox potential changes in bacterial cultures under stress conditions. *Microbiology*, 81(2), 131-142. <https://doi.org/10.1134/S0026261712020099>
22. Parsaei Mehr, M., Misaghi, A., Akhondzadeh, A., Zahraei Salehi, T., Modaresi, M.H., Gandomi, H., Firuzbakht, F., Karkudi, S., & Assadollah Nezhad, R. (2011). Effect of *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus* on growth and enterotoxin production of *Staphylococcus Aureus*. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 8(28), 91-97.
23. Payandan, E., Sayyed-Alangi, S.Z., Shamloofar, M., & Koohsari, H. (2017). Study of chemical composition and efficacy of different extracts of Iranian propolis on the microbiological and sensory parameters of minced *Cyprinus carpio* meat at 4° C storage. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 26(5), 593-603.
24. PourJafar, S., Moshak, Z., & Mirzaee, M. (2020). The survey of microbial properties in commercial ready-to-eat foods at manufactures and hypermarkets in Alborz province. *Journal Food Microbiology*, 1, 73-87.
25. Qaziyani, S. D., Pourfarzad, A., Gheibi, S., & Nasiraie, L.R. (2019). Effect of encapsulation and wall material on the probiotic survival and physicochemical properties of synbiotic chewing gum: Study with univariate and multivariate analyses. *Heliyon*, 5(7), e02144. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02144>
26. Sikorski, Z.E., & Kołodziejska, I. (1986). The composition and properties of squid meat. *Food Chemistry*, 20(3), 213-224. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(86\)90174-3](https://doi.org/10.1016/0308-8146(86)90174-3)
27. Soghomonyan, D., Akopyan, K., & Trchounian, A. (2011). pH and oxidation-reduction potential change of environment during growth of lactic acid bacteria: effects of oxidizers and reducers. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 47(1), 27-31. <https://doi.org/10.1134/S0003683811010157>
28. Soriano, J., & Rico, H. (2004). The Study of food borne pathogens in foods from nineteen university restaurants in valencia (Spain). *Journal of Food Protection*, 64(4), 551-553.
29. Tavakoli, H.R., Jodaee, A.A., Imani Fouladi, A.A., Sarshar, M., Rafati, H., & Asadi Bagh Asiab, B. (2013). Common Types Of *Staphylococcus Aureus* Enterotoxin In Meaty Foods. *Iranian Journal of Infections Diseases and Tropical Medicine*, 17(59), 9-15.
30. Vazgecer, B., Ulu, H., & Oztan, A. (2004). Microbiological and chemical qualities of chicken döner kebab retailed on the Turkish restaurants. *Food Control*, 15(4), 261-264. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(03\)00065-3](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(03)00065-3)



## Effect of Ultrasonic Waves on Structural, Functional and Rheological Properties of Locust Bean Gum

S. Farizadeh<sup>1</sup>, H. Abbasi<sup>ID 2\*</sup>

Received: 2022.02.09

Revised: 2022.05.11

Accepted: 2022.05.18

Available Online: 2022.05.18

### How to cite this article:

Farizadeh, S., & Abbasi, H. (2023). Effect of ultrasonic waves on structural, functional and rheological properties of locust bean gum. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 19(2), 365-381. (In Persian with English abstract). <http://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.74595.1133>

### Introduction

Hydrocolloid is a term refers to all polysaccharides extracted from plants, seeds, and microbial sources that regardless of their biological and nutritional role has various functional properties in food products such as concentration and gel production of aqueous solutions, stabilization of foam, emulsions and dispersed systems, prevention of ice and sugar crystals, control of the release of flavor compounds and consequently control and improve food quality. Ultrasound has been widely used in the food industry due to its numerous physical and chemical effects. The effect of ultrasound is due to cavitation, heating, dynamic mobility and shear stresses to the sample. Today, ultrasound is used as a green new technology with unique effects on food storage and processing. One of the newest applications of ultrasound is altering the structure of polymers such as polysaccharides. Changes in the structure of hydrocolloids lead to modification in their functional properties.

### Materials and Methods

In this study, effect of ultrasonic waves, time (0-90 min) and processing temperature (25-75 °C) on physicochemical, rheological and functional properties of locust bean gum was investigated. In this regards, different parameters including changes in pH, solubility, minimum gelatinization concentration, viscosity and emulsifying properties (Emulsifying capacity, emulsion stability and particle dimensions) of treated locust bean gum were determined. Response surface methodology in central composite design was used to evaluate the effect of independent variables on qualitative properties of locust bean gum and model their changes. The best treatment condition was determined and the optimum treated samples were evaluated and compared in microstructure using scanning electron microscopy, rheological properties (rotational and oscillatory test) and Fourier transform infra-red.

### Results and Discussion

The results showed that with increasing the time of ultrasound treatment, pH, and viscosity of the hydrocolloid decreased and its solubility and minimum gel concentration increased. However, with increasing temperature, pH, minimum gelatinization concentration and hydrocolloid viscosity increased and its solubility decreased. Optimization of treatment conditions was performed by considering the achievement of the best hydrocolloid performance characteristics. Two different temperature and time conditions were proposed for the desirable treatment of the hydrocolloid using ultrasound. In the first case, the selection criteria were to achieve the best solubility and emulsifying

1 and 2- M.Sc. Graduate and Associate Professor in Food Science and Technology, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran, respectively.

(\*- Corresponding Author Email: [h.abbasi@Khuisf.ac.ir](mailto:h.abbasi@Khuisf.ac.ir))

DOI: [10.22067/ifstrj.2022.74595.1133](https://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.74595.1133)

properties of the hydrocolloid, and in the second case, the selection criteria were solubility and emulsifying properties improvement while maintaining the gelatinization properties of the hydrocolloid. Based on the desired quality factors, optimization was performed and the results showed that in the first optimal sample (treated at 40 ° C and 48.9 minutes), solubility and emulsifying properties and in the second optimal sample (treated at 66.67 ° C and 15 Min) by maintaining the gelation properties of hydrocolloid, the solubility of the hydrocolloid increased significantly. The performance of treated samples validated developed models. SEM results showed that the ultrasound increased three-dimensional structure of gum. The smaller microscopic structure was observed in untreated sample and the larger one was in treated with ultrasonic waves for 40.9 minutes at 40 ° C. Therefore, ultrasound caused agglomeration of treated freeze dried gum. It is noteworthy that several holes observed in the structure of treated gum with ultrasonic, which can increase solubility of the gum. The flow behavior of the sonicated and control samples showed that the viscosity of all samples decreased with increasing shear rate, which indicates their pseudoplastic behavior. At low shear rates (about 0.01 per second), the viscosity of the control sample was higher than that of the sonicated samples. However, at high shear rates (about 40 per second), viscosity of the three samples were almost the same. Therefore, the control sample was more effective to shear rate compared to the treated samples. The modulus of elasticity ( $G'$ ) and viscosity ( $G''$ ) of the treated specimens were lower compared to the control. Also, the frequency sweep of samples shown that in the frequency range under study,  $G'$  and  $G''$  were frequency dependent and with increasing frequency, the amount of these two parameters increased. This observation indicates the influence of rheological properties of the samples on the frequency changes that are commonly observed in suspensions. At low frequencies, the predominance of viscous behavior over elastic was observed in all three control and ultrasonic samples ( $G'' > G'$ ) and this feature was higher in the treated samples than the control. The modulus of elasticity and viscosity of the treated sample for 49 minutes was lower than other treated samples for 15 minutes, which shows the effect of ultrasound on the rheological properties of the hydrocolloid.

## Conclusion

The results of this study showed that ultrasonic waves provide a good opportunity to change the physical and functional properties of carob seed gum. It is possible to significantly improve the solubility and emulsifying activity of this hydrocolloid using ultrasound. It is necessary to determine the treatment conditions of the sample according to the intended application.

**Keywords:** Locust bean gum, Rheology, Solubility, Ultrasound, Viscosity

## مقاله پژوهشی

# بررسی تاثیر امواج فراصوت بر ویژگی‌های ساختاری، عملکردی و رئولوژیکی صمغ دانه خرنوب

سمیرا فریزاده<sup>۱</sup> - هاجر عباسی<sup>۲\*</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۲۷

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۲/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۲۸

## چکیده

هیدروکلوئیدها یکی از فراوان‌ترین بیوپلیمرهای موجود در طبیعت هستند که در صنعت غذا به عنوان ترکیبات عملگرا به منظور کنترل ساختار، بافت، طعم و افزایش انبارمانی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در این مطالعه، تاثیر اعمال امواج فراصوت در دما (۲۵-۷۵ درجه سانتیگراد) و زمان‌های (۰-۹۰ دقیقه) بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی، رئولوژی و عملکردی صمغ دانه خرنوب از جمله تغییرات pH، حلالیت، حداقل غلظت ژل شوندگی، ویسکوزیته و ویژگی‌های امولسیون کنندگی (ظرفیت امولسیون کنندگی، پایداری امولسیون و ابعاد ذرات امولسیون) مورد بررسی قرار گرفت. از نرم‌افزار دیزاین اکسپرت و طرح مرکب مرکزی جهت ارزیابی تاثیر متغیرها و مدلسازی آنها استفاده شد. تغییرات میکروسکوپی و رئولوژیکی و طیف‌سنجی مادون قرمز نمونه‌های بهینه بررسی و با نمونه شاهد مقایسه گردید. نتایج نشان داد که با افزایش زمان اعمال امواج فراصوت، pH، ویسکوزیته هیدروکلوئید کاهش و حلالیت و حداقل غلظت ژل شوندگی آن افزایش می‌یابد. درحالیکه، با افزایش دما، pH، حداقل غلظت ژل شوندگی و ویسکوزیته هیدروکلوئید افزایش و حلالیت آن کاهش می‌یابد. بر این اساس دو شرایط متفاوت دمایی و زمانی برای تیمار کردن هیدروکلوئید موردنظر با استفاده از امواج فراصوت پیشنهاد گردید که در حالت اول معیار انتخاب، دستیابی به بهترین شرایط حلالیت و ویژگی‌های امولسیون کنندگی این هیدروکلوئید و در حالت دوم، ملاک انتخاب شرایط، بهبود حلالیت و خصوصیات امولسیون کنندگی هیدروکلوئید هم‌گام با حفظ ویسکوزیته محلول هیدروکلوئید موردنظر بود. در بهینه اول (دما ۴۰ درجه سانتی‌گراد و زمان ۴۸/۹ دقیقه)، حلالیت و خصوصیات امولسیون کنندگی و در نمونه بهینه دوم (دما ۶۶/۶۷ درجه سانتی‌گراد و زمان ۱۵ دقیقه) با حفظ حداقل غلظت ژل شوندگی، حلالیت هیدروکلوئید افزایش می‌یابد. نتایج این پژوهش نشان داد که امکان تغییر و اصلاح ویژگی‌های کیفی هیدروکلوئید با استفاده از امواج اولتراسونیک و با توجه به فاکتورهای موردنظر وجود دارد و شرایط انجام فرایند بسته به کاربرد موردنظر از آن هیدروکلوئید می‌تواند متفاوت در نظر گرفته شود.

**واژه‌های کلیدی:** حلالیت، رئولوژی، صمغ دانه خرنوب، فراصوت، ویسکوزیته

## مقدمه

به منظور کنترل ساختار، بافت، طعم و افزایش انبارمانی محصول مورد استفاده قرار می‌گیرند. واژه هیدروکلوئید اصطلاحی است که به کلیه پلی‌ساکاریدهای استخراج شده از گیاهان، دانه‌ها و منابع میکروبی اطلاق می‌شود که صرف‌نظر از نقش‌های بیولوژیکی و تغذیه‌ای، به‌واسطه ویژگی‌های عملکردی متنوع از جمله تغلیظ‌کنندگی و ایجاد ژل در محلول‌های آبی، پایداری کف، امولسیون و سیستم‌های پراکنده، جلوگیری از ایجاد بلورهای یخ و قند، کنترل آزادسازی ترکیبات طعم‌زا و غیره، در صنایع مختلف به ویژه صنعت غذا مورد استفاده قرار می‌گیرند (Dickinson, 2003; Dickinson, 2009).

کربوهیدرات‌ها یا پلی‌ساکاریدها یکی از فراوان‌ترین بیوپلیمرهای موجود در طبیعت هستند که در صنعت غذا به‌عنوان ترکیباتی عملگرا

۱ و ۲- به ترتیب فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی و دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

(\*)- نویسنده مسئول:

(Email: [h.abbasi@khuif.ac.ir](mailto:h.abbasi@khuif.ac.ir))

DOI: 10.22067/ifstrj.2022.74595.1133

به‌عنوان قوام دهنده، پایدارکننده و ژل‌دهنده محصولات غذایی مختلف همچون محصولات صنایع پخت، نوشیدنی‌ها، محصولات لبنی و میوه‌های فرایند شده ازجمله پنیر خامه‌ای، انواع سس‌ها، بستنی، ماست و فیلم‌های خوراکی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Barak et al., 2014; Prajapat et al., 2015). در این مطالعه به منظور بررسی و بهبود خصوصیات عملکردی این هیدروکلوئید و با توجه به فقدان مطالعات کافی در این خصوص، تاثیر اعمال امواج فراصوت در زمان‌های مختلف (۰-۹۰ دقیقه) و دمای (۲۵-۷۵ درجه سانتیگراد) بر ویژگی‌های کیفی صمغ دانه خرنوب مدل‌سازی و مورد مطالعه قرار گرفت. ترکیب زمان و دما در تیمارهای مختلف با استفاده از روش سطح پاسخ-طرح مرکب مرکزی تنظیم گردید. با توجه به تغییرات اعمال شده و ویژگی‌های کیفی مورد نظر، شرایط بهینه اعمال تیمار بر این هیدروکلوئید مشخص گردید.

### مواد و روش‌ها

#### مواد اولیه مورد استفاده

صمغ دانه خرنوب از شرکت سیگما<sup>۶</sup> خریداری و تا زمان استفاده در دمای یخچال و در بسته‌بندی غیر قابل نفوذ به رطوبت، نگهداری شد. روغن سویا از شرکت نگین (همدان، ایران) خریداری شد. کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده در پژوهش از نمایندگی شرکت مرک (آلمان) تهیه شد.

#### اعمال تیمار فراصوت

ابتدا محلول صمغ دانه خرنوب با غلظت ۰/۵ درصد وزنی/وزنی تهیه و در حمام فراصوت (مدل پاناسونیک 15s، پارس نهان، ایران) مطابق زمان و دمای ارائه شده در جدول ۱ برای تیمارهای مختلف، در مجاورت امواج قرار گرفتند. سپس محلول‌های حاصل در خشک‌کن انجمادی (شرکت دنا و کیوم، ایران)، خشک و ارزیابی کیفی آنها انجام گردید.

#### ارزیابی ویژگی‌های کیفی نمونه‌های تیمار شده

##### pH

pH محلول‌های ۰/۵ درصد وزنی/وزنی صمغ دانه خرنوب با استفاده از pH متر (DIGITAL pH, MV, TEMP, METER, Taiwan) اندازه‌گیری شد (Peres et al., 2015).

##### حلالیت

۴۰ میلی‌لیتر محلول صمغ دانه خرنوب با غلظت ۰/۵ درصد وزنی/وزنی تهیه و در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۵ g

امواج فراصوت<sup>۱</sup> به واسطه دارا بودن اثرات فیزیکی و شیمیایی متعدد به طور گسترده در صنایع غذایی استفاده شده است. اثر فراصوت ناشی از حفره‌زایی<sup>۲</sup>، حرارت‌دهی، تحرک دینامیک، اعمال تنش‌های برشی و حالت غلیانی<sup>۳</sup> در نمونه است (Camino et al., 2009). امروزه امواج فراصوت به عنوان یک تکنولوژی جدید و دارای اثرات منحصر به فرد در نگهداری و فرایند مواد غذایی استفاده می‌شود (Mason et al., 1996). یکی از جدیدترین کاربردهای فراصوت، اعمال تغییر در ساختار پلیمرها است. شکست پلیمرها به دلیل تخریب مکانیکی آنها به واسطه حباب‌های متلاشی شده و تخریب شیمیایی آنها به واسطه واکنش میان پلیمر و مولکول‌هایی از جمله رادیکال‌های هیدروکسیل تولیدی از فرایند کایتاسیون از مهمترین تغییرات ایجاد شده در ساختار پلیمرهاست. اخیراً، مطالعات متنوعی در این خصوص بر انواع پلی‌ساکاریدها به منظور تغییر هدفمند ویژگی‌های عملکردی آنها صورت گرفته است (Wang et al., 2010; Farzi et al., 2011; Peres et al., 2015; Feng et al., 2017; Li et al., 2017). در این راستا، وانگ و همکاران (Wang et al., 2016) گزارش کردند که اعمال ۱۰ دقیقه امواج فراصوت با شدت بالا موجب کاهش ۸۵ درصدی ویسکوزیته ظاهری و ذاتی آگزوپلی‌ساکاریدهای قارچی و افزایش چهار برابری حلالیت آنها می‌شود و در این شرایط، توزیع وزن مولکولی پلیمر یکنواخت‌تر می‌گردد. محققین دیگری دریافته‌اند که ویسکوزیته و ابعاد ذرات پلیمر با اعمال کوتاه مدت امواج فراصوت بر محلول گونه‌های مختلف از صمغ کنیرا، افزایش و با طولانی‌تر شدن فرایند، کاهش می‌یابد. این مشاهده به توده‌ای شدن و متلاشی شدن ذرات این هیدروکلوئید نسبت داده شده است (Farzi et al., 2011). مجاورت محلول صمغ کنجاک با امواج فراصوت، اگرچه تغییر قابل شناسایی توسط FTIR در ساختار پلیمر ایجاد نمی‌کند، کاهش مدول ذخیره ( $G'$ )، مدول افت ( $G''$ ) و افزایش فاکتور اختلاف فاز محلول را منجر می‌گردد (Li et al., 2017). عملکرد متفاوت امواج فراصوت بر پلیمرهای مختلف، به دلیل تفاوت در ساختار اولیه پلیمر و نحوه تاثیرپذیری آنها و شدت امواج اعمال شده بر آنهاست.

دانه خرنوب<sup>۴</sup> (*Ceratonia siliqua* L.) دارای صمغی سفید تا کرم رنگ است که از آسیاب آندوسپرم دانه درخت کاروب<sup>۵</sup> بدست می‌آید. این گیاه متعلق به خانواده حبوبات است که در نواحی مدیترانه یافت می‌شوند. این صمغ به واسطه دارا بودن احساس دهانی مناسب

- 1- Ultrasound
- 2- Cavitation
- 3- Turbulence
- 4- Locust Bean Gum
- 5- Carob

6- Sigma

حرارت‌دهی در حمام و انحلال کامل، ۲۴ ساعت در دمای یخچال نگهداری شدند. حداقل غلظت صمغ جهت تشکیل ژل، معادل غلظتی که با وارونه کردن لوله‌ها، جریان یافتن محتویات آن صورت نمی‌گیرد، ارزیابی شد (Razavi et al., 2011).

### اندازه‌گیری ویسکوزیته ظاهری

ویسکوزیته ظاهری محلول‌های صمغ دانه خرنوب با غلظت ۰/۵ درصد وزنی/وزنی با استفاده از ویسکومتر چرخشی (Thermo Haake, ViscoTester 7L, Germany) در سرعت برشی ۱۰۰ دور بر دقیقه و در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد با اسپیندل<sup>۱</sup> شماره ۲ ارزیابی شد (Camino et al., 2009).

پس از مدلسازی و بررسی تاثیر متغیرهای مستقل این پژوهش بر تغییرات خصوصیات کیفی هیدروکلوئید، بهینه‌یابی بر اساس دستیابی به بهترین ویژگی‌های عملکردی صورت گرفت. در مرحله ارزیابی کیفی نمونه‌های منتخب و مقایسه آن‌ها با نمونه شاهد، علاوه بر فاکتورهای ذکر شده، مطالعه طیف مادون قرمز، تصویر میکروسکوپ الکترونی و خصوصیات رئولوژیکی دینامیک آن‌ها نیز مورد مطالعه قرار گرفتند. در ادامه به توصیف روش‌های مورد استفاده در این خصوص می‌پردازیم.

### طیف سنجی مادون قرمز<sup>۲</sup>

طیف مادون قرمز نمونه‌های مخلوط و آسیاب شده به نسبت ۱:۱۰۰ با پتاسیم بروماید، با استفاده از دستگاه FTIR (FT/IR-) (6300, Jasco model, Japan) در محدوده فرکانس  $4000-400 \text{ cm}^{-1}$  به دست آمد. دقت عملکرد دستگاه  $4 \text{ cm}^{-1}$  انتخاب شد (Li et al., 2017).

### تصویر میکروسکوپ روبشی<sup>۳</sup>

جهت بررسی ریزساختار نمونه‌ها، مقدار معینی از آنها روی نوار آلومینیمی پراکنده و بعد از پوشش‌دهی با طلا/پالادیوم، عکس‌برداری آنها در پتانسیل ۱۰ کیلو ولت (Zeiss model, Germany) انجام شد (Feng et al., 2017).

### آزمون‌های رئولوژیکی دینامیک (پایا و نوسانی)

محلول‌های صمغ دانه خرنوب (۰/۵ درصد وزنی/وزنی) با پراکنده کردن پودر صمغ در آب مقطر تهیه و به مدت ۲ ساعت در سرعت

۲۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ (Hertolab model, Germany) شد. ماده خشک موجود در فاز رویی محلول پس از خشک کردن در آون (Heraeus, UT505E model, Germany) (دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد) اندازه‌گیری و حلالیت صمغ مطابق رابطه ۱ محاسبه گردید (Samari et al., 2013).

$$\text{رابطه ۱)} \quad \text{میزان ماده خشک موجود در فاز رویی (گرم)} \times 100 = \frac{\text{ماده خشک کل (گرم)}}{\text{درصد حلالیت}}$$

### ارزیابی خصوصیات امولسیون‌کنندگی

امولسیون ۲۰ درصد وزنی/وزنی روغن سویا در محلول‌های ۰/۵ درصد وزنی/وزنی صمغ دانه خرنوب با استفاده از هموژنایزر (شرکت تجهیز صنعت نصر، ایران) با دور ۵۰۰۰ دور بر دقیقه در مدت زمان ۲ دقیقه تهیه شد (Huang et al., 2001).

### توزیع ابعاد ذرات امولسیون

نسبت ابعاد ذرات امولسیون‌های رقیق شده با آب مقطر در مقابل فراوانی آنها با برخورد اشعه لیزر توسط دستگاه (VASCO, France, Particle sizer (CORDOUAN TECHNOLOGIES) اندازه‌گیری شد (Camino et al., 2009).

### ظرفیت امولسیون‌کنندگی و پایداری امولسیون

به‌منظور ارزیابی پایداری امولسیون‌ها، ۱۵ میلی‌لیتر از امولسیون‌های تولید شده توسط سانتریفیوژ (Sigma 6-16K model, Germany) با دور ۱۳۰۰g به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. ظرفیت امولسیون‌کنندگی مطابق معادله ۲ محاسبه گردید (Mishra et al., 2001).

$$100 \times (\text{ارتفاع کل} / \text{ارتفاع امولسیون بعد از سانتریفیوژ}) = \text{ظرفیت امولسیون‌کنندگی و پایداری امولسیون (رابطه ۲)}$$

جهت ارزیابی پایداری امولسیون‌ها، پس از نیم ساعت حرارت‌دهی آنها در حمام آب (WB22 model, Memmert, Germany) ۸۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه و سرد کردن آنها در مخلوط آب و یخ، امولسیون‌ها به مدت ۵ دقیقه (۱۳۰۰g) سانتریفیوژ شدند و پایداری آنها مطابق رابطه ۲ محاسبه گردید (Mishra et al., 2001).

### حداقل غلظت ژل شونده

محلول صمغ دانه خرنوب با غلظت‌های ۰/۸، ۰/۹، ۰/۱۰، ۰/۱۱، ۰/۱۲ و ۰/۱۳ در دمای ۱۰/۰۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه و سرد کردن آنها در مخلوط آب و یخ، امولسیون‌ها به مدت ۵ دقیقه (۱۳۰۰g) سانتریفیوژ شدند و پایداری آنها مطابق رابطه ۲ محاسبه گردید (Mishra et al., 2001).

1- Spindle  
2- FTIR  
3- SEM



خصوصیات امولسیون کنندگی، حداقل غلظت ژل دادن و ویسکوزیته ظاهری در نظر گرفته شدند. ترکیب متغیرهای مستقل در تیمارهای مختلف در **جدول ۱** نمایش داده شده است. برای هر متغیر وابسته مدلی ارائه شد و اثرات اصلی و متقابل متغیرهای مستقل بررسی شد. مقادیر بهینه متغیرهای مستقل بر مبنای تغییرات ایجاد شده در متغیرهای وابسته مدلسازی و درصد خطای مدل‌ها محاسبه گردید. نمونه‌های منتخب و شاهد در قالب طرح کاملاً تصادفی با یکدیگر مقایسه شدند.

### نتایج و بحث pH

مطابق نتایج ارائه شده در **جدول ۲**، تاثیر مثبت دما و تاثیر منفی زمان فرایند بر تغییرات pH نمونه معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) ارزیابی شد. افزایش زمان فراصوت با تشکیل رادیکال‌های آزاد در محلول باعث کاهش pH گردید. درواقع افزایش زمان اعمال امواج فراصوت باعث تشدید فرایند حفره‌زایی و تشکیل رادیکال‌های آزاد می‌گردد. در این راستا، کاهش pH و افزایش ضریب هدایت الکتریکی محلول آمیلوپکتین تیمار شده با امواج فراصوت در مقایسه با نمونه شاهد گزارش شده است (Peres et al., 2015).

۳۰۰ rpm همزده شدند تا کامل هیدراته شوند. محلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت به منظور هیدراتاسیون کامل در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. ارزیابی خصوصیات رئولوژیکی با استفاده از دستگاه رنومتر (Anton Paar GmbH, Physica MCR 301, Austria) انجام شد. درجه حرارت سیستم با سیرکولاسیون آب بر  $25 \pm 0.1$  درجه سانتیگراد تنظیم گردید. رفتار جریان‌ی نمونه‌ها در سرعت برش  $0.1-600$  عکس ثانیه در ۲۵ نقطه و با ۵ ثانیه تأخیر قبل از شروع به کار دستگاه ارزیابی شد. به منظور انجام آزمون روبش فرکانس، ابتدا ناحیه ویسکوالاستیک خطی نمونه در محدوده کرنش  $0.1-100\%$  و فرکانس ثابت ۱ هرتز ارزیابی و سپس در کرنش  $0.1$  و فرکانس  $100-1$  هرتز مدول‌های ذخیره یا الاستیک ( $G'$ ) و افت یا گرانو ( $G''$ ) ثبت گردیدند (Farzi et al., 2011).

### تجزیه و تحلیل آماری

این پژوهش در قالب طرح آماری سطح پاسخ (مربک مرکزی) با ۴ نقطه مرکزی توسط نرم‌افزار دیزاین اکسپرت ورژن ۹ (Design Expert V 9.0) انجام گرفت. متغیرهای مستقل پژوهش، زمان اعمال امواج فراصوت ( $0-90$  دقیقه) و دمای محلول در حین فرایند ( $25-75$  درجه سانتیگراد) و متغیرهای وابسته pH، حلالیت،

جدول ۱- سطوح متغیرهای مستقل در تیمار صمغ دانه خرنوب با استفاده از امواج فراصوت  
Table 1- Levels of independent variables in treatments of Locust bean gum using ultrasonic waves

| Treatment number<br>شماره تیمار | Independent variables<br>متغیرهای مستقل |                         |
|---------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------|
|                                 | Time (min)<br>زمان                      | Temperature (°C)<br>دما |
| 1                               | 45                                      | 50                      |
| 2                               | 75                                      | 33                      |
| 3                               | 90                                      | 50                      |
| 4                               | 45                                      | 25                      |
| 5                               | 45                                      | 50                      |
| 6                               | 0                                       | 50                      |
| 7                               | 45                                      | 50                      |
| 8                               | 45                                      | 75                      |
| 9                               | 45                                      | 50                      |
| 10                              | 45                                      | 33                      |
| 11                              | 15                                      | 33                      |
| 12                              | 75                                      | 67                      |
| 13                              | 15                                      | 67                      |
| Blank<br>(شاهد)                 | 0                                       | 25                      |

## تغییرات حالیت

مطابق مدل درجه دوم ارائه شده که ضرایب آن در جدول ۲ گزارش شده است، افزایش زمان اعمال فراصوت و دمای محلول به ترتیب تاثیر افزایشده و کاهشده معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بر حالیت هیدروکلوئید موردنظر دارد. هرچند افزایش بیشتر زمان اعمال تیمار فراصوت تاثیر معکوس بر حالیت هیدروکلوئید نشان داد. تاثیر متقابل دو فاکتور در شکل ۱ نیز نشان می‌دهد که با افزایش همزمان اعمال فراصوت و افزایش دما خصوصا در زمان‌های بالاتر اعمال امواج، حالیت هیدروکلوئید کاهش می‌یابد. امواج فراصوت با ایجاد انعطاف‌پذیری در زنجیرهای مولکولی، کاهش شعاع و وزن مولکولی پلیمر در محلول، موجبات حالیت بیشتر هیدروکلوئید را فراهم می‌کنند (Peres et al., 2015). افزایش زمان و فرکانس امواج فراصوت می‌تواند موجبات تشکیل پیوندهای کووالانسی بین مولکول‌های کوچک ایجاد شده یا برهمکنش‌های غیر کووالانسی همچون اتصالات الکترواستاتیک را فراهم می‌کند (Feng et al., 2017). از این رو، کاهش حالیت پلی‌مر در زمان‌های بالاتر اعمال امواج فراصوت و دمای بالا می‌تواند به دلیل ایجاد برهمکنش‌های بین مولکولی و درون مولکولی در این هیدروکلوئید باشد. در این راستا دانشمندانی با آرایایی مولکول‌های آلزینات سدیم طی اعمال فرایند فراصوت را گزارش کردند (Feng et al., 2017). در این راستا گزارش شده است که اعمال امواج اولتراسونیک با استفاده از هر دو سیستم پروبی و حمامی بر نشاسته گندم موجبات افزایش حالیت آن را فراهم می‌کند. درحالی‌که افزایش شدت امواج فراصوت درنشاسته سیب زمینی موجب کاهش حالیت خمیر نشاسته آن گردید (Sujka et al., 2013). تفاوت در ساختار پلیمر اصلی، نحوه اعمال امواج و قدرت آنها دلیل اصلی تفاوت در نتایج حاصل شده از پژوهش‌های متعدد است.

## ویسکوزیته

در مدل خطی پیشنهاد شده برای تغییرات ویسکوز، اثر زمان و دمای اعمال فرایند در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار ارزیابی می‌شود (جدول ۲). با افزایش زمان و دما به ترتیب ویسکوزیته محلول پلیمر کاهش و افزایش می‌یابد. این مشاهده به تخریب ساختاری و سپس واکنش بین پلیمرها و مولکول‌های با انرژی زیاد همچون رادیکال‌های هیدروکسیل تولید شده طی حفره‌زایی مربوط می‌شود (Feng et al., 2017). بنابراین افزایش دمای فرایند باعث افزایش قدرت جذب آب صمغ تیمار شده و افزایش ویسکوزیته محلول می‌گردد (شکل ۱). اعمال فرایند در دمای بالا به دلیل کاهش اثر فراصوت بر تخریب بیوپلیمرها و کاهش ویسکوزیته ناشی از کوتاه شدن زنجیره آنها

موجب کاهش اثر فراصوت و افزایش ویسکوزیته صمغ دانه خرنوب می‌گردد. زانگ و همکاران (Zhang et al., 2013) دریافتند که اثر فراصوت بر تخریب پکتین سیب در محدوده دمایی ۵ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد نسبتا یکسان است و با افزایش دما از ۲۵ تا ۴۵ درجه سانتی‌گراد، عملکرد فراصوت بر تخریب مولکول پکتین کاهش می‌یابد. دمای بالا در فرایند فراصوت پیش‌نیازی جهت تشدید حفره‌زایی و ایجاد نیروی برشی قوی در حباب‌ها نیست. افزایش دمای واکنش، حفره‌زایی را در شدت فراصوت پایین‌تری ایجاد می‌کند و ایجاد حفره زایی در شدت فراصوت کمتر از شدت تخریب کمتری برخوردار است. این اتفاق با افزایش فشار بخار محلول حرارت دیده نیز ارتباط دارد. از این رو، به منظور دستیابی به بیشترین شدت حفره‌زایی فراصوت (عملکرد شکست و تخریب)، باید فرایند در دمای پایین صورت گیرد. تخریب پیوندهای گلیکوزیدی زنجیره اصلی و کاهش تجمع مولکولی، دلیل اصلی کاهش ویسکوزیته پلیمر محسوب می‌گردد (Li et al., 2017; Zhang et al., 2013). بررسی منابع نشان می‌دهد، با افزایش زمان اعمال تیمار فراصوت در یک قدرت ثابت، ویسکوزیته ظاهری صمغ کتیرا به تدریج کاهش می‌یابد (Farzi et al., 2011). اعمال امواج فراصوت به مدت ۳۰ دقیقه بر محلول نشاسته حاصل از گندم و سیب‌زمینی پس از ژلاتینه شدن آنها نیز نشان از تاثیر امواج در کاهش چشمگیر ویسکوزیته آنها دارد (Lida et al., 2008; Sujka et al., 2013). نتایج مشابهی توسط دیگر دانشمندان در ارتباط با تاثیر اعمال امواج بر پلیمرهای دیگر همچون کیتوزان و پولولان گزارش شده است (Hosseini et al., 2013; Koda et al., 2011).

## اندازه‌گیری حداقل غلظت ژل دادن

تغییرات متغیر حداقل غلظت ژل‌دهندگی در قالب یک معادله درجه اول که ضرایب آن در جدول ۲ آمده است قابل تفسیر است. خصوصیات ژل‌دهندگی پلیمرها به ترکیبات شیمیایی و وزن مولکولی آنها وابسته است. حداقل غلظت ژل‌دهندگی صمغ دانه خرنوب با افزایش زمان اعمال امواج فراصوت افزایش می‌یابد درحالی‌که با افزایش دما، حداقل غلظت ژل‌دهندگی کاهش یافت. هرچند این تاثیر در دماهای بالاتر کمتر ملاحظه گردید (شکل ۱). به نظر می‌رسد تاثیر زمان و دمای فرایند فراصوت بر تغییرات ویسکوزیته ظاهری و حداقل غلظت ژل‌دهندگی هیدروکلوئید عکس یکدیگر است. درواقع با کاهش ویسکوزیته، حداقل غلظت ژل‌دهندگی افزایش و با افزایش ویسکوزیته حداقل غلظت ژل‌دهندگی هیدروکلوئید کاهش می‌یابد. در دماهای پایین به دلیل تاثیر بیشتر فراصوت، شکست زنجیره صمغ

دانه خرنوب بیشتر و در نتیجه حداقل غلظت ژل دادن کاهش می‌یابد. تیمار فراصوت می‌تواند باعث تضعیف برهمکنش‌های درون مولکولی همچون پیوندهای هیدروژنی و دیگر پیوندهای غیرکوالانسی بین مولکول‌های صمغ در محیط آبی و نیز برهمکنش‌های بین مولکولی زنجیرهای بیوپلیمری شود (Li et al., 2017).

### خصوصیات امولسیون‌کنندگی

در معادله درجه دوم پیشنهاد شده برای بررسی تغییرات ابعاد ذرات امولسیون که نتایج آن در جدول ۲ آمده است تنها اثر دما بر توزیع اندازه ذرات معنی‌دار ارزیابی شده است ( $p > 0.05$ ). ضریب مثبت و معنی‌دار خطی و مجذور دما بر ابعاد ذرات امولسیون نشان از تاثیر افزایش دما حین اعمال امواج فراصوت بر افزایش ابعاد ذرات امولسیون دارد که به دلیل تاثیر این فاکتور در تجمع مولکول‌های هیدروکلوئید موجود در امولسیون است. اگرچه بررسی تاثیر فراصوت بر خصوصیات امولسیون‌کنندگی دیگر هیدروکلوئیدها از جمله هیدروکسی پروپیل متیل سلولز نشان می‌دهد که اندازه ذرات

امولسیون‌های تولید شده با هیدروکلوئیدهای تیمار شده به‌مراتب کوچکتر از صمغ تیمار نشده است ولی تاثیر این فاکتور در پژوهش حاضر غیرمعنی‌دار ارزیابی گردید (Camino et al., 2009). تاثیر متقابل زمان اعمال امواج فراصوت و دمای فرایند تا محدوده متوسط رنج مورد بررسی بر پایداری امولسیون مناسب بود (جدول ۲، شکل ۱). نیروی گرانشی، ابعاد ذرات فاز پراکنده، اختلاف دانسیته فاز روغنی و آبی و ویسکوزیته فاز پیوسته از عواملی است که پایداری امولسیون‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Camino et al., 2009). کاهش ویسکوزیته صمغ دانه خرنوب تیمار شده با امواج فراصوت نیز دلیل اصلی کاهش پایداری امولسیون تولیدی با هیدروکلوئید تیمار شده با امواج فراصوت در زمان‌های طولانی است. نتایج مشابهی از بررسی منایع در این خصوص حاصل شده است. دراین راستا گزارش شده است که اعمال امواج فراصوت خصوصا در شرایط اسیدی، موجبات تغییر در خصوصیات مولکولی و خواص عملکردی کیتوزان را فراهم می‌کند (Chen et al., 1997).

جدول ۲- ضرایب مدل‌های برازش یافته بر ویژگی‌های کیفی صمغ لوکاست تیمار شده با امواج فراصوت

Table 2- Coefficients of developed models on the quality characteristics of treated Locust been gum using ultrasonic waves

| Sources<br>(منابع)                  | Quality characteristics |                          |                                                   |                                                   |                                            |                                                         |                             |
|-------------------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------------------------------|---------------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------------------|-----------------------------|
|                                     | pH                      | Solubility (%)<br>حلالیت | Average particle size (μm)<br>میانگین اندازه ذرات | Emulsifying capacity (%)<br>ظرفیت امولسیون‌کنندگی | Emulsion stability (%)<br>پایداری امولسیون | Minimum gelling concentration (%)<br>حداقل غلظت ژل دادن | Viscosity (cP)<br>ویسکوزیته |
| Constant coefficient<br>(ضریب ثابت) | 5.49                    | 73.88                    | 1.76                                              | 31.15                                             | 26.53                                      | 1.16                                                    | 87.68                       |
| A                                   | -0.045*                 | 4.51*                    | -0.68 <sup>ns</sup>                               | 0.18 <sup>ns</sup>                                | -0.79 <sup>ns</sup>                        | -0.025*                                                 | -6.64*                      |
| B                                   | -0.056*                 | -30.83*                  | 1.33*                                             | -1.86*                                            | -1.90*                                     | -0.016*                                                 | 4.82*                       |
| AB                                  | -                       | -2.22*                   | 1.14 <sup>ns</sup>                                | -0.35 <sup>ns</sup>                               | -2.02*                                     | 0.040*                                                  | -                           |
| A <sup>2</sup>                      | -                       | -1.81*                   | 0.79 <sup>ns</sup>                                | -2.09*                                            | -1.65*                                     | -                                                       | -                           |
| B <sup>2</sup>                      | -                       | -1.04 <sup>ns</sup>      | 1.14*                                             | -2.20*                                            | -1.92*                                     | -                                                       | -                           |
| R <sup>2</sup>                      | 0.7959                  | 0.9481                   | 0.7529                                            | 0.9090                                            | 0.9084                                     | 0.8159                                                  | 0.8410                      |
| Lack of fit<br>(خطای عدم برازش)     | 0.2452 <sup>ns</sup>    | 0.0548 <sup>ns</sup>     | 0.1113 <sup>ns</sup>                              | 0.0855 <sup>ns</sup>                              | 0.1004 <sup>ns</sup>                       | 0.6848 <sup>ns</sup>                                    | 0.0542 <sup>ns</sup>        |

A: زمان

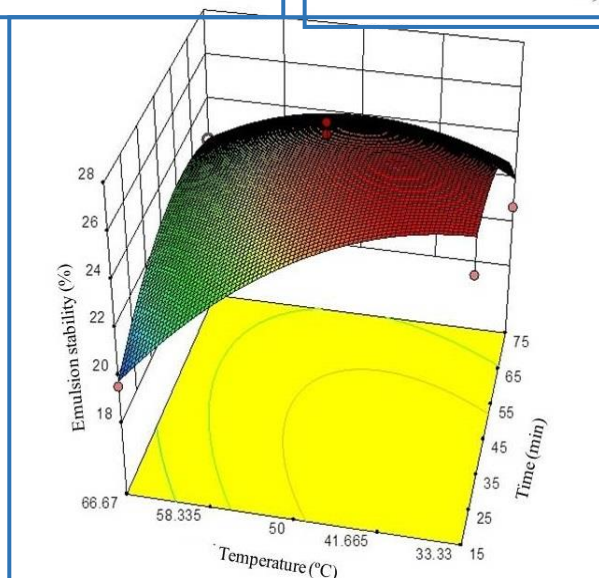
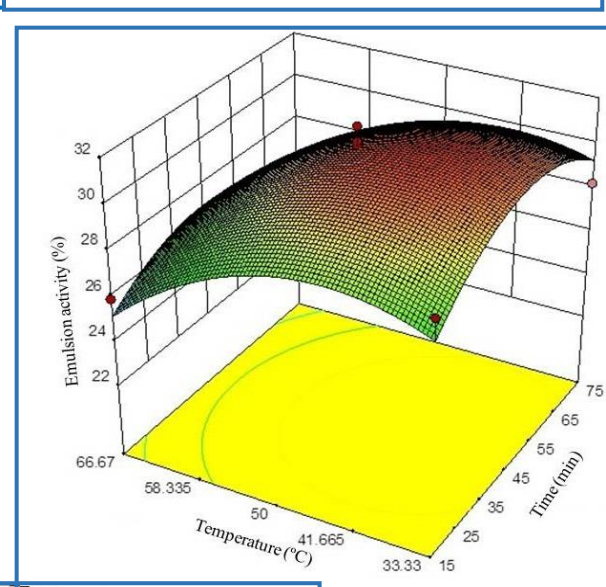
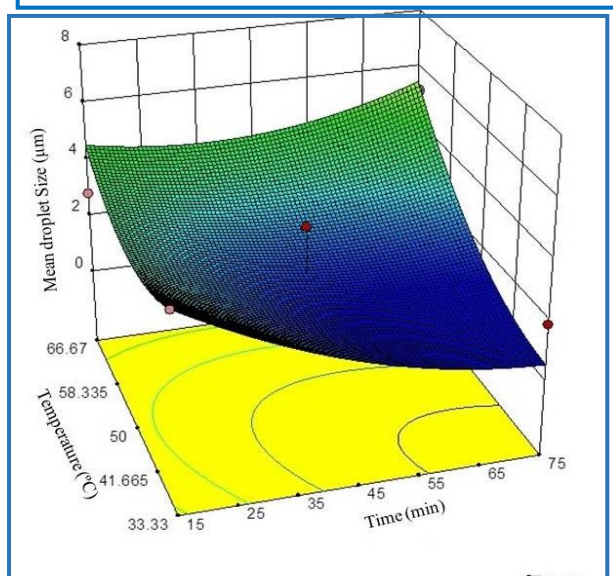
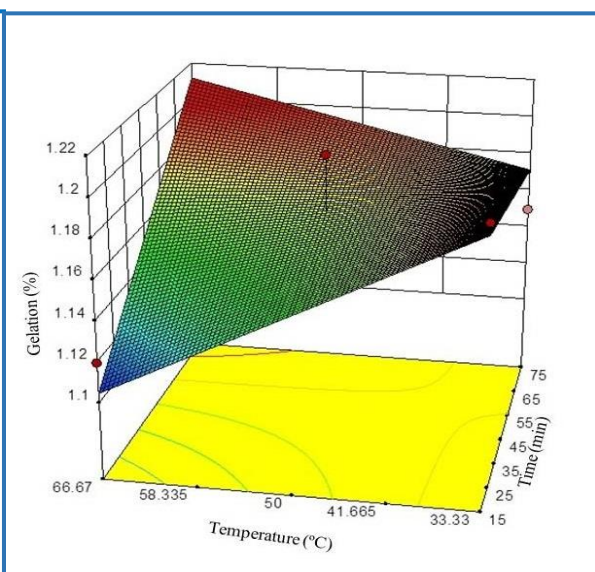
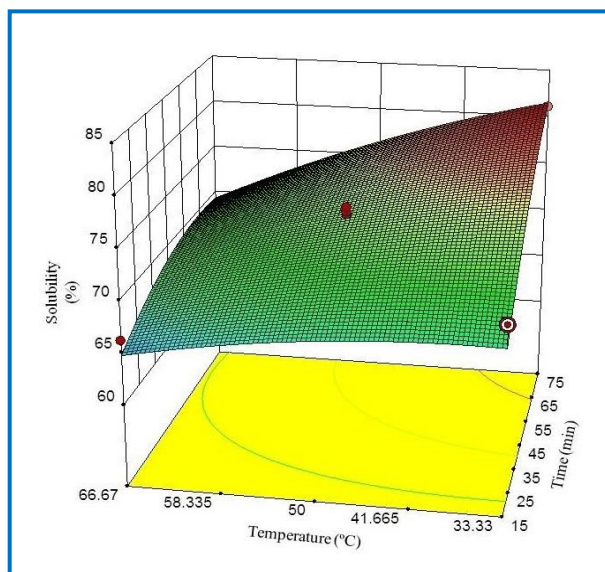
B: دما

\*: معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵ درصد

A: Time

B: Temperature

\*: Significance at the 95% confidence level



شکل ۱- اثر متقابل دما و زمان اعمال امواج فراصوت بر حلالیت، ژله‌ای شدن، میانگین اندازه ذرات، ظرفیت امولسیون کنندگی و پایداری امولسیون  
Fig. 1- Interaction effect of temperature and time of ultrasonic waves on solubility, gelation, average particle size, emulsifying capacity and stability of emulsion

جدول ۳- مقایسه نتایج پیش‌بینی شده و اندازه‌گیری شده در نمونه‌های بهینه

Table 3- Comparison of predicted and measured results of optimum samples

| Parameters<br>پارامترها                                 | Temperature 40 °C-time 48.9 min |                                   | Temperature 66.67 °C-time 15 min  |                              |                                   |                                   |
|---------------------------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|                                                         |                                 | Predicted numbers<br>پیش‌بینی شده | Actual numbers<br>اندازه‌گیری شده | Error percentage<br>درصد خطا | Predicted numbers<br>پیش‌بینی شده | Actual numbers<br>اندازه‌گیری شده |
| Solubility (%)<br>حلالیت                                | 76.50                           | 75.07                             | 1.87                              | 64.80                        | 66.33                             | 2.30                              |
| Emulsifying capacity (%)<br>ظرفیت امولسیون کنندگی       | 31.50                           | 30.66                             | 2.67                              | 25.17                        | 25.92                             | 2.89                              |
| Emulsion stability (%)<br>پایداری امولسیون              | 26.70                           | 26.66                             | 0.15                              | 19.83                        | 19.58                             | 1.27                              |
| Viscosity (cP)<br>ویسکوزیته                             | 83.93                           | 86.30                             | 2.82                              | 99.14                        | 95.00                             | 1.35                              |
| Minimum gelling concentration (%)<br>حداقل غلظت ژل دادن | 1.17                            | 1.25                              | 6.84                              | 1.08                         | 1.15                              | 6.08                              |

### بهینه‌یابی و اعتبارسنجی مدل

بهینه‌یابی شرایط اعمال تیمار با در نظر گرفتن دستیابی به بهترین خصوصیات عملکردی هیدروکلوئید مورد نظر انجام گرفت. بر این اساس دو شرایط متفاوت دمایی و زمانی برای تیمار کردن هیدروکلوئید مورد نظر با استفاده از امواج فراصوت پیشنهاد گردید که در حالت اول معیار انتخاب، دستیابی به بهترین شرایط حلالیت و ویژگی‌های امولسیون کنندگی این هیدروکلوئید و در حالت دوم، ملاک انتخاب شرایط، بهبود حلالیت و خصوصیات امولسیون کنندگی هیدروکلوئید هم‌گام با حفظ ژل شونده‌ی محلول هیدروکلوئید مورد نظر بود. به منظور ارزیابی عملکرد مدل‌های حاصل، تیمار نمونه‌ها در شرایط معرفی شده انجام و با توجه به نتایج آزمایشگاهی حاصل، اعتبارسنجی مدل با استفاده از رابطه ۳ صورت گرفت. شرایط تیمار نمونه‌های بهینه و نتایج واقعی و پیش‌بینی شده و خصوصیات کیفی آنها در **جدول ۳** نمایش داده می‌شود.

رابطه (۳)  $\times 100$  اعداد واقعی/ اعداد پیش‌بینی - اعداد واقعی = درصد اعتبار سنجی

مقایسه میانگین داده‌های مربوط به خصوصیات فیزیکوشیمیایی نمونه‌های بهینه و شاهد در **جدول ۴** گزارش شده است. حلالیت و

فعالیت امولسیون کنندگی نمونه بهینه اول (دمای ۴۰ درجه سانتی گراد و زمان ۴۸/۹ دقیقه) با اختلاف معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) بالاتر از سایر نمونه‌ها ارزیابی شد. در نمونه بهینه دوم نیز (دمای ۶۶/۶۷ درجه سانتی‌گراد و زمان ۱۵ دقیقه) بدون کاهش چشمگیر قدرت ژل دهنده‌ی هیدروکلوئید، حلالیت هیدروکلوئید تیمار شده نسبت نمونه شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. فنگ و همکاران (Feng et al., 2017) در خصوص بازآرایی مولکول‌های هیدروکلوئید از جمله آلرینات سدیم طی فرایند فراصوت گزارش کردند. آنها بیان کردند که پیوندهای کووالانسی بین مولکول‌های کوچک یا برهمکنش‌های غیر کووالانسی همچون الکترواستاتیک با تغییر فرکانس فراصوت، تغییر می‌کند که می‌تواند دلیل بر تغییرات حلالیت مولکول و سایر خواص عملکردی آن در شدت‌های متفاوت اعمال امواج باشد. از طرفی نتایج پژوهش‌های گذشته نشان می‌دهد که اعمال تیمار فراصوت افزایش زمان اعمال امواج می‌تواند باعث کاهش اندازه ذرات بعضی از هیدروکلوئیدها از جمله صمغ کتیرا شود. این اتفاق نشان دهنده ایجاد شدن ذرات با اندازه کوچکتر و محدوده توزیع اندازه ذرات باریک‌تر است. اگرچه در برخی از گونه‌های صمغ کتیرا، بعد از مدت زمانی که از تیمار فراصوت گذشت، اندازه ذرات آن افزایش یافت. به نظر می‌رسد



کشی گروه الکلی اولیه  $\text{CH}_2\text{OH}$  و نوسانات جفتی  $\text{CH}_2$  به ترتیب در  $1064/14$  و  $1024/41 \text{ cm}^{-1}$  قرار دارند. باندهای ضعیف‌تر در محدوده  $872/81$  و  $807/93 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به کشش حلقه و تغییرات حلقه پیوندهای آلفا-دی (۱-۴) و آلفا-دی (۱-۶) هستند (Li et al., 2017). شباهت زیاد بین طیف FTIR صمغ دانه خرنوب معمولی و فراصوت شده نشان می‌دهد که ساختار اولیه و واحدهای صمغ دانه خرنوب تحت تأثیر فراصوت قرار نگرفته است و کلیه پیک‌های مربوط به گروه‌های عاملی صمغ دانه خرنوب با تغییرات اندکی در طول موج در نمونه‌های تیمار شده نیز ظاهر شدند ولی واحد جذب باندهای مشاهده شده در نمونه شاهد بیش از نمونه‌های بهینه است. این مشاهدات نشان‌دهنده تأثیر امواج فراصوت بر شدت پیوندهای بین مولکولی بدون تغییر چشمگیر در ساختار شیمیایی صمغ نهایی است. مشاهدات مشابهی مبنی بر تأثیر ناچیز امواج فراصوت در گروه‌های عاملی صمغ کونجاک توسط دانشمندانی نیز گزارش شده است (Li et al., 2017).

#### تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی

تصاویر ریزساختاری مربوط به صمغ دانه خرنوب معمولی و تیمار فراصوت شده در شکل ۳ نشان داده شده است. تصاویر میکروسکوپی نشان می‌دهد که هر سه نمونه دارای ساختار سه بعدی هستند که جهت جذب آب و افزایش ویسکوزیته محلول ضروری است.

طی فرایند فراصوت، شاخه‌ها در ابتدا تحت تأثیر قرار گرفته و دچار شکست می‌شوند. این اتفاق احتمالاً منجر به شکل‌گیری ستون اصلی بدون شاخه شده که در ادامه می‌تواند در تشکیل توده‌های جدید مؤثر باشد که این توده‌ها می‌توانند توزیع اندازه ذرات را افزایش دهند (Farzi et al., 2011). از این جهت تغییر ساختار هیدروکلوئیدها در اثر اعمال امواج فراصوت، امکان تغییر خصوصیات عملکردی و بهبود آن‌ها در راستای کاربرد موردنظر را فراهم می‌سازد.

بررسی و مقایسه بهتر ویژگی‌های کیفی نمونه‌ها با ارزیابی طیف‌سنجی مادون قرمز، تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی و خصوصیات رئولوژیکی دینامیک دو نمونه بهینه با نمونه شاهد (B) انجام شد.

#### طیف سنجی مادون قرمز

شکل ۲، طیف FTIR نمونه‌های صمغ دانه خرنوب معمولی و تیمار شده با امواج فراصوت را نشان می‌دهد. همانطور که ملاحظه می‌شود تمامی نمونه‌ها پیک‌های جذب مشخصی را نشان می‌دهند. در طیف مادون قرمز نمونه شاهد، باند  $3350/33 \text{ cm}^{-1}$  نشان دهنده نوسان کششی گروه هیدروکسیل ( $\text{OH}$ -) است. باند  $2929/15 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به کشش  $\text{C-H}$  گروه‌های  $\text{CH}_2$  می‌باشد. باند مربوط به کشش حلقه گالاکتوز و مانوز در  $1641/72 \text{ cm}^{-1}$  ظاهر شد. به علاوه، باندهای ناحیه  $1450-1350 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به تغییرات خمشی گروه‌های  $\text{CH}_2$  و  $\text{COH}$  است. باندهای مربوط به حرکت

جدول ۴- مقایسه میانگین خصوصیات فیزیکوشیمیایی نمونه‌های بهینه و شاهد

Table 4- Mean comparison of physicochemical properties of optimum and control samples

| Parameters<br>پارامترها                                    | Optimum 1<br>بهینه ۱     | Optimum 2<br>بهینه ۲     | Blank<br>شاهد             |
|------------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Solubility (%)<br>حلالیت                                   | 75.07 <sup>a</sup> ±1.41 | 66.30 <sup>b</sup> ±1.13 | 57.85 <sup>c</sup> ±2.83  |
| Emulsifying capacity (%)<br>ظرفیت امولسیون‌کنندگی          | 30.66 <sup>a</sup> ±0.71 | 25.92 <sup>b</sup> ±1.41 | 27.48 <sup>ab</sup> ±1.98 |
| Emulsion stability (%)<br>پایداری امولسیون                 | 26.66 <sup>a</sup> ±1.00 | 19.58 <sup>b</sup> ±1.41 | 26.92 <sup>a</sup> ±2.69  |
| Viscosity (cP)<br>ویسکوزیته                                | 86.03 <sup>c</sup> ±1.41 | 95.00 <sup>b</sup> ±2.83 | 111.00 <sup>a</sup> ±1.41 |
| Minimum gelling<br>concentration (%)<br>حداقل غلظت ژل دادن | 1.25 <sup>a</sup> ±0.01  | 1.15 <sup>b</sup> ±0.01  | 1.05 <sup>b</sup> ±0.01   |

- حروف غیر مشترک در هر ردیف، نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

- بهینه ۱: صمغ تیمار شده با امواج اولتراسونیک در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و زمان ۴۸/۹ دقیقه

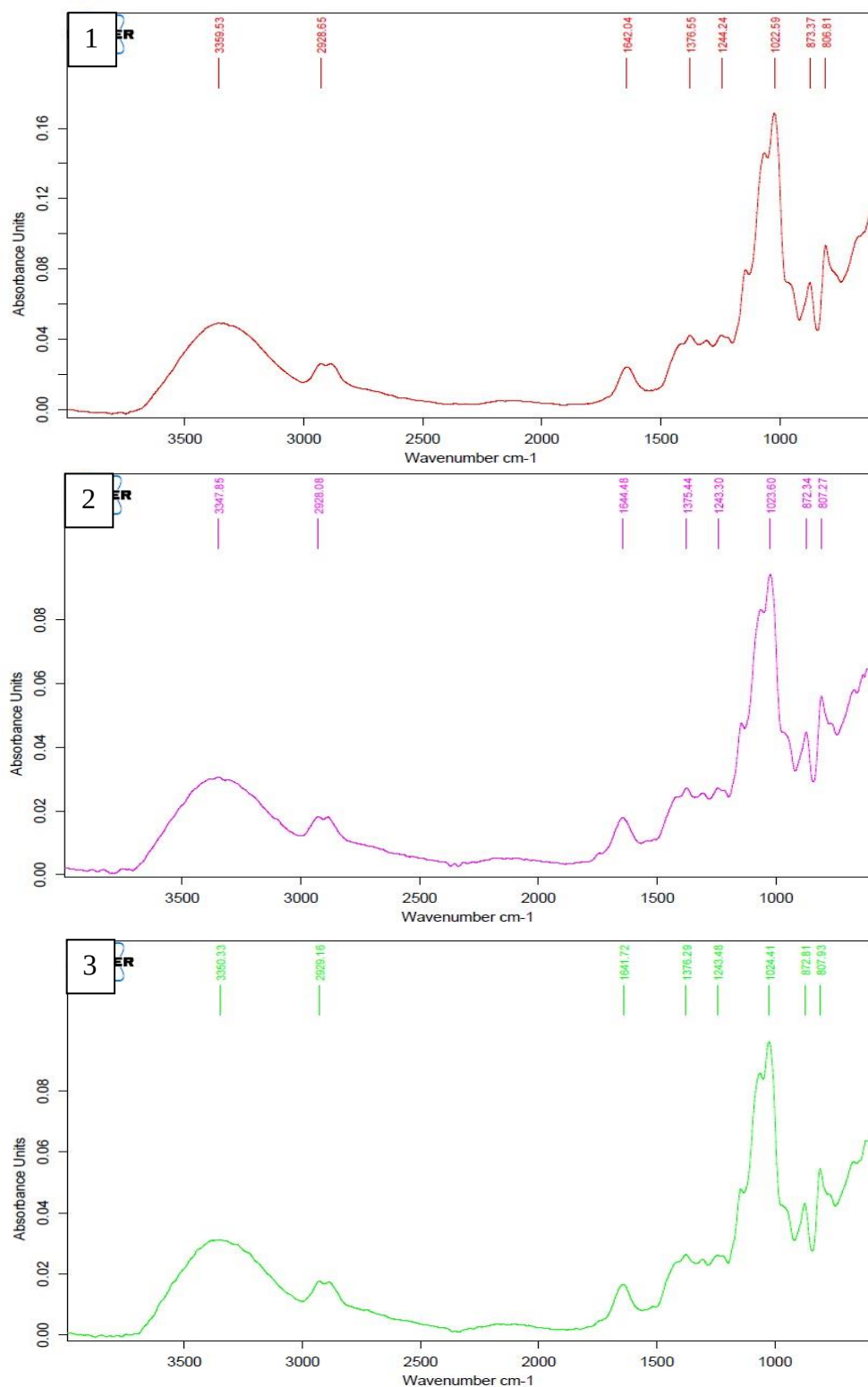
- بهینه ۲: صمغ تیمار شده با امواج اولتراسونیک در دما ۶۶/۶۷ درجه سانتی‌گراد و زمان ۱۵ دقیقه

- Non-common letters in each row indicate a significant difference at the 0.05 level.

- Optimum 1: gum treated with ultrasonic waves at a temperature of 40 °C and a time of 48.9 min.

- Optimum 2: gum treated with ultrasonic waves at a temperature of 66.67°C and a time of 15 min.

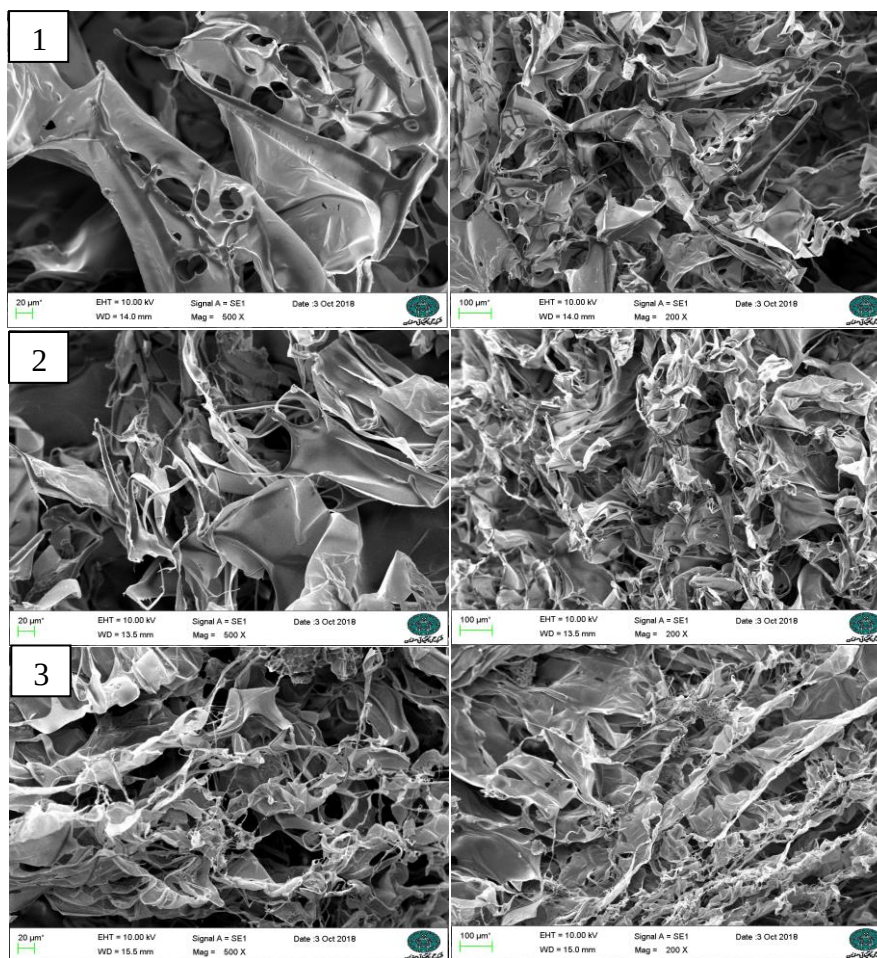




شکل ۲- طیف‌سنجی مادون قرمز نمونه‌های صمغ دانه خرنوب فراصوت شده در شرایط بهینه و نمونه شاهد

(۱- شاهد، ۲- زمان ۱۵ دقیقه و دمای ۶۶ درجه سانتی گراد، ۳- زمان ۴۸٫۹ دقیقه، دما ۴۰ درجه سانتی گراد)

Fig. 2- FTIR spectra of ultrasonicated locust bean gum in optimum and control samples  
(1. blank; 2. time: 15 min, temperature: 66.6 °C; 3. time: 48.9, temperature: 40 °C)



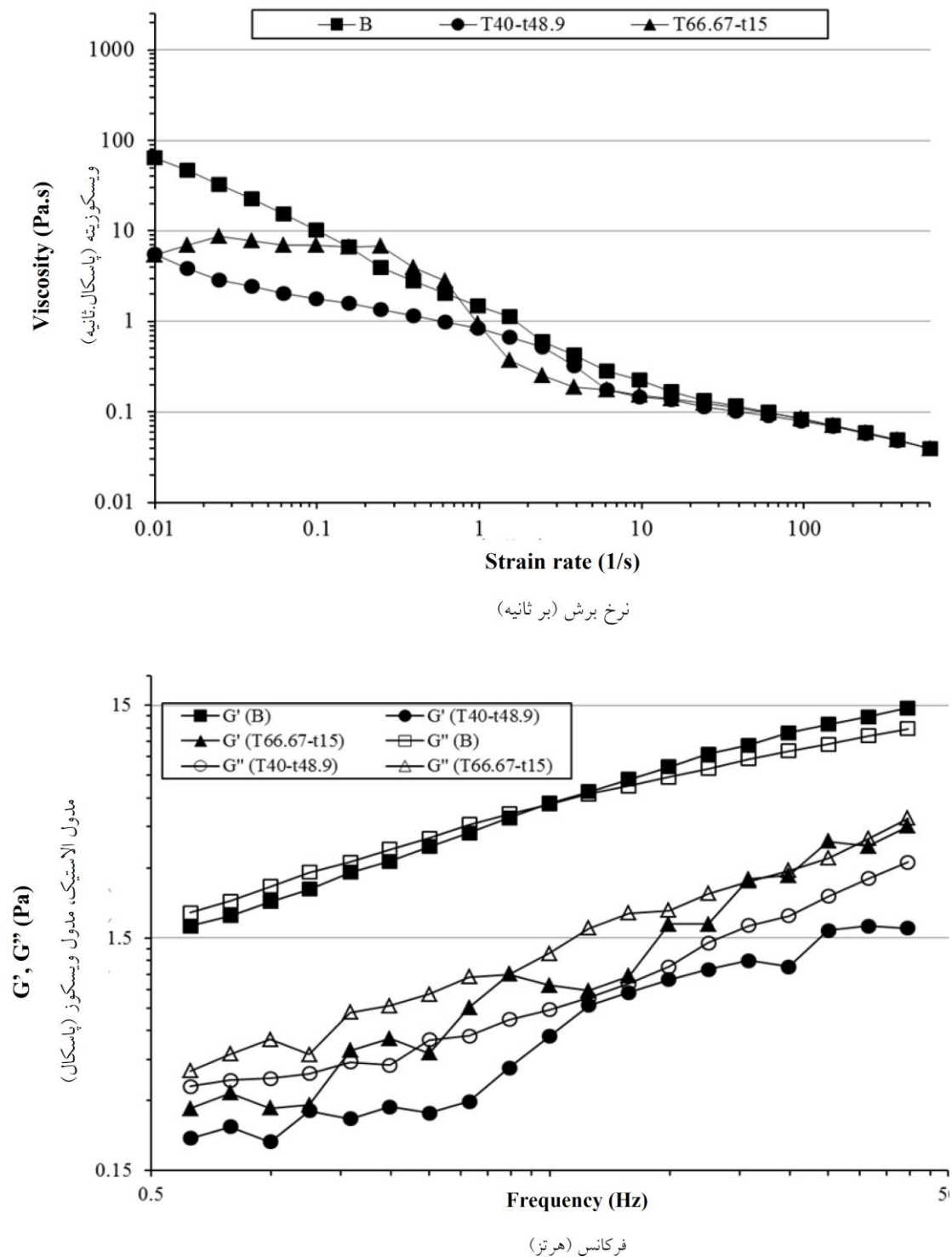
شکل ۳- تصویر میکروسکوپی از نمونه‌های صمغ دانه خرنوب فراصوت شده

(ستون سمت راست بزرگنمایی  $\times 200$  و ستون چپ بزرگنمایی  $\times 500$ ) ردیف اول و دوم و سوم به ترتیب (۱- زمان ۴۸/۹ دقیقه، دما ۴۰ درجه سانتی‌گراد، ۲- زمان ۱۵ دقیقه و دمای ۶۶/۶ درجه سانتی‌گراد و ۳- شاهد) هستند.

**Fig. 3- SEM micrographs of ultrasonicated locust bean gum samples**  
(Magnification 200 $\times$  at right column and magnification 500 $\times$  at left column) (1: Time: 48.9 min, temperature: 40 °C, 2: Time: 15 min, temperature: 66.67 °C, 3: blank)

توجه است که در نمونه‌های فراصوت شده منافذی در ساختار صمغ مشاهده می‌گردد که می‌تواند موجب افزایش حلالیت صمغ تیمار شده با فراصوت گردد. مطالعات دیگر انجام شده در خصوص بررسی تاثیر فراصوت بر ویژگی‌های کیفی هیدروکلوئیدهای دیگر نتایج مشابهی را نشان می‌دهد. توده‌های بزرگی از هیدروکسی پروپیل متیل سلولز طی مجاورت با امواج فراصوت تشکیل گردید که این مشاهده ناشی از وجود بخش‌های هیدروفوبیک در ساختار این صمغ است که باعث اتصالات سریع آن پس از فرایند می‌شود (Camino et al., 2009). در نشاسته سیب‌زمینی نیز اعمال امواج فراصوت، ایجاد ترک‌خوردگی و فرورفتگی‌هایی را در سطح گرانول‌ها ایجاد می‌کند (Sujka et al., 2013).

مطابق شکل ۳، فراصوت موجب درشت‌تر شدن ساختار سه بعدی صمغ دانه خرنوب شده است. ریزترین ساختار سه‌بعدی در نمونه شاهد و درشت‌ترین ساختار در صمغ دانه خرنوب تیمار شده به مدت ۴۸/۹ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد مشاهده می‌گردد. از این‌رو، فراصوت باعث توده‌ای شدن صمغ دانه خرنوب خشک‌شده به طریق انجمادی گردید. این مشاهده ناشی از وجود بخش‌های هیدروفوبیک در ساختار این صمغ است که باعث اتصالات سریع آن پس از فرایند می‌شود (Camino et al., 2009). بررسی خصوصیات فیزیکی و ارزیابی تصاویر میکروسکوپی صمغ دانه خرنوب ایرانی در مطالعات گذشته نشان داد که این صمغ توانایی پراکنده شدن در آب و تشکیل شبکه سه بعدی به منظور به دام انداختن مولکول‌های آب و افزایش ویسکوزیته محلول را دارد (Darab zadeh et al., 2010).



شکل ۴- خصوصیات رئولوژیکی محلول صمغ دانه خرنوب (غلظت ۰/۵٪ وزنی/وزنی) شاهد و تیمار شده در شرایط بهینه با امواج اولتراسونیک  
Fig. 4- Rheological properties of locust bean gum (0.5% w/w) solution in the control and the treated samples under optimum conditions using ultrasonic waves

## آزمون‌های رئولوژیکی دینامیک (پایا و نوسانی)

با توجه به شکل ۴، نمودارهای رفتار جریانی نمونه‌های فراصوت شده و نمونه شاهد نشان داد که ویسکوزیته تمام نمونه‌ها با افزایش تنش برشی کاهش می‌یابد که نشان‌دهنده رفتار رقیق‌شوندگی با برش آنهاست. در نرخ‌های برشی پایین (حدود ۰/۰۱ بر ثانیه)، ویسکوزیته نمونه شاهد در مقایسه با نمونه‌های فراصوت شده بیشتر است. اما در نرخ برشی بالا (حدود ۴۰ بر ثانیه)، ویسکوزیته سه نمونه اختلاف ناچیزی باهم دارند و تقریباً باهم مشابهند. این مشاهده بیانگر تاثیرپذیری بیشتر نمونه شاهد در مقایسه با نمونه‌های تیمار شده به تنش برشی اعمال شده بر آنهاست. مقایسه رفتار دو نمونه فراصوت شده با هم نیز نشان می‌دهد که در بیشتر محدوده برشی مورد بررسی، ویسکوزیته نمونه تیمار شده در دمای ۶۷ به مدت ۱۵ دقیقه بیش از نمونه دیگر است.

با توجه به شکل ۴، مدول الاستیک ( $G'$ ) و ویسکوز ( $G''$ ) نمونه‌های تیمار شده در مقایسه با نمونه شاهد کم‌تر است. همچنین، منحنی روبش فرکانس نمونه‌ها نشان می‌دهد که در محدوده فرکانس مورد بررسی،  $G'$  و  $G''$  به فرکانس وابسته هستند و با افزایش فرکانس، میزان این دو پارامتر افزایش می‌یابد. این مشاهده نشان‌دهنده تاثیرپذیری خصوصیات رئولوژیکی نمونه‌ها به تغییرات فرکانس است که عموماً در سوسپانسیون‌ها ملاحظه می‌شود. در فرکانس‌های پایین، غلبه رفتار ویسکوز بر الاستیک در هر سه نمونه شاهد و فراصوت شده ( $G'' > G'$ ) ملاحظه می‌شود و این ویژگی در نمونه‌های تیمار شده نسبت به شاهد بیشتر است. مدول الاستیک و ویسکوز نمونه تیمار شده به مدت ۴۹ دقیقه کمتر از نمونه فراصوت دیده به مدت ۱۵ دقیقه است که نشان از تأثیر اعمال فراصوت در شکست ساختاری هیدروکلوئید و تأثیر آن بر تضعیف خصوصیات رئولوژیکی هیدروکلوئید دارد.

در نمونه شاهد در حدود فرکانس ۵ هرتز، مدول  $G'$  و  $G''$  با هم تلاقی می‌کند و پس از آن رفتار جامد ویسکوالاستیک مشاهده می‌شود. تلاقی مدول الاستیک و ویسکوز در نمونه‌های تیمار شده نیز مشاهده می‌شود. هرچند تغییر رفتار رئولوژیکی نمونه‌ها چندان محسوس نیست، به طور کلی خصوصیات رئولوژیکی به استحکام پیوندهای بین مولکولی و شکل مولکول در حالت محلول بستگی دارد. ویسکوزیته با برهمکنش‌های پیچیده حلال-مولکول در ارتباط است. اندازه، شکل و نیز انعطاف‌پذیری مولکولی پلیمر هم از اهمیت ویژه‌ای در این خصوص برخوردار است (Feng et al., 2017). بررسی منابع نشان می‌دهد که مشابه نتایج به دست آمده در این پژوهش، کاهش اندیس قوام هیدروکلوئیدهای گوار، پکتین و زانتان و مشاهده رفتار نیوتنی در آنها با افزایش شدت امواج فراصوت توسط تیواری و

همکاران (Tiwarei et al., 2010) گزارش شده است. نتایج مشابهی برای پکتین سیب فراصوت شده نیز مشاهده گردید (Tiwarei et al., 2010)

## نتیجه‌گیری

تیمار فراصوت جزء فرایندهای نسبتاً محسوب می‌شود و کاربردهای متنوعی در صنایع مختلف از جمله صنعت غذا دارد. در این پژوهش تأثیر زمان اعمال امواج فراصوت و دمای فرایند بر خصوصیات عملکردی صمغ دانه خرنوب مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که امواج فراصوت تأثیر چشمگیری بر ویژگی‌های فیزیکی این هیدروکلوئید دارد. با افزایش زمان اعمال تیمار فراصوت، pH و ویسکوزیته محلول هیدروکلوئید کاهش و حلالیت آن افزایش می‌یابد. درحالی‌که، با افزایش دمای فرایند pH، ویسکوزیته و میانگین اندازه ذرات امولسیون حاصل از صمغ دانه خرنوب افزایش و حلالیت هیدروکلوئید کاهش می‌یابد. پس از مدلسازی متغیرهای مورد نظر، با در نظر گرفتن دستیابی به ویژگی‌های عملکردی بهتر، دو شرایط دمایی و زمانی متفاوت به عنوان شرایط بهینه جهت تیمار نمونه‌ها معرفی شدند. حلالیت و فعالیت امولسیون‌کنندگی نمونه بهینه اول (فراصوت شده در ۴۰ درجه سانتیگراد به مدت زمان ۴۸/۹ دقیقه) با اختلاف معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) بالاتر از سایر نمونه‌ها ارزیابی شد و افزایش ۲۹/۷ درصد و ۱۱/۵ درصد نسبت به نمونه شاهد نشان داد. نمونه تیمار شده در شرایط بهینه دوم (دمای ۶۶/۶۷ درجه سانتی‌گراد و زمان ۱۵ دقیقه) نیز بدون کاهش چشمگیر قدرت ژل‌دهندگی هیدروکلوئید، نسبت نمونه شاهد، افزایش حلالیت ۱۴/۶ درصدی نشان داد. تعدد و نوع پیک طیف مادون قرمز نمونه‌های شاهد و تیمار شده تفاوت چندانی باهم نشان نمی‌دهند. درحالی‌که بررسی تصاویر میکروسکوپی نشان از ایجاد منافذ در ساختار توده‌ای شده صمغ دانه خرنوب تیمار فراصوت شده دارد که قطعاً بر خصوصیات عملکردی آن تاثیرگذار است. ارزیابی رفتار رئولوژیکی نمونه‌ها نشان از رفتار سودوپلاستیک محلول صمغ دانه خرنوب داشت و نمونه‌های تیمار شده در سرعت‌های برشی پایین ویسکوزیته ظاهری کمتری در مقایسه با نمونه شاهد نشان دادند، درحالی‌که در سرعت‌های برشی بالاتر تفاوت چندانی در ویسکوزیته نمونه‌ها مشاهده نشد. در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که امواج فراصوت به‌خوبی امکان تغییر خصوصیات فیزیکی و عملکردی صمغ دانه خرنوب را فراهم می‌کند. امکان بهبود چشمگیر حلالیت و فعالیت امولسیون‌کنندگی این هیدروکلوئید با استفاده از امواج فراصوت فراهم است. لذا، تعیین شرایط تیمار کردن نمونه با توجه به کاربرد مورد نظر ضرورت دارد.



## منابع

1. Barak, S., & Mudgil, D. (2014). Locust bean gum: processing, properties and food applications-a review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 66, 74-80. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.02.017>
2. Camino, N.A., Pérez, O.E., & Pilosof, A.M. (2009). Molecular and functional modification of hydroxypropylmethylcellulose by high-intensity ultrasound. *Food Hydrocolloids*, 23, 1089-1095. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.08.015>
3. Chen, R.H., Chang, J.R., & Shyr, J.S. (1997). Effects of ultrasound conditions and storage in acidic solutions on changes in molecular weight and polydispersity of treated chitosan. *Carbohydrate Research*, 299, 287-294. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(97\)00019-0](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(97)00019-0)
4. Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17, 25-39. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(01\)00120-5](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00120-5)
5. Dickinson, E. (2009). Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Food Hydrocolloids*, 23, 1473-1482. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.08.005>
6. Darab Zadeh, N., & Farahnaki, A. (2010). *The comparison of physicochemical and rheological properties between Iranian and commercial carob bean gum*. In proceedings of 19<sup>th</sup> National Congress on Food Science and Technology, 12- 13 Nov., Tehran University, Tehran-Iran.
7. Farzi, M., Saffari, M.M., Emam- Djomeh, Z., & Mohammadifar, M.A. (2011). Effect of ultrasonic treatment on the rheological properties and particle size of gum tragacanth dispersions from different species. *International Journal of Food Science & Technology*, 46, 849-854. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02558.x>
8. Feng, L., Cao, Y., Xu, D., Wang, S., & Zhang, J. (2017). Molecular weight distribution, rheological property and structural changes of sodium alginate induced by ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 609-615. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.038>
9. Huang, X., Kakuda, Y., & Cui, W. (2001). Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. *Food Hydrocolloids*, 15, 533-542. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(01\)00091-1](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00091-1)
10. Hosseini, S.M.H., Emam-Djomeh, Z., Razavi, S.H., & Moosavi-Movahedi, A.A. (2013). Beta-Lactoglobuline-sodium alginate interaction as affected by polysaccharide depolymerization using high intensity ultrasound. *Food Hydrocolloids*, 32, 235-244. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.01.002>
11. Koda, S., Taguchi, K., & Futamura, K. (2011). Effects of frequency and a radical scavenger on ultrasonic degradation of watersoluble polymers. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18, 276-281. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.06.007>
12. Li, J., Li, B., Geng, P., Song, A.X., & Wu, J.Y. (2017). Ultrasonic degradation kinetics and rheological profiles of a food polysaccharide (konjac glucomannan) in water. *Food Hydrocolloids*, 70, 14-19. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.03.022>
13. Iida, Y., Tuziuti, T., Yasui, K., Towata, A., & Kozuka, T. (2008). Control of viscosity in starch and polysaccharide solutions with ultrasound after gelatinization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9, 140-146. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.03.029>
14. Mason, T.J., Paniwnyk, L., & Lorimer, J.P. (1996). The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 3, 253-260. [https://doi.org/10.1016/S1350-4177\(96\)00034-X](https://doi.org/10.1016/S1350-4177(96)00034-X)
15. Mishra, S., Mann, B., & Joshi, V.K. (2001). Functional improvement of whey protein concentrate on interaction with pectin. *Food Hydrocolloids*, 15, 9-15. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(00\)00043-6](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(00)00043-6)
16. Peres, G.L., Leite, D.C., & Silveira, N.P.D. (2015). Ultrasound effect on molecular weight reduction of amylopectin. *Starch- Stärke*, 67, 407-414. <https://doi.org/10.1002/star.201400230>
17. Prajapat, A.L., & Gogate, P.R. (2015). Depolymerization of guar gum solution using different approaches based on ultrasound and microwave irradiations. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 88, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2014.11.018>
18. Razavi, S.M.A., Bostan, A., Niknia, S., & Razmkhah, S. (2011). Functional properties of hydrocolloid extracted from selected domestic Iranian seeds. *Journal of Food Research*, 21(3), 379-389.
19. Samari Khalaj, M., & Abbasi, S. (2014). Influence of chemical modification on solubility of insoluble fraction of Persian gum. *Research and Innovation in Food Science and Technology*, 3(2), 171-184. <https://doi.org/10.22101/JRIFST.2014.08.23.326>
20. Sujka, M., & Jamroz, J. (2013). Ultrasound-treated starch: SEM and TEM imaging, and functional behaviour. *Food Hydrocolloid*, 31, 413-419. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.11.027>
21. Tiwari, B.K., Mthkmarappan, K., O'Donnell, C.P., & Cllen, P.J. (2010). Rheological Properties of Sonicated Guar, Xanthan and Pectin Dispersions. *International Journal of Food Properties*, 13, 223-233. <https://doi.org/10.1080/10942910802317610>

22. Wang, Z.M., Cheung, Y.C., Leung, P.H., & Wu, J.Y. (2010). Ultrasonic treatment for improved solution properties of a high-molecular weight exopolysaccharide produced by a medicinal fungus. *Bioresource Technology*, 101, 5517-5522. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.134>
23. Wang, Z., Han, F., Sui, X., Qi, B., Yang, Y., Zhang, H., & Jiang, L. (2016). Effect of ultrasound treatment on the wet heating Maillard reaction between mung bean [*Vigna radiate* (L.)] protein isolates and glucose and on structural and physico- chemical properties of conjugates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(5), 1532-1540. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7255>
24. Zhang, L., Xingqian, Y., Sophia, J.X., Xianzhong, Z., Donghong, L., Ruifeng, M., & Shiguo, C. (2013). Effect of high-intensity ultrasound on the physicochemical properties and nanostructure of citrus pectin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(8), 2028-2036. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6011>





## Investigation of the Impact of Gallic Acid, Methyl Gallate and their Combination on the Oxidative Stability of Frying Oli

M. Hosseinkhani Abadchi<sup>1</sup>, R. Farhoosh<sup>2\*</sup>

Received: 2022.02.04

Revised: 2022.04.17

Accepted: 2022.04.26

Available Online: 2022.05.15

### How to cite this article:

Hosseinkhani Abadchi, M., & Farhoosh, R. (2023). Investigation of the Impact of Gallic Acid, Methyl Gallate and their Combination on the Oxidative Stability of Frying Oli. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 19(2), 383-397. (In Persian with English abstract). <http://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.75114.1144>

### Introduction

Thermal process is the most prominent option for treating foods. During the heat treatment, food nutrients response simultaneously but adversely under pH, temperature, moisture, and other provided conditions. It might result in an irreversible transformation of composition and structure that influences oxidative stability and sensory properties. The use of antioxidants is one of the most common methods to prevent edible oils oxidation. Safety concerns of synthetic antioxidants including tert-butylhydroquinone (TBHQ) as food additives have led to increasing demands for natural ones. Phenolic compounds such as Gallic Acid (GA) and Methyl Gallate (MG) represent to possess markedly high activity to scavenge free radicals which are among the most powerful natural sources of oxidative inhibitors in foods. Apart from their antioxidant activity, GA and MG also exhibit multiple biological characteristics such as anti-atherogenic, anti-spasmodic, and anti-microbial activities. This study aimed to investigate the oxidative stability of the in-use sunflower (S) and palm (P) oils as affected by the GA, MG, (GA+MG), and TBHQ to clarify their antioxidant behavior.

### Materials and Methods

Antioxidants Gallic acid, Methyl gallate and TBHQ (Purity>98%) were purchased from Sigma Aldrich, USA. All solvents and chemicals were provided from Merck, Germany and Sigma Aldrich, USA with analytical grade. Antioxidant-free sunflower and palm oil were prepared from Three Goals factory, Neyshabur, and potatoes (Agria variety) from Fariman region, Khorasan Razavi.

### Results and Discussion

Chemical changes, oxidative stability and quality indices of the in-use sunflower oil (S) and palm (P) (65:35 w.t. %) were evaluated during 8-hour heat treatment at 180 °C through GA, MG, GA/MG (25:75, 50:50 and 25:75) and TBHQ. All experiments were carried out in quadruplicate, and data were subjected to analysis of variance (One-way-ANOVA). Mean data were compared based on Duncan's multiple range test at 5% level ( $p < 0.05$ ). Observations of the chemical properties showed that sample S mainly contained Linoleic fatty acid (61.53%) and Oleic acid (25.50%) and for sample P, Oleic acid (41.90%) and the saturated long-chain fatty acid of Palmitic acid (38.9%). Also, the total phenolic content (TPC) and tocopherol (TTC) of sample P were 53.12 and 185( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ), respectively, and sample S were 36.01 and 490 ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ). The results of oxidation stability test were analyzed based on Carbonyl value (CV), Conjugated diene value (CDV) and acidity (FFA) parameters. According to our findings, all parameters increased significantly at different

1 and 2 -M.Sc Graduated Student and Professor, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran, respectively.

(\* - Corresponding Author Email: [rfarhoosh@um.ac.ir](mailto:rfarhoosh@um.ac.ir))

DOI: [10.22067/ifstrj.2022.75114.1144](http://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.75114.1144)

speeds during the heat treatment ( $p < 0.05$ ). Moreover, the oxidative stability of the in-use oil was significantly promoted by the antioxidants added, meaning that the control treatment and the treatment containing synthetic antioxidant TBHQ had the highest and lowest FFA%, respectively. The CDV of the antioxidant-free treatment was reduced by 68.6% in the presence of GA75+MG25. In addition, the CV change rate of the antioxidant-free sample in the presence of TBHQ was reduced by 70.2%. It was concluded that the natural antioxidants were capable of being competed with TBHQ antioxidants.

## Conclusion

The results of this study showed that the heat treatment affected the nutritional value, quality indexes and chemical structure of the treatments, decreasing the quality and stability of the oil. As observed, all FFA, CDV and CV parameters increased significantly at different speeds during 8-hour frying process. The analysis also indicated that the oxidative stability of the treatments increased at the presence of antioxidants during the heat treatment at 180 °C. Thus, the control treatment and the treatment containing synthetic antioxidant TBHQ had the highest and lowest acidity, respectively. Also, the CDV of the antioxidant-free treatment decreased by 68.6% in the presence of GA75+ MG25. In addition, the rate of CV changes was declined by 70.2% through the TBHQ. The results indicated the key role of this synthetic antioxidant in preventing the formation of secondary compounds in the advanced stages of oxidation.

It is evident that most synthetic antioxidants are volatile and heat sensitive. Furthermore, there are some limitations in applying TBHQ to promote oxidative stability of food products due to its toxic potential. Evidences have also been reported on the mutation caused by the synthetic antioxidant TBHQ in the living organism's body. Compared to synthetic antioxidants, natural polyphenolic antioxidants such as MG and GA which widely distribute in plants mainly have antioxidative properties. Compared to GA and MG, GA+MG antioxidants have a longer induction period and higher oxidative stability. Promoting oxidative stability with such an arrangement of antioxidants is a good option in taking advantage of this class of natural antioxidants. According to the results of this study, it can be inferred that with a slight increase in natural antioxidants levels, we might be able to obtain the oxidative stability level comparable to the behavior of synthetic antioxidant TBHQ. Of course, it is worth noting that the addition of natural antioxidants to food such as edible oils should also be done according to national and international standards.

**Keywords:** Carbonyl value, Conjugated diene value, Gallic acid, Fatty acids, Methyl gallate, Oxidative stability, TBHQ

## مقاله پژوهشی

# بررسی تاثیر اسید گالیک، متیل گالات و ترکیب آنها بر پایداری اکسایشی روغن طی فرآیند سرخ کردن

مائده حسینیخانی آبادچی<sup>۱</sup> - رضا فرهوش<sup>۲\*</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۱۵

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۱/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۰۶

## چکیده

تغییرات شیمیایی، پایداری اکسایشی و شاخص‌های کیفی نمونه ترکیبی روغن آفتابگردان (SO) و نخل (PO) (PO: ۳۵ SO: ۶۵ وزنی/وزنی) در دمای ۱۸۰°C طی تیمار حرارتی ۸ ساعته در حضور آنتی‌اکسیدان‌های اسید گالیک (GA)، متیل گالات (MG)، ترکیب GA+MG (۷۵:۲۵، ۵۰:۵۰ و ۲۵:۷۵) و ترسیوبوتیل هیدروکینون (TBHQ) مورد بررسی قرار گرفت. میانگین داده‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد ( $p < 0.05$ ) مقایسه شدند. بررسی خواص شیمیایی نشان داد ساختار اسیدهای چرب SO عمدتاً حاوی اسید چرب لینولئیک (۶۱/۵۳ درصد) و اولئیک (۲۵/۵۰ درصد) و برای PO اولئیک (۴۱/۹۰) و پالمیتیک (۳۸/۹) می‌باشد؛ همچنین، محتوی کل ترکیبات فنولی (TPC) و توکوفرولی (TTC) نمونه PO به ترتیب ۵۳/۱۲ و ۱۸۵ و نمونه SO برابر با ۳۶/۰۱ و ۴۹۰ ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) بدست آمد. نتایج آزمون پایداری اکسایشی مبنی بر پارامترهای عدد کربونیل (CV)، عدد دی‌ان مزدوج (CDV) و اسیدیت (FFA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. طبق یافته‌ها، تمامی پارامترهای CV، CDV و FFA طی فرآیند سرخ کردن با گذشت زمان با سرعت‌های متفاوت به طور معناداری افزایش یافتند ( $p < 0.05$ ). همچنین، رابطه معناداری بین ۷ تیمار مشاهده شد؛ بدین‌صورت که تیمار شاهد و تیمار حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ به‌ترتیب دارای بیشترین و کمترین میزان اسیدیت بودند. همچنین، محتوی CDV روغن مورد آزمون بدون آنتی‌اکسیدان در حضور GA75+MG25 به اندازه ۶۸/۶ درصد کاهش یافت. علاوه‌براین، سرعت تغییر CV روغن مورد آزمون بدون آنتی‌اکسیدان در حضور TBHQ به اندازه ۷۰/۲ درصد کاهش یافت. در نتیجه، افزودن جزئی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌تواند عملکردی رقابتی با آنتی‌اکسیدان TBHQ داشته باشد.

**واژه‌های کلیدی:** اسید گالیک، اسیدهای چرب، پایداری اکسایشی، عدد دی‌ان مزدوج، عدد کربونیل، متیل گالات، TBHQ

## مقدمه

فرآیند ارزان و سریع انتقال همزمان حرارت، جرم و مومنت<sup>۴</sup> همراه با فعل و انفعالات پیچیده بین ماده غذایی و روغن می‌باشد؛ بدین‌گونه که گرما از روغن به ماده غذایی منتقل شده و منجر به انتقال جرم (تبخیر رطوبت سطحی بافت ماده غذایی و جذب روغن) و در نهایت تغییرات ساختاری می‌گردد (Xu et al., 2020). در فرآیندهای متداول سرخ کردن، روغن‌های سرخ کردنی به طور متوسط در دماهای ۱۷۵ - ۱۹۵ °C در حضور ماده غذایی با هوای محیط در

سرخ کردن یکی از ساده‌ترین و سریع‌ترین روش‌های پخت غذا می‌باشد که موجب تولید فرآورده‌هایی با ویژگی‌های حسی (رنگ، بافت و آروما<sup>۳</sup>) و تغذیه‌ای بهتر می‌شود. در واقع، سرخ کردن یک

۱ و ۲- به‌ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد و استاد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

(Email: rfarhoosh@um.ac.ir)

DOI: 10.22067/ifstrj.2022.75114.1144

۳- Aroma

(\*) - نویسنده مسئول:

های فلزی و در نهایت، فرآیندهای اکسایش می‌گردند (Sepehry et al., 2022). در واقع، ترکیبات فنولی آنتی‌اکسیدان‌ها به واسطه واکنش پذیری بخش فنول (گروه هیدروکسیل حلقه آروماتیک) رفتار آنتی‌اکسیدانی مانند مهار کردن یون‌های فلزی، پذیرش رادیکال آزاد و شکستن زنجیره اکسایش را از خود بروز می‌دهند (Gad et al., 2010). آنتی‌اکسیدان‌ها دارای ارزش آنتی‌اکسیدانی متفاوتی هستند که با در نظر گرفتن طول دوره القا (IP<sup>۵</sup>) و همچنین سرعت تشکیل هیدروپراکسید طی دوره القا، مورد ارزیابی قرار می‌گیرند. هیدروپراکسیدها (LOOH) از حمله الکتروفیلی رادیکال‌های هیدروپراکسیل (LOO•) به بسترهای مستعد لیپیدی تولید می‌شوند (Alavi Rafiee et al., 2018).

اسید گالیک (۳،۴،۵-تری هیدروکسی بنزوئیک)<sup>۶</sup> (GA) و متیل گالات (متیل ۳،۴،۵-تری هیدروکسی بنزوات)<sup>۷</sup> (MG) رایج‌ترین ترکیبات فنولی موجود در گیاهان می‌باشند. اسید گالیک به عنوان یک افزودنی غذایی ایمن در بسیاری از کشورها بدون محدودیت قانونی برای استفاده توسط عموم پذیرفته شده است. طبق تحقیقات گزارش شده، GA دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی در دمای محیط است. هرچند، اطلاعات در مورد اثر اسید گالیک بر تغییرات حرارتی در تیمارهای حرارتی با دماهای بالا در روغن‌های گیاهی بسیار محدود است (Jung et al., 2016). ترکیب فنولی MG باعث کاهش استرس اکسایشی<sup>۸</sup> و صدمات وارده به DNA سلولی می‌شود و مانند مشتقات ویتامین E، اکسایش لیپیدی را کاهش داده و از تغییر سطح گلووتاتیون<sup>۹</sup> درون سلولی جلوگیری می‌کند. علاوه بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، خواص بیولوژیکی MG شامل فعالیت‌های ضد اسپاسم، ضد التهابی و ضد میکروبی نیز گزارش شده است (Huang et al., 2021). طبق یک پژوهش (Farhoosh et al., 2018)، GA و MG توانایی چشمگیری در بهبود تعدادی از پارامترهای سینتیک حرارتی در اکسایش چربی‌ها نشان داده است. استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها به تنهایی اغلب اثر کمی در به تاخیر انداختن قدرت اکسایش روغن‌ها و چربی‌ها دارد. مطالعات گزارش شده حاکی از آن است که ارزش آنتی‌اکسیدانی اختلاط دو یا چند آنتی‌اکسیدان به مراتب بیشتر از حالتی است که هر یک از آنها به تنهایی مورد استفاده قرار گیرند. استفاده ترکیبی از آنتی‌اکسیدان‌های اولیه و ثانویه ممکن است به هم افزایی<sup>۱۰</sup> بین آنها منجر شود (Crespo et al., 2019; Yanishlieva et al.,

تماس مستقیم است. در این حین، واکنش‌های هیدرولیزی ناشی از رطوبت موجود در ماده غذایی و تولید ترکیبات شیمیایی مانند زنجیره‌های کوتاه آلدئیدی، مشتقات کتونی و هیدروپراکسیدها که باعث تندی و ایجاد طعم ناخوشایند ماده غذایی و روغن سرخ شده می‌شود و همچنین کاهش ارزش غذایی محصول نهایی را در پی دارد (Bordin et al., 2013). اکسیژن، دما و نور سه عامل مهمی هستند که عمر ماندگاری مواد غذایی را به واسطه تشدید فرآیند اکسایش تحت تاثیر قرار می‌دهند.

اکسایش یکی از اصلی‌ترین عوامل فساد مواد غذایی است که اثرات نامطلوبی بر رنگ، بافت، طعم و ارزش تغذیه‌ای ماده غذایی دارد. سرعت اکسایش روغن‌های سرخ کردنی تابع عوامل مستقیم و غیرمستقیم دما، ابعاد تماس روغن با هوای محیط، میزان فلزات اکسید کننده (آهن و مس)، میزان آنتی‌اکسیدان‌ها، ضدکف‌های سیلیکونی و کیفیت روغن سرخ کردنی می‌باشد. نتایج تحقیقات حاکی از آن است که تیمار حرارتی می‌تواند پایداری اکسایشی، محتوی فنولی و درجه تخریب‌پذیری روغن‌های خوراکی را به واسطه واکنش‌های هیدرولیز، اکسایش، ایزومری شدن، پلیمری شدن و تولید رادیکال‌های آزاد فعال، هیدروپراکسیدها و ترکیبات ثانویه تحت تاثیر قرار دهد (Kharazi et al., 2014). مقاومت به تندی اکسایشی، شاخص عملکرد و عمر نگهداری فرآورده لیپیدی است. در دهه‌های اخیر، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند ترسیبوتیل هیدروکینون (TBHQ)<sup>۱</sup>، هیدروکسی آنیزول بوتیل (BHA)<sup>۲</sup> و هیدروکسی تولوئن بوتیل (BHT)<sup>۳</sup> برای حفظ ارزش مواد غذایی بخصوص روغن‌ها و چربی‌ها در برابر اکسایش مرسوم شده است. هر چند، این ترکیبات حلالیت خوبی در روغن دارند و مدت زمان نگهداری مواد غذایی را نیز افزایش می‌دهند؛ اما گزارش‌هایی مبنی بر سمی بودن و سرطان‌زا بودن آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، استفاده از آنها را محدود کرده است (Farhoosh et al., 2009). در سال‌های اخیر، تلاش بر شناخت و استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با منشا گیاهی افزایش یافته است. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی ضمن داشتن ارزش آنتی‌اکسیدانی مناسب، در کاهش میزان سرطان، بیماری‌های قلبی-عروقی و سایر مشکلات مزمن تاثیر بسزایی دارند (Gavahian et al., 2019). آنتی‌اکسیدان‌ها با مکانیسم گیرندگی رادیکال‌های آزاد<sup>۴</sup> اثر محافظتی بر چربی‌ها و روغن‌ها دارند؛ بدین گونه که با رادیکال‌های آزاد وارد واکنش شده و با مهار کردن اثرات آنها، مانع واکنش‌های جانبی بخش فعال رادیکال‌های آزاد با اسیدهای چرب و یون

5- Induction period

6- 3,4,5-trihydroxybenzoic acid (Gallic Acid)

7- Methyl 3,4,5-trihydroxybenzoate (Methyl Gallate)

8- Oxidative stress

9- Glutathione (GSH)

10- Synergy

1- Tert-butylhydroquinone

2- Butylated hydroxyanisole

3- Butylated hydroxytoluene

4- Free radical scavenging

مدت ۵ الی ۶ دقیقه سرخ شدند. برای جلوگیری از نوسانات دمای روغن، برش‌ها قبل از خشک کردن به مدت ۳ تا ۵ ثانیه در آب در دمای  $100^{\circ}\text{C}$  قرار داده شدند. فرآیند برای هر تیمار طی یک روز و هر روز ۸ ساعت انجام گرفت. قبل از فرآیند، ۴۵ g روغن به عنوان نمونه در ساعت صفر و در انتهای هر یک ساعت، ۴۵ g روغن از سرخ‌کن برداشته شد و تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی در فاکون‌های در بسته در فریزر ( $-3^{\circ}\text{C}$ ) نگهداری گردید. شایان ذکر است که هیچ روغن تازه‌ای برای جبران روغن کاهش یافته بر اثر جذب و نمونه‌گیری طی سرخ کردن به سرخ‌کن اضافه نشد. همچنین، فرآیند سرخ کردن نمونه‌های برشی در چهار تکرار انجام شد.

**تعیین ساختار اسیدهای چرب:** ترکیب اسید چرب متیل استر (FAME)<sup>۱</sup> نمونه‌های روغن به وسیله کروماتوگرافی گاز-مایع (GLC)<sup>۲</sup> مطابق روش توصیف شده توسط فرهوش و همکاران (Farhoosh et al., 2009) تعیین و بر اساس درصد نسبی سطوح، گزارش شد. ترکیب FAME از اختلاط ۰/۳ g از نمونه‌های روغن آفتابگردان و نخل به صورت مجزا با ۷ ml حلال هگزان و ۲ ml حلال هیدروکسید پتاسیم متانولی ۲N تهیه شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای  $50^{\circ}\text{C}$  قرار گرفت. لایه شفاف حاصله بالای لوله به ستون کروماتوگراف گاز-مایع مجهز به ستون‌های موبینه BPX-70 شیشه ای سیلیکا (۶۰ متر طول، ۰/۲۲ میلی‌متر قطر داخلی، ۰/۲۵ میکرومتر ضخامت لایه داخلی) و آشکارساز یونی شعله‌ای و گاز حامل هلیوم (۰/۷ میلی لیتر بر دقیقه) تزریق و درصدهای اسید چرب رصد شد. دمای آون، بخش تزریق و آشکارساز به ترتیب در دماهای ۱۴۰ تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۴ درجه بر دقیقه، ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد و ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود.

**اندازه‌گیری ترکیبات فنولی:** محتوی کل ترکیبات فنولی قبل از تیمار حرارتی به روش طیف سنجی با معرف فولین-سیوکالتو<sup>۳</sup> مورد بررسی قرار گرفت (Meda et al., 2005). بدین گونه که محتوی کل این ترکیبات با آنالیز محلول استاندارد GA در غلظت‌های مختلف (۰/۴-۰/۷ mg.mL<sup>-1</sup>) در حلال متانول مورد مقایسه قرار گرفت. محلول ۵۰ mL از ترکیب ۱ mL محلول استاندارد، ۲/۵ mL معرف فولین-سیو-کالچو (رقیق شده با آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۰) و ۵ mL کربنات سدیم (۷/۵ درصد وزنی حجمی) با آب مقطر به حجم رسانده و تهیه شد. بعد از زمان ماندگاری محلول به مدت ۲۴ ساعت درون ظروف تیره و گسترش فاز آبی، میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (Unico S2150, America) UV/Vis در طول

۲۰۰۲). افزایش پایداری اکسایشی روغن‌های سرخ کردنی از موضوعات مهم و قابل ملاحظه پژوهشگران و صنعتگران فعال در حوزه صنعت تغذیه می‌باشد. هدف از اجرای پژوهش حاضر، مطالعه اثر آنتی‌اکسیدان‌های GA، MG و TBHQ به تنهایی و مخلوط آنتی-اکسیدان‌های GA و MG بر پایداری اکسایشی نمونه روغن ترکیبی (۶۵ درصد وزنی آفتابگردان+۳۵ درصد وزنی نخل) طی فرایند سرخ کردن در دمای  $180^{\circ}\text{C}$  بود.

## مواد و روش‌ها

**مواد اولیه:** آنتی‌اکسیدان‌های اسید گالیک، متیل گالات و TBHQ با درجه خلوص ۹۸ درصد از شرکت سیگما خریداری شد. حلال‌ها و مواد شیمیایی مورد استفاده با درجه آزمایشگاهی از شرکت های Merck آلمان و Sigma Aldrich امریکا تهیه گردید. نمونه‌های روغن آفتابگردان و نخل فاقد آنتی‌اکسیدان از کارخانه سه گل-شهرستان نیشابور و سیب‌زمینی (واریته آگریا) از منطقه فریمان-خراسان رضوی تهیه و خریداری شد.

**آماده‌سازی نمونه‌ها:** نمونه‌های روغن آفتابگردان و نخل فاقد آنتی‌اکسیدان تا زمان حرارت‌دهی در دمای  $3^{\circ}\text{C}$  در یخچال نگهداری شد. به منظور بررسی اثر آنتی‌اکسیدان‌های GA، MG، GA+MG (با درصد وزنی ۷۵:۲۵، ۵۰:۵۰ و ۲۵:۷۵) و TBHQ بر پایداری اکسایشی مخلوط روغن‌های آفتابگردان و نخل (۶۵ درصد آفتابگردان بر ۳۵ درصد نخل) قبل از فرآیند سرخ کردن، محلول همگونی از آنتی‌اکسیدان‌ها در حلال استون تهیه و در درصدهای متفاوت به صورت مجزا به نمونه‌های روغن اضافه گردید. به منظور حذف حلال استون موجود در نمونه‌های روغن بدون تغییر ساختاری، فیزیکی و شیمیایی از گاز بی اثر  $\text{N}_2$  بهره گرفته شد (Alavi Rafiee et al., 2018).

**فرآیند سرخ کردن:** سیب‌زمینی‌ها پس از پوست‌گیری و برش خوردن به قطعات مکعبی شکل به ابعاد  $4 \times 0/5 \times 0/5 \text{ cm}$ ، تا زمان اجرای فرآیند درون آب ( $25^{\circ}\text{C}$ ) قرار گرفتند. عملیات سرخ کردن بعد از شسته شدن و سپس خشک شدن برش‌های سیب زمینی با جریان طبیعی هوا و اعمال فشار مکانیکی با یک عدد پارچه تمیز و خشک، با استفاده از سرخ‌کن (Hamilton DF-535T) مجهز به ترموستات با دامنه دمایی از منفی ۳۱ تا مثبت ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد و سبد توری استیل زنگ نزن در دمای  $180^{\circ}\text{C}$  انجام پذیرفت. نمونه‌های روغن فاقد آنتی‌اکسیدان و نیز حاوی آنتی‌اکسیدان TBHQ به عنوان نمونه های شاهد مورد ارزیابی و قیاس قرار گرفتند. برای هر تیمار حرارتی، ۳۰ g سیب زمینی در نظر گرفته شد. در کل زمان فرآیند، نسبت وزنی سیب زمینی به روغن ثابت بود. خلال‌های سیب زمینی به

1- Fatty acid methyl ester

2- Gas-liquid chromatography

3- Folin-Ciocalteu

و ۰/۵ mL کلرید آهن III شش آبه (۰/۲) درصد وزنی حجمی در اتانول آبی (۹۵ درصد) با اتانول آبی (۹۵ درصد به حجم رسانده شد. میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UV/Vis) (Unico S2150, America) در طول موج ۵۲۰ nm اندازه‌گیری و منحنی کالیبراسیون غلظت ترکیبات توکوفرولی بر حسب میزان جذب رسم شد. شیب منحنی استاندارد در این آزمایش ۰/۰۰۰۱ با ضریب همبستگی ۰/۹۹ بدست آمد. برای تعیین محتوی کل ترکیبات توکوفرولی نمونه روغن، مقادیر ۲۱۰-۱۹۰ گرم نمونه روغن در داخل بالن ژوژه ۱۰ mL توزین شد. سپس، با اضافه کردن ۵ mL حلال تولوئن و ۳/۵ mL محلول ۲،۲ بی‌پیریدین (۰/۰۷) درصد وزنی حجمی در اتانول آبی (۹۵ درصد) و ۰/۵ mL کلرید آهن III شش آبه (۰/۲) درصد وزنی حجمی در اتانول آبی (۹۵ درصد) با اتانول آبی (۹۵ درصد به حجم رسانده شد و در نهایت، میزان جذب در طول موج ۵۲۰ nm ثبت گردید. میزان محتوی ترکیبات توکوفرولی نمونه روغن ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) طبق رابطه (۳) محاسبه گردید (Mehdi Nia Lichani et al., 2018).

$$T_T = \frac{A_{520} - A_{\text{Blank},520}}{M \times W} \quad (3)$$

در اینجا،  $A_{520}$  و  $A_{\text{Blank},520}$  به ترتیب میزان جذب نمونه و محلول شاهد،  $M$  شیب منحنی استاندارد میزان جذب بر حسب غلظت آلفا توکوفرول و  $W$  میزان نمونه روغن می‌باشد.

**اندازه‌گیری اسیدیته نمونه:** اندازه‌گیری میزان پیشرفت فساد هیدرولیزی نمونه روغن با پارامتر اسیدیته بر حسب میزان اسیدهای چرب آزاد در ۱۰۰ g نمونه روغن تعریف می‌شود. در این روش، میزان ۴ g نمونه روغن در یک ارلن توزین شد و به منظور کاهش ویسکوزیته و افزایش قطبیت روغن، با ۱۰ mL حلال ترکیبی با نسبت برابر اتانول و دی اتیل اتر مخلوط شد. عمل تیتراسیون مخلوط حاصله در حضور معرف فنل‌فالتین با محلول ۰/۱ N هیدراکسید پتاسیم تا ظهور رنگ صورتی با زمان پایداری ۱۵ ثانیه صورت پذیرفت. میزان اسیدیته (گرم درصد) نمونه روغن طبق رابطه (۴) محاسبه گردید.

$$\%FFA(\text{as oleic acid}) = 1.99 \left( \frac{V \times N \times 28.2}{W} \right) \quad (4)$$

در اینجا، پارامترهای  $V$  و  $N$  به ترتیب حجم و نرمالیت سود مصرفی و  $W$  وزن نمونه روغن می‌باشد.

**تعیین عدد دی‌ان مزدوج (CDV):** به منظور اندازه‌گیری ترکیبات دی‌ان مزدوج طی اکسیداسیون، میزان جذب نمونه شاهد (حلال) و نمونه‌های رقیق شده روغن به نسبت ۱ g به ۶۰۰ mL

موج ۷۶۵ nm اندازه‌گیری و منحنی کالیبراسیون غلظت ترکیبات پلی فنولی در برابر میزان جذب رسم شد. شیب منحنی استاندارد برابر با ۰/۱۰۱۷ با ضریب همبستگی ۰/۹۹ بدست آمد. برای تعیین میزان فنول نمونه روغن، محلولی از ۲/۵ g گرم روغن و ۲/۵ mL هگزان نرمال در ۲/۵ mL محلول متانول: آب (۸۰:۲۰) تهیه شد و بعد از عمل ورتکس<sup>۱</sup> به مدت ۴۰ ثانیه، عمل سانتریفوژ کردن نمونه به مدت ۵ دقیقه (۵۰۰ rpm) صورت پذیرفت. پس از جداسازی فازهای آبی و روغنی، فازهای آبی در هر دور سانتریفوژ کردن نگهداری شده و فاز روغنی با ۲/۵ mL محلول متانول: آب (۸۰:۲۰) رقیق شده و عمل سانتریفوژ دوباره به مدت ۵ دقیقه انجام شد. این عمل جداسازی و سانتریفوژ ۳ بار تکرار شد. بعد از مخلوط کردن تمامی فازهای آبی (هیدرومتانولیک) نگهداری شده، به میزان ۲/۵ mL معرف فولین سیو-کالچو و ۵ mL کربنات سدیم به فاز آبی اضافه و با آب مقطر به حجم رسانده شد. میزان جذب پس از زمان ماندگاری محلول به مدت ۲۴ ساعت در ظروف تیره در طول موج ۷۶۵ nm اندازه‌گیری گردید. در این روش، معرف در حضور ترکیبات فنولی در محلول قلیایی احیا و محلولی به رنگ آبی تولید می‌کند (Mehdi Nia Lichani et al., 2018). منحنی استاندارد GA در متانول در دامنه (۰/۷ mg.mL<sup>-1</sup> - ۰/۴) ترسیم شد و رابطه (۱) با ضریب تبیین ۰/۹۹ بدست آمد (Kharazi et al., 2014).

$$A_{765} = 0.1017X + 0.2639 \quad (1)$$

در اینجا، پارامتر  $A_{765 \text{ nm}}$  میزان جذب و  $X$  میزان ترکیبات فنولیک نمونه روغن (mg.mL<sup>-1</sup>) است. محتوی کل ترکیبات فنولی (TP) ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) نمونه روغن طبق رابطه (۲) محاسبه گردید.

$$TP = \frac{X}{W} \quad (2)$$

در اینجا،  $X$  مقدار ترکیبات فنولی نمونه و  $W$  وزن نمونه روغن می‌باشد.

**اندازه‌گیری ترکیبات توکوفرولی:** محتوی کل ترکیبات توکوفرولی بر مبنای آلفا توکوفرول طبق روش فرهوش و همکاران (Farhoosh et al., 2009) مورد سنجش قرار گرفت. در این آزمون، محتوی کل این ترکیبات با آنالیز محلول استاندارد آلفا توکوفرول در غلظت‌های مختلف (۰/۰-۲۴۰ mg.mL<sup>-1</sup>) در حلال تولوئن مورد مقایسه قرار گرفت. روش کار بدین صورت است که ۱ mL از محلول‌های تهیه شده در بالن ژوژه ۱۰ mL میلی‌لیتری با ۵ mL حلال تولوئن مخلوط گردید؛ سپس با اضافه کردن ۳/۵ mL محلول ۲،۲ بی‌پیریدین<sup>۲</sup> (۰/۰۷) درصد وزنی حجمی در اتانول آبی (۹۵ درصد)

1- Vortex

2- 2,2' Bipyridine

3- Conjugated diene value



در اینجا، پارامتر  $A_{420}$  میزان جذب نمونه،  $W$  (g) وزن نمونه و  $M$  شیب منحنی استاندارد می‌باشد.

### آنالیزهای آماری

در این پژوهش به منظور بررسی تاثیر تیمار حرارتی بر پایداری اکسایشی روغن طی فرآیند سرخ کردن از طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. جهت بررسی معنی‌دار بودن میانگین‌های حاصله، قیاس بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۵ درصد ( $p < 0.05$ ) به کمک نرم افزار spss مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. نهایت، نمودارها با نرم‌افزار Microsoft Excel ترسیم گردید.

### نتایج و بحث

#### بررسی خواص شیمیایی نمونه‌های روغن

**ساختار اسید چربی نمونه‌های روغن: جدول ۱** ترکیب و میانگین درصد اسیدهای چرب روغن‌های مورد آزمون را نشان می‌دهد. عمده اسیدهای چرب موجود در روغن آفتابگردان (SO) مورد آزمون مربوط به اسیدهای چرب چندغیراشباع<sup>۳</sup> (PUFA) لینولئیک (C18:2C) و تک غیراشباع<sup>۴</sup> (MUFA) اولئیک (C18:1C) می‌باشد که با یافته‌های دیگر محققان (Farahmandfar et al., 2018; Farhoosh et al., 2018) تطابق داشت. محتوی اسید لینولئیک نمونه روغن آفتابگردان پژوهش حاضر به میزان ۶۱/۵۳ درصد حاصل شد که این میزان در استاندارد کدکس (Codex-Stan210-1999) (https://www.fao.org/3/y2774e/y2774e04.htm.) در بازه ۷۴-۴۸ درصد گزارش شده است. کمترین درصد اسید چرب موجود در نمونه روغن آفتابگردان مورد آزمون مربوط به C14:0، C16:1، C17:0، C17:1، C20:2 و C22:1 می‌باشد که مقادیری کمتر از ۰/۱ درصد حاصل گردید. همچنین، ترکیب و درصد اسید چرب روغن نخل (PO) مورد آزمون (جدول ۱) حاکی از آن است که این روغن با ۴۱/۹ درصد اسید چرب تک غیراشباع اولئیک (C18:1C) و ۳۸/۹۱ درصد اسید اشباع<sup>۵</sup> (SFA) پالمیتیک (C16:0)، در بین روغن‌های دارای اشباعیت و در نهایت پایداری بالا می‌باشد. میزان این اسیدهای چرب طبق استاندارد کدکس (Codex-Stan210-1999) به ترتیب در بازه ۴۳/۵-۳۹/۸ درصد و در بازه ۴۳/۵-۳۸ درصد تعیین شده است. روغن‌های خوراکی دارای ساختارهای اسید چرب و درجه غیراشباعیت متفاوتی می‌باشند. در نتیجه این اختلاف‌های ساختاری، بازه وسیعی از پایداری اکسایشی و ویژگی‌های متفاوت فیزیکی‌وشیمیایی حاصل

حلال هگزان در طول موج ۲۳۴ nm ثبت گردید. میزان ترکیبات دی‌ان مزدوج ( $\text{mmol.L}^{-1}$ ) از رابطه (۵) محاسبه شد (Farahmandfar et al., 2018).

$$\text{CDV} = \frac{A_{234} \times 600 \times 1000}{K_{\text{CDV}}} \quad (5)$$

در اینجا، پارامترهای  $A_{234}$  اختلاف میزان جذب نمونه و شاهد در طول موج ۲۳۴ nm، ۶۰۰ رقت نمونه روغن در حلال هگزان و  $K_{\text{CDV}}$  ضریب ثابت برابر با  $29000 \text{ mol.L}^{-1}$  می‌باشد.

**تعیین عدد کربنیل (CV):** به منظور اندازه‌گیری CV که معیاری برای اندازه‌گیری میزان ترکیبات کربونیلی که اصلی‌ترین ترکیبات ثانویه حاصل از تجزیه هیدروپراکسیدهای روغن و عامل فساد و تغییرات کیفیت روغن می‌باشد از روش توصیف شده توسط فرهوش و موسوی (Farhoosh and Moosavi 2008) بهره گرفته شد. در ابتدا، به منظور خالص‌سازی حلال از ترکیبات کربونیلی، به  $g$  ۱۰۰۰ حلال ۲-پروپانول به میزان  $g$  ۰/۶ بوروهیدرید سدیم ( $\text{NaBH}_4$ ) اضافه گردید و عملیات رفلکس به مدت ۱ ساعت صورت گرفت. در ادامه، ۲۰-۲۰۰mg نمونه روغن در بالن ژوژه ۱۰ mL توزین نموده و بعد از به حجم رساندن با حلال رفلکس شده، ۱ mL از محلول را در یک لوله آزمایش منتقل کرده و ۱ mL معرف ۲ و ۴-دی نیترو فیل هیدرازین (DNPH)<sup>۱</sup> که از انحلال ۵۰ mg DNPH در ۱۰۰ mL حلال رفلکس شده حاوی ۳/۵ mL اسید کلریدریک غلیظ تهیه شده است به لوله آزمایش اضافه گردید و پس از دربندی در دمای  $^{\circ}\text{C}$  ۴۰ به مدت ۲۰ دقیقه گرمخانه گذاری شد. در ادامه، بعد از شوک دمایی در حمام آب و یخ به مدت ۱۰ دقیقه، ۸ mL محلول هیدروکسید پتاسیم ۲٪ به آن اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس شدند. در نهایت، عمل سانتریفوژ کردن محلول ورتکس شده به مدت ۵ دقیقه (۴۶۰۰ rpm) در دمای  $^{\circ}\text{C}$  ۲۵ صورت پذیرفت. پس از جداسازی فاز، میزان جذب لایه بالایی در طول موج ۴۲۰ nm در برابر نمونه شاهد که تمام مواد شیمیایی مورد نظر به جز استاندارد و نمونه مورد نظر را دارا بود قرائت و رسم گردید. منحنی کالیبراسیون آلدئید ۲ و ۴ دکا دی اتال نیز در محدوده غلظتی  $1-500 \mu\text{M.g}^{-1}$  نیز ترسیم شد. شیب منحنی استاندارد جذب در برابر غلظت آلدئید استاندارد برابر با ۰/۰۱۶ حاصل شد. بزرگی عدد کربونیل ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ ) از رابطه (۶) محاسبه گردید.

$$\text{CV} = \frac{A_{420} - 0.306752}{100 \times M \times W} \quad (6)$$

3- Polyunsaturated fatty acids (PUFA)  
4- Monounsaturated fatty acids (MUFA)  
5- Saturated fatty acids (SFA)

1- Carbonyl value  
2- 2,4-Dinitrophenylhydrazine

پایداری این نوع روغن در برابر اکسایش شده است. یکی از راهکارهای افزایش پایداری اکسایشی روغن‌ها، اختلاط با روغن‌های حاوی مقادیر بالای اسیدهای چرب اشباع مانند روغن نخل می‌باشد. روغن نخل یک روغن سرخ‌کردنی بسیار محبوب است؛ اما ارزش تغذیه‌ای این روغن با محتوای بالای اسیدهای چرب اشباع با چالش روزافزون روبرو است.

می‌گردد. روغن‌های گیاهی برخلاف روغن‌های حیوانی، از درجه اشباعیت کمتری برخوردار هستند که باعث تشدید حساسیت پذیری نسبت به واکنش‌های اکسایشی می‌شوند. هر چند، اثر سلامتی بخش اسیدهای چرب خانواده چندغیراشباع لینولئیک با درصد بالا و اثر سوء اسیدهای چرب اشباع پالمیتیک با درصد پایین، روغن آفتابگردان را دارای جایگاه تغذیه‌ای ارزشمندی بین روغن‌های گیاهی قرار داده است. اما، درصد بالای اسیدهای چرب غیراشباع منجر به کاهش

جدول ۱- ساختار اسید چرب روغن‌های آفتابگردان (SO) و نخل (PO) پیش از تیمار حرارتی (بر حسب درصد)

Table 1-Fatty acid composition (%) of the in-use sunflower (SO) and palm (PO) oils

| اسید چرب   |        |       |       |       |       |       |        |        |        |        |
|------------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|
| Fatty acid |        |       |       |       |       |       |        |        |        |        |
|            | C18:2c | 18:1c | C18:0 | C17:1 | C17:0 | C16:1 | C16:0  | C14:0  | C12:0  | C18:3c |
| SO         | 61.53  | 25.50 | 3.83  | 0.02  | 0.03  | 0.09  | 6.95   | 0.08   | -      | 0.22   |
| PO         | 11.82  | 41.90 | 4.37  | 0.02  | 0.09  | 0.18  | 38.91  | 1.03   | 0.22   | 0.22   |
| اسید چرب   |        |       |       |       |       |       |        |        |        |        |
| Fatty acid |        |       |       |       |       |       |        |        |        |        |
|            | C24:0  | C22:1 | C22:0 | C20:2 | C20:1 | C20:0 | C18:3t | C18:2t | C18:1t |        |
| SO         | 0.25   | 0.04  | 0.76  | 0.03  | 0.16  | 0.26  | -      | 0.24   | -      |        |
| PO         | -      | -     | 0.08  | -     | 0.16  | 0.36  | 0.05   | 0.42   | 0.08   |        |

فرآیند نامناسب تولید، تصفیه، بسته بندی و نگهداری روغن می‌باشد (Fahimdanesh et al., 2008).

### بررسی تغییرات پایداری اکسایشی طی سرخ کردن

**تغییرات اسیدیته:** تغییرات اسیدیته تیمارها طی ۸ ساعت سرخ کردن در دمای °C ۱۸۰ در شکل ۱ نشان داده شده است. تیمار شاهد و تیمار حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ به ترتیب دارای بیشترین و کمترین میزان اسیدیته بودند. بین درصد اسیدیته تیمارهای GA50+MG50 و GA25+MG75 اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. همانطور که مشهود است میزان اسیدیته در نمونه حاوی گالیک اسید به تنهایی از ترکیب آن با متیل گالات کمتر است. این رفتار ناشی از انرژی واکنشی پایین و عدم تمایل رادیکال‌های حاصل از آنتی‌اکسیدان (پس از جدا شدن اتم هیدروژن) به شرکت در واکنش‌های زنجیره‌ای اکسایش لیپیدی اسید گالیک می‌باشد که باعث عملکرد بالای این آنتی‌اکسیدان در محیط اکسایشی می‌باشد. در نتیجه، رادیکال‌های اسید گالیک با انرژی پایین تمایل کمتری برای حمله به اسیدهای چرب غیراشباع از خود بروز داده که در نهایت، اکسایش را گسترش نمی‌دهند. عامل دیگری که در بیان علت عملکرد خوب اسید گالیک در سامانه روغنی نسبت به مشتقات اسیدهای فنلی می‌توان ذکر کرد، قابلیت بالای اسید گالیک در مهار رادیکال‌های سوپراکسید است (Farahmandfar et al., 2018).

### محتوی ترکیبات فنولی و توکوفرولی: نتایج آنالیز محتوی کل

ترکیبات فنولی و توکوفرولی به عنوان شاخص‌های مهارکننده از پیشرفت اکسایش در جدول ۲ نشان داده شده است. ترکیبات فنولی به لحاظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت بیولوژیکی بواسطه مبارزه با عامل بیماری‌های مربوط به تولید رادیکال‌های اکسیژن با غلظت بیش از ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی<sup>۱</sup> بدن انسان حائز اهمیت می‌باشند (Morelló et al., 2004). طبق یک تحقیق (Wen et al., 2020)، مقدار کل ترکیبات توکوفرولی روغن آفتابگردان مورد پژوه  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  ۸۹۱ و طبق پژوهشی دیگر (Tavakoli., 2013) میزان کل ترکیبات فنولی روغن آفتابگردان  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  ۱۲/۹ گزارش شده است. ارزش آنتی‌اکسیدانی توکوفرول‌ها که اجزای بسیار مهم بخش غیرصابونی روغن‌های خوراکی به حساب می‌آیند نیز جایگاه ویژه‌ای در ارتباط با سلامتی انسان دارد. توکوفرول‌ها بواسطه واکنش‌پذیری بالا با رادیکال‌های آزاد و سوق دادن واکنش‌های اکسایشی به مراحل پایانی، چربی‌ها و روغن‌ها را در برابر اکسایش محافظت می‌نمایند. در واقع، محتوی کل توکوفرول‌ها و ترکیبات فنولی به عنوان شاخص کیفیت، شرایط کاشت، درجه رسیدگی در هنگام برداشت، نحوه نگهداری و شرایط استخراج روغن می‌باشد. مقادیر پایین این شاخص‌ها بیانگر از بین رفتن کسر قابل توجهی از توکوفرول‌ها و پلی فنول‌ها در طی

1- Antioxidant defense capacity

جدول ۲- محتوی کل ترکیبات فنولی (TPC) و توکوفرولی (TTC) موجود در روغن‌های مورد آزمون پیش از تیمار حرارتی.  
Table 2- Total phenolic content (TPC) and tocopherols content (TTC) of the oils before the heat treatment\*.

|                                                                                  | روغن نخل<br>PO                               |            | روغن آفتابگردان<br>SO                        |            |
|----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|------------|----------------------------------------------|------------|
|                                                                                  | استاندارد کدکس ۲۱۰<br>CODEX-STAN210-<br>1999 | کار حاضر   | استاندارد کدکس ۲۱۰<br>CODEX-STAN210-<br>1999 | کار حاضر   |
| ترکیبات فنولی<br>Phenolic compounds<br>( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )       | -                                            | 53.12±0.14 | -                                            | 36.01±1.03 |
| ترکیبات توکوفرولی<br>Tocopherol compounds<br>( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) | 4-193                                        | 185±1.01   | 403-935                                      | 490±99     |

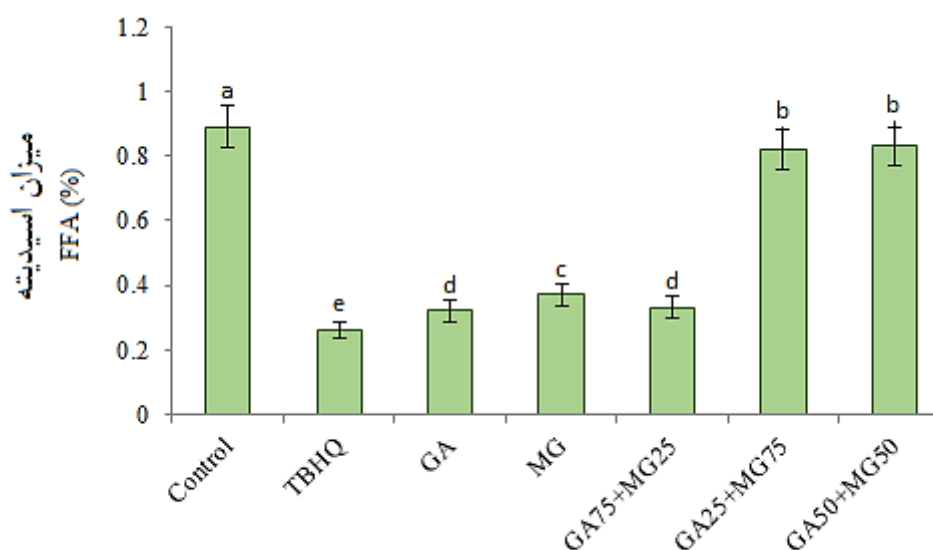
میانگین ۲ تکرار ± انحراف استاندارد.

\* Mean ± SD (standard deviation) of duplicate determinations.

لیپیدهای دارای گروه متیلنی در میان دو یا چندین پیوند غیراشباع دستخوش جابجایی موقعیت پیوندهای غیراشباع شده و منجر به تولید ترکیب‌های حاوی دی‌ان مزدوج می‌گردد (Hajeb et al., 2018). نتایج تولید دی‌ان‌های مزدوج در روغن مورد آزمون در حضور آنتی‌اکسیدان‌ها طی تیمار حرارتی ۸ ساعته در دمای ۱۸۰ °C در شکل ۲ نشان داده شده است. مقایسه میانگین داده‌ها حاکی از آن است که تیمار شاهد از حداکثر محتوی CDV برخوردار است و حداقل میزان CDV مربوط به تیمار GA75+MG25 بود که برابر با (1-1) mmol.L-1 است. محتوی CDV روغن مورد آزمون بدون آنتی‌اکسیدان به طور قابل توجهی در حضور GA75+MG25 به اندازه ۶۸/۶ درصد کاهش یافت. نتایج حاصله بیانگر نقش موثر این ترکیب آنتی‌اکسیدان در جلوگیری از تشکیل ترکیبات با آرایش پیوندی جدید در مراحل پیشرفته اکسایش است. از طرفی، بین تیمارهای GA25+MG75، GA50+MG50 و GA اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها در بازه‌های زمانی متفاوت طی تیمار حرارتی بر این مطلب صحت می‌گذارد که در تمامی نقاط زمانی بین عدد دی‌ان مزدوج به لحاظ آماری، تفاوت معنی‌داری وجود داشت که همواره مقدار این ترکیبات برای ساعت ۸ ام بیشتر بود. به طور کلی، سطوح بیشتر CDV که قابل رصد در طول موج ۲۳۴ nm می‌باشد نشان دهنده پایداری کمتر روغن به اکسایش می‌باشد. طبق شکل ۳، درصد ترکیبات حاوی دی‌ان‌های مزدوج با پیشرفت اکسایش ابتدا افزایش یافت و سپس روند نسبتاً ثابتی به خود گرفت.

درصد اسیدیته روغن‌ها در فرآیندهای سرخ کردن به علت تجزیه تری‌گلسیریدها و آزاد شدن اسیدهای چرب آزاد معمولاً با شیب‌های متفاوتی افزایش می‌یابد و مقادیر بالای آن منجر به ایجاد بد طعمی در روغن و محصول سرخ شده می‌شود. افزایش درصد اسیدیته ناشی از واکنش‌های هیدرولیزی تری‌گلسیریدها در دماهای بالا می‌باشد. از طرفی، مولکول‌های آب مهم‌ترین عامل تحریک کننده این واکنش‌های زنجیره‌ای محسوب می‌شود. در این پژوهش، به نظر می‌رسد که برش‌های سیب زمینی مورد تیمار حرارتی که به خوبی به طور مکانیکی با دستمال پارچه‌ای آب گیری شده‌اند حاوی میزان ناچیزی از آب باشند که به نوبه خود، واکنش‌های هیدرولیزی را کاهش داده و باعث افزایش میزان اسیدیته با شیب ملایم شده است. همچنین، نمونه روغن مورد تیمار حرارتی از اختلاط روغن آفتابگردان با روغن نخل که دارای اشباعیت و پایداری بالای اکسایشی می‌باشد تهیه شده است که این میزان درصد اسیدهای چرب اشباع موجود در روغن نخل قادر به مهار کردن روند افزایشی واکنش‌های هیدرولیزی و در نتیجه افزایش با شیب تند میزان اسیدیته شده است. از طرفی دیگر، اسیدهای چرب موجود در روغن می‌تواند واکنش‌های هیدرولیزی را کاتالیز کند و از آنجاییکه فراریت اسیدهای چرب در دماهای بالا مانند ۱۸۰ °C یک امر غیر قابل انکار می‌باشد در نتیجه، افزایش میزان اسیدیته با شیب ملایم دور از انتظار نیست (Hajeb et al., 2018).

**تغییرات عدد دی‌ان مزدوج:** تولید ترکیبات دی‌ان مزدوج ناشی از جابجایی پیوندهای دوگانه به هنگام اکسایش PUFA می‌باشد که با درجه اکسایش رابطه مستقیم دارد. در فرآیندهای اکسایشی،



شکل ۱- روند تغییرات میزان اسیدیت تیمارهای مورد آزمون طی ۸ ساعت تیمار حرارتی در دمای ۱۸۰ °C  
حروف مشترک ستون‌ها بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار طبق آزمون دانکن ( $p < 0.05$ ) می‌باشد.

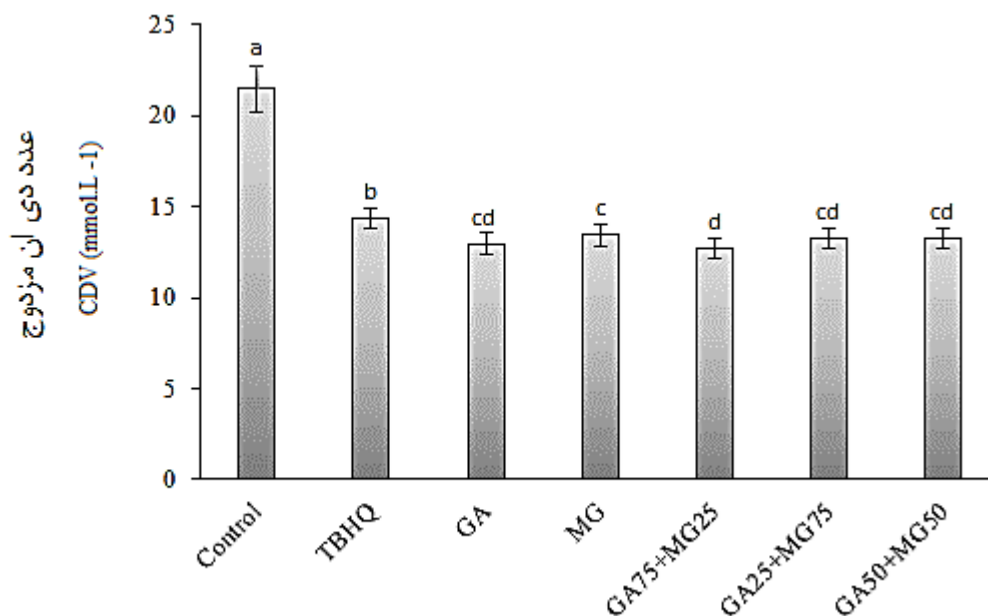
**Fig. 1- Free fatty acids (FFA) (%) of the in-use oil as affected by antioxidants during frying at 180 °C.**  
Different letters over bar indicates significant difference between treatments according to Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ).

چرب غیر اشباعی را تا حدودی خنثی کند. به همین دلیل، در این پژوهش پایداری نسبی تیمارها به اندازه‌ای بود که طی ۸ ساعت فرآیند سرخ کردن، هیچکدام از تیمارها  $t_{29}$  که عبارتست از زمان لازم جهت رسیدن به ۲۹ میلی‌مول بر لیتر هیدروپراکسیدهای دی‌ان مزدوج می‌باشد را تجربه نکردند که این مسئله پایداری نسبی نمونه روغن و وقوع تغییرات اکسایشی در زمان بلندتر را نشان می‌دهد (Kharazi et al., 2014).

**تغییرات عدد کربونیل (CV):** ترکیبات کربونیلی به عنوان یکی از اصلی‌ترین ترکیبات ثانویه (آلدهیدها و کتون‌ها) حاصل از تجزیه هیدروپراکسیدهای چربی، عامل کاهش ارزش تغذیه‌ای، حسی و عمر ماندگاری روغن‌های سرخ کردنی می‌باشند. از CV و CDV به عنوان شاخص‌های استاندارد برای تغییرات اکسایشی در چربی‌ها و روغن‌ها یاد می‌شود زیرا، عدد پراکسید شاخص مناسبی برای بررسی کیفیت روغن در دماهای بالا نمی‌باشد و به علت پایداری بالای ترکیبات کربونیلی، پارامتر CV بهترین مرجع در بررسی تغییرات فساد و کیفیت روغن محسوب می‌شود. روند تغییرات C تیمارهای مورد آزمون طی فرآیند حرارتی ۸ ساعته در دمای ۱۸۰ °C در شکل ۴ نشان داده شده است. مقایسه میانگین‌ها حاکی از آن است که حداکثر و حداقل میزان CV به ترتیب در نمونه شاهد و نمونه روغن حاوی آنتی‌اکسیدان TBHQ بود.

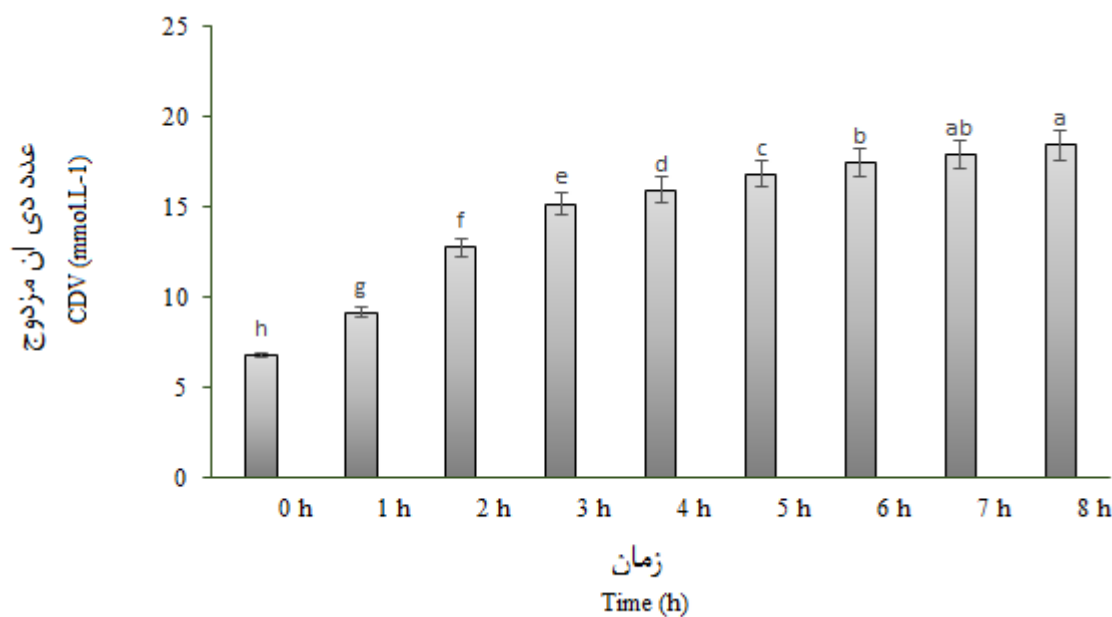
رفتار غیروابسته به زمان در مراحل پیشرفته اکسایش، در نتیجه برقراری تعادل میان سرعت تولید دی‌ان‌های مزدوج و سرعت تشکیل محصولات ثانویه اکسایشی و ترکیبات پلیمری بواسطه واکنش دیلر<sup>۱</sup> بین دی‌ان‌های مزدوج می‌باشد (Xu et al., 2022); این رفتار با گزارش‌های همدانی و خداپرست (Hamedani & Khodaparas., 2014) و فرهوش و همکاران (Farhoosh et al., 2010) مغایرات دارد. زیرا آنها با بررسی پایداری حرارتی روغن گزارش داده‌اند که عدد دی‌ان مزدوج نمونه‌های روغن طی تیمار حرارتی افزایش یافته و این روند افزایشی طی ۴ ساعت دوم فرآیند حرارتی با شیب تندتری دنبال شده است. آنها ادعا کردند با افزایش زمان حرارت دهی، مقدار هیدروپراکسیدهای دی‌ان مزدوج به مقدار بیشتری افزایش یافته است. شایان ذکر است رابطه مستقیم بین محتوی دی‌ان مزدوج و درصد حضور MUFA، PUFA و SFA وجود دارد. روغن مورد آزمون از ترکیب روغن آفتابگردان با ۶۱/۵۳ درصد اسید لینولنیک و روغن نخل با ۳۸/۹۱ درصد اسید اشباع پالمیتیک می‌باشد. فرآیندهای تشکیل دی‌ان‌های مزدوج طی تیمار حرارتی را به محتوای اسید لینولنیک موجود در روغن نسبت می‌دهند اما، حضور اسیدهای اشباع پالمیتیک با اشباعیت و در نهایت پایداری بالا می‌تواند اثر اسیدهای

1- Diels-Alder reaction



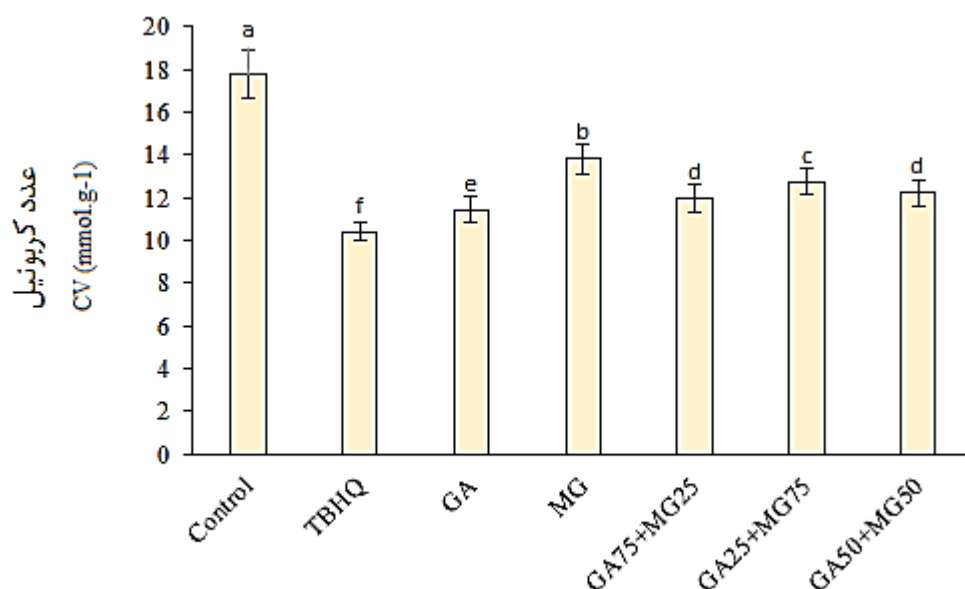
شکل ۲- روند تشکیل ترکیب‌های حاوی دی‌ان‌های مزدوج در تیمارهای مورد آزمون طی ۸ ساعت تیمار حرارتی در دمای ۱۸۰ °C. حروف مشترک ستون‌ها بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار طبق آزمون دانکن ( $p < 0.05$ ) می‌باشد.

Fig. 2- Conjugated diene value (CDV) of the in-use oil as affected by antioxidants during frying at 180 °C. Different letters over bar indicates significant difference between treatments according to Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ).



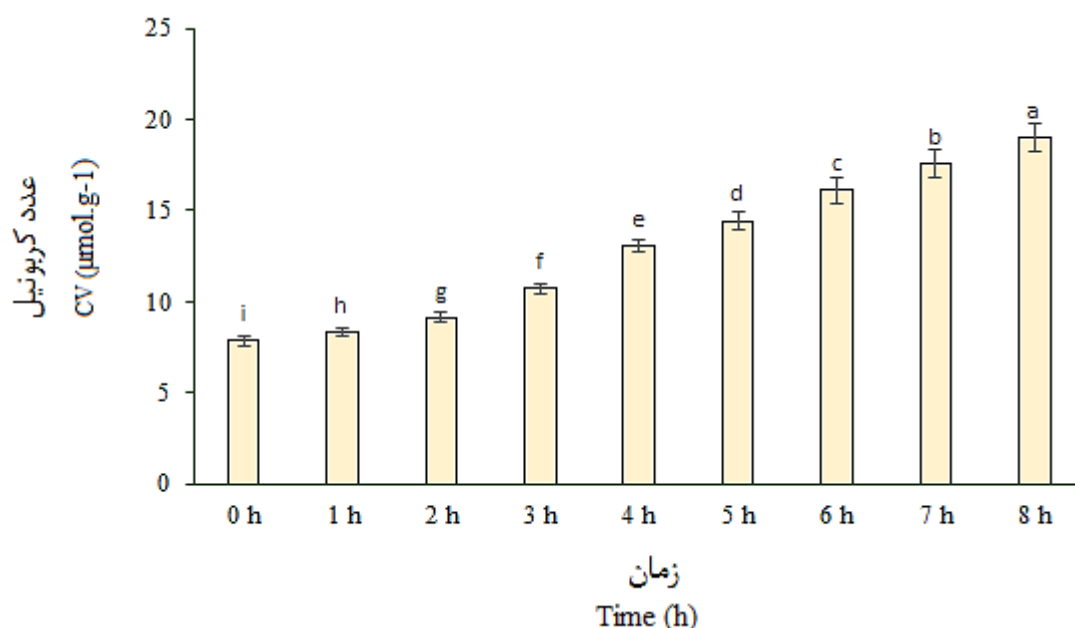
شکل ۳- روند تشکیل ترکیب‌های حاوی دی‌ان‌های مزدوج در روغن مورد آزمون طی ۸ ساعت تیمار حرارتی در دمای ۱۸۰ °C. حروف مشترک ستون‌ها بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار طبق آزمون دانکن ( $p < 0.05$ ) می‌باشد.

Fig. 3- Conjugated diene value (CDV) of the in-use oil as affected during 8-hour frying at 180 °C. Different letters over bar indicates significant difference between treatments according to Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ).



شکل ۴- اثر آنتی اکسیدان بر روند تشکیل ترکیبات کربونیلی در روغن مورد آزمون طی ۸ ساعت تیمار حرارتی در دمای ۱۸۰ °C  
حروف مشترک ستون‌ها بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار طبق آزمون دانکن ( $p < 0.05$ ) می‌باشد.

**Fig. 4- Carbonyl value (CV) of the in-use oil as affected by antioxidants during frying at 180 °C**  
Different letters over bar indicates significant difference between treatments according to Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ).



شکل ۵- روند تشکیل ترکیبات کربونیلی در روغن مورد آزمون طی ۸ ساعت تیمار حرارتی در دمای ۱۸۰ °C  
حروف مشترک ستون‌ها بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار طبق آزمون دانکن ( $p < 0.05$ ) می‌باشد.

**Fig. 5- Carbonyl value (CV) of the in-use oil as affected during 8-hour frying at 180 °C**  
Different letters over bar indicates significant difference between treatments according to Duncan's multiple range test ( $p < 0.05$ ).



( $p < 0.05$ ). نتایج حاصله از آنالیزها در بررسی تغییرات پایداری اکسایشی طی تیمار حرارتی ۸ ساعته در دمای  $180^{\circ}\text{C}$  نشان داد که پایداری اکسایشی نمونه روغن مورد آزمون در حضور آنتی‌اکسیدان‌ها افزایش یافت. بدین صورت که تیمار شاهد و تیمار حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ به ترتیب دارای بیشترین و کمترین میزان اسیدیته بود. همچنین، محتوی CDV روغن مورد آزمون بدون آنتی‌اکسیدان در حضور GA75+MG25 به اندازه ۶/۶ درصد کاهش یافت. علاوه بر این، سرعت تغییر CV روغن مورد آزمون بدون آنتی‌اکسیدان در حضور TBHQ به اندازه ۷۰/۲ درصد کاهش یافت. نتایج حاصله بیانگر نقش موثر این آنتی‌اکسیدان سنتزی در جلوگیری از تشکیل ترکیبات ثانویه در مراحل پیشرفته اکسایش است. مشهود است که بیشتر آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی ترکیبات فرار و حساس به گرما بوده و استفاده از آنها به منظور ارتقای پایداری اکسایشی مواد غذایی به دلیل احتمال سمی بودن و سرطانزا بودن با محدودیت‌هایی مواجه است (Pinho et al., 2000). همچنین، شواهدی مبنی بر جهش‌زا بودن آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ در بدن موجودات زنده نیز گزارش شده است (Williams et al., 1990). در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی پلی‌فنلی مانند MG و GA مورد آزمون در این پژوهش که پراکندگی زیادی نیز در گیاهان دارند عمدتاً دارای خواص ضد میکروبی و ضد التهابی می‌باشند که به عنوان آنتی‌اکسیدان فنولی اولیه شناخته شده‌اند. در مقایسه با GA و MG، آنتی‌اکسیدان‌های GA+MG دارای دوره القای طولانی‌تر و پایداری اکسایشی بالاتری می‌باشد (Budilarto et al., 2015). ارتقای پایداری اکسایشی با چنین چیدمان آنتی‌اکسیدان‌ها گزینه مناسبی در بهره‌گیری از مزایای این رسته از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌باشد. طبق نتایج حاصله از پارامترهای مورد سنجش می‌توان چنین استنباط کرد که با افزایش اندک آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در روغن مورد آزمون، می‌توان شاهد پایداری اکسایشی قابل قیاس با رفتار آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ بود. البته شایان ذکر است که افزودن آنتی‌اکسیدان طبیعی به ماده غذایی مانند روغن‌های خوراکی نیز باید بر اساس استانداردهای ملی و بین‌المللی صورت گیرد.

همچنین، بین تیمارهای GA75+MG25 و GA50+MG50 اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. شکل ۴ نشان داد سرعت تغییر CV روغن مورد آزمون بدون آنتی‌اکسیدان به طور قابل توجهی در حضور TBHQ به اندازه ۷۰/۲ درصد کاهش یافت. نتایج حاصله بیانگر نقش موثر این آنتی‌اکسیدان سنتزی در جلوگیری از تشکیل ترکیبات ثانویه در مراحل پیشرفته اکسایش است. این نتایج با مشاهدات کاویانی و همکاران (Kaviani et al., 2013) و (Farhoosh et al., 2010) همسو می‌باشد. علاوه بر این، وجود آنتی‌اکسیدان‌های GA و MG و نسبت‌های متفاوت GA+MG در نمونه روغن مورد مطالعه نقش قابل توجهی در کاهش سرعت تشکیل ترکیبات کربونیلی در مقایسه با نمونه فاقد آنتی‌اکسیدان نقش بسزایی داشت. روند تغییرات CV شکل ۵ در تمام تیمارهای مورد بررسی طی فرآیند حرارتی افزایشی بود و بین میانگین داده‌ها در ساعات مختلف نیز تفاوت معنی‌دار آماری وجود داشت. این نتایج همسو با گزارش‌های لیچانی و همکاران (Mehdi Nia Lichani et al., 2018) و کاویانی و همکاران (Kaviani et al., 2013) بود. آهنگ ثابت افزایش در محتوی CV طی تیمار حرارتی ناشی از تجزیه ترکیبات کربونیلی و تشکیل ترکیبات جدید می‌باشد که در طول موج ۴۲۰ nm قابل اندازه‌گیری نیستند (Kharazi et al., 2014).

### نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد تیمار حرارتی، ارزش غذایی، شاخص‌های کیفی و ساختار شیمیایی روغن مورد آزمون را تحت تأثیر قرار داده و باعث ایجاد افت در کیفیت و پایداری روغن می‌گردد. طبق نتایج به دست آمده از پروفایل اسیدهای چرب، عمده اسیدهای چرب موجود در روغن آفتابگردان مورد آزمون، مربوط به اسیدهای لینولئیک و اولئیک و در روغن نخل مربوط به اسیدهای چرب تک غیراشباع اولئیک و اسید اشباع پالمیتیک می‌باشد. بررسی خواص شیمیایی نمونه‌های روغن حاکی از آن است که ترکیبات فنلی روغن نخل بیشتر از آفتابگردان و بالعکس، ترکیبات توکوفرولی روغن آفتابگردان ( $490 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) بیشتر از روغن نخل بود. طبق یافته‌ها، تمامی پارامترهای FFA، CDV و CV در طی فرآیند سرخ کردن با گذشت زمان با سرعت‌های متفاوت به طور معناداری افزایش یافتند.

### منابع

- Alavi Rafiee, S., Farhoosh, R., & Sharif, A. (2018). Antioxidant activity of gallic acid as affected by an extra carboxyl group than pyrogallol in various oxidative environments. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 120(11), 1800319. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201800319>.
- Bordin, K., Kunitake, M.T., Aracava, K.K., & Trindade, C.S.F. (2013). Changes in food caused by deep fat frying—a review. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 63(1), 5-13.

3. Budilarto, E.S., & Kamal-Eldin, A. (2015). The supramolecular chemistry of lipid oxidation and antioxidation in bulk oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117(8), 1095-1137. <http://doi.org/10.1002/ejlt.201400200>.
4. Crespo, Y.A., Sánchez, L.R.B., Quintana, Y.G., Cabrera, A.S.T., Del Sol, A.B., & Mayancha, D.M.G. (2019). Evaluation of the synergistic effects of antioxidant activity on mixtures of the essential oil from *Apium graveolens* L., *Thymus vulgaris* L. and *Coriandrum sativum* L. using simplex-lattice design. *Heliyon*, 5(6), e01942. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01942>.
5. Fahimdanesh, M., Ghavami, M., Hemasi, A.H., & Aberomand, P. (2008). Evaluation of phenolic compounds and tocopherols content in some trade Iranian olive oils by HPLC. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 5(3), 53-59. <http://fsct.modares.ac.ir/article-7-1871-en.html>.
6. Farahmandfar, R., & Asnaashari, M. (2018). Assessment of antioxidant activity and kinetic oxidative parameters of syringic acid and gallic acid in sunflower oil. *Food Science and Technology*, 15(83), 1-14.
7. Farhoosh, R., Pazhouhanmehr, S., & Poorazrang, H. (2010). Heat stability of the oils from current canola cultivars in Iran. *Journal of Food Science and Technology(Iran)*. <http://fsct.modares.ac.ir/article-7-3334-en.html>.
8. Farhoosh, R., & Esmaeilzadeh Kenari, R. (2009). Anti-rancidity effects of sesame and rice bran oils on canola oil during deep frying. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(6), 539-544. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1382-7>.
9. Farhoosh, R., & Kafrani, M.H.T. (2010). Frying performance of the hull oil unsaponifiable matter of *Pistacia atlantica* subsp. *mutica*. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112(3), 343-348. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200900178>.
10. Farhoosh, R., & Moosavi, S.M.R. (2008). Carbonyl value in monitoring of the quality of used frying oils. *Analytica Chimica Acta*, 617(1-2), 18-21. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.11.049>.
11. Farhoosh, R., & Nyström, L. (2018). Antioxidant potency of gallic acid, methyl gallate and their combinations in sunflower oil triacylglycerols at high temperature. *Food Chemistry*, 244, 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.025>.
12. Gad, A.S., & El-Salam, M.H.A. (2010). The antioxidant properties of skim milk supplemented with rosemary and green tea extracts in response to pasteurisation, homogenisation and the addition of salts. *International Journal of Dairy Technology*, 63(3), 349-355. <http://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00585.x>.
13. Gavahian, M., Khaneghah, A.M., Lorenzo, J.M., Munekata, P.E., Garcia-Mantrana, I., Collado, M.C., & Barba, F.J. (2019). Health benefits of olive oil and its components: Impacts on gut microbiota antioxidant activities, and prevention of noncommunicable diseases. *Trends in Food Science & Technology*, 88, 220-227. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.008>.
14. Hajeb, B. (2018). *Comparison of thermal resistance of frying oil and canola oil by principal component of chemometrics analysis*. Thesis for receiving «M.Sc» degree On Chemical Engineering, Faculty of Chemical Engineering and Department of Engineering, Islamic Azad University.Science and Research Branch, Tehran, Iran.
15. Hamedani, F., & Haddad Khodaparast, M.H. (2014). Investigating chemical properties and oxidative stability of kernel oil from *Pistacia Khinjuk* growing-wild in Iran. *Iranian Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology*, 2(3): 265-278. <http://doi.org/10.1007/s11746-016-2817-6>.
16. <https://www.fao.org/3/y2774e/y2774e04.htm>.
17. Huang, C.Y., Chang, Y.J., Wei, P.L., Hung, C.S., & Wang, W. (2021). Methyl gallate, gallic acid-derived compound, inhibit cell proliferation through increasing ROS production and apoptosis in hepatocellular carcinoma cells. *PloS One*, 16(3), e0248521. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248521>.
18. Jung, M.Y., & Choi, D.S. (2016). Protective effect of gallic acid on the thermal oxidation of corn and soybean oils during high temperature heating. *Food Science and Biotechnology*, 25, 1577-1582. <http://doi.org/10.1007/s10068-016-0243-z>.
19. Kaviani, M., Niazmand, R., & Shahidi Noghabi, M. (2013). Discarding time evaluation of canola oil based on oxidation indexes during potato deep frying. *Research and Innovation in Food Science and Technology*, 2(1), 37-50. <https://doi.org/10.22101/JRIFST.2013.07.03.213>.
20. Kharazi, S.H., Kenari, R.E., & Amiri, Z.R. (2014). Effect of thermal treatment on chemical changes and oxidative stability of Iranian common virgin olive oil of roodbar region: a study on Zard, Mari and Phishomi. *Iranian Food Science & Technology Research Journal*, 9(4).
21. Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O.G. (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. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.006>.

22. Mehdi Nia Lichani, B., Esmaeilzadeh Kenari, R., & Dinpanah, G. (2018). Extraction of phenolic and tocopherol compounds of Mottaka plant and study of the effect of its extract on the stability of sunflower oil as a synthetic antioxidant substitute. *Journal of Food Technology and Nutrition*, 15(4): 81-90.
23. Morelló, J.R., Motilva, M.J., Tovar, M.J., & Romero, M.P. (2004). Changes in commercial virgin olive oil (cv Arbequina) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction. *Food Chemistry*, 85(3), 357-364. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.07.012>
24. Pinho, O., Ferreira, I.M.P.L.V.O., Oliveira, M.B.P.P., & Ferreira, M. A. (2000). Quantification of synthetic phenolic antioxidants in liver pâtés. *Food Chemistry*, 68(3), 353-357. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00205-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00205-8)
25. Sepehry, N., Mortazavi, S.A., Sadeghian, A., Mohammadi, M., & Pedram nia, A. (2022). Evaluation of antioxidant and antibacterial properties of essential oil and black cumin extract extracted by cleverger and ultrasound methods. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 18(121), 57-68. URL:<http://fsct.modares.ac.ir/article-7-53459-en.html>
26. Tavakoli, K. (2013). *Antioxidant effect of Medlar peel extract on stability of sunflower oil during storage condition and thermal process*. Thesis for receiving «M.Sc» degree On Food Science and Technology, Faculty of Science-Department Agricultura, Islamic Azad University, Damghan Branch, Iran.
27. Wen, Y., Xu, L., Xue, C., Jiang, X., & Wei, Z. (2020). Assessing the impact of oil types and grades on tocopherol and tocotrienol contents in vegetable oils with chemometric methods. *Molecules*, 25(21), 5076. <http://doi.org/10.3390/molecules25215076>
28. Williams, G.M., Wang, C.X., & Iatropoulos, M.J. (1990). Toxicity studies of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. II. Chronic feeding studies. *Food and Chemical Toxicology*, 28(12), 799-806. [http://doi.org/10.1016/0278-6915\(90\)90052-o](http://doi.org/10.1016/0278-6915(90)90052-o)
29. Xu, E., Wang, J., Tang, J., Ruan, S., Ma, S., Qin, Y., & Liu, D. (2022). Heat-induced conversion of multiscale molecular structure of natural food nutrients: A review. *Food Chemistry*, 369, 130900. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130900>
30. Xu, Z., Leong, S.Y., Farid, M., Silcock, P., Bremer, P., & Oey, I. (2020). Understanding the frying process of plant-based foods pretreated with pulsed electric fields using frying models. *Foods*, 9(7), 949. <https://doi.org/10.3390/foods9070949>
31. Yanishlieva, N.V., Kamal-Eldin, A., Marinova, E.M., & Toneva, A.G. (2002). Kinetics of antioxidant action of  $\alpha$ - and  $\gamma$ -toco-pherols in sunflower and soybean triacylglycerols. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(5), 262-270. [https://doi.org/10.1002/1438-9312\(200205\)104:5<262::AID-EJLT262>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/1438-9312(200205)104:5<262::AID-EJLT262>3.0.CO;2-B)

# Contents

|                                                                                                                                                                                                                |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Evaluation of Ethyl Oleate, Sodium Chloride and Blanching Pretreatments on Vacuum Drying of Sweet Pepper (<i>Capsicum annum</i>)</b>                                                                        | 195 |
| N. Alirezaloo, N. Asefi, P. Barman Veisi, H. Soraiyay Zafar                                                                                                                                                    |     |
| <b>The Effect of Non-thermal Plasma on Improvement of Functional Properties of Sorghum Starch</b>                                                                                                              | 217 |
| F. Shokrollahi, F. Shahidi, M.J. Varidi, A. Koocheki, F. Sohbatzadeh                                                                                                                                           |     |
| <b>Preparation of Liposomal Nanoparticles Containing <i>Ziziphora tenuir</i> Essential Oil and Evaluation of its Antimicrobial Effects</b>                                                                     | 231 |
| N. Jafarian, A. Akhondzadeh Basti, H. Emtiazi                                                                                                                                                                  |     |
| <b>Utilization of Fiber Obtained from Barley Malt Pulp as a Fat Substitute in the Production of Low Fat Mayonnaise</b>                                                                                         | 247 |
| A. Mansouri Yarahmadi, P. Rajaei, S. Movahed                                                                                                                                                                   |     |
| <b>Identification of Bioactive Compounds in the Extracts of Brown Algae <i>Sargassum angustifolium</i> and <i>Padina distromatic</i> and Evaluation of Antimicrobial, Antioxidant and Enzymatic Properties</b> | 259 |
| Kh. Shirani-Bidabadi, Sh. Safaeian, R. Mousavi-Nodoshan, N. Rahimifard                                                                                                                                         |     |
| <b>Investigating the Effect of Roasting Temperature and Storage Time of Hazelnut Seed on the Color and Quality of its Dough</b>                                                                                | 279 |
| S.H. Seyed Qavami, A. Nasrollah Zadeh                                                                                                                                                                          |     |
| <b>Effect of Tragacanth Gum and Wheat Starch as a Substitute for Gelatin on Rheological, Physical and Sensory Properties of Dairy Dessert</b>                                                                  | 291 |
| F. Yousafzadeh-M. Taghizadeh                                                                                                                                                                                   |     |
| <b>Isolation and Characterization of <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> Bacteriocin from Fruit-based Fermented Products and its Comparison with Commercial Nisin</b>                                         | 311 |
| M. Noktehsanj Avval, M. Hosseinienezhad, A. Pahlavanlo, H.B. Ghoddusi                                                                                                                                          |     |
| <b>Evaluation the Effect of Wheat Germ Fermentation Using Yeast and Lactic Acid Bacteria on the Bioactive Compounds</b>                                                                                        | 333 |
| E. Bayat asl, M. Mousavinasab, M. Fazaeli                                                                                                                                                                      |     |
| <b>Investigation of Quality and Shelf Life of Marinated Chicken Meat by Asymmetric and Symmetric Multivariate Methods</b>                                                                                      | 349 |
| S. Gheibi, A. Pourfarzad, A. Rastkar Allahverdizadeh                                                                                                                                                           |     |
| <b>Effect of Ultrasonic Waves on Structural, Functional and Rheological Properties of Locust Bean Gum</b>                                                                                                      | 365 |
| S. Farizadeh, H. Abbasi                                                                                                                                                                                        |     |
| <b>Investigation of the Impact of Gallic Acid, Methyl Gallate and their Combination on the Oxidative Stability of Frying Oli</b>                                                                               | 383 |
| M. Hosseinkhani Abadchi, R. Farhoosh                                                                                                                                                                           |     |

# Iranian Food Science and Technology Research Journal

Vol. 19

No. 2

2023

**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       |
| Almasi, H.          | Assoc. Prof. in Nanotechnology    |
| Fathi, M.           | Assoc. Prof. in Nanotechnology    |
| Abbasi, S.          | Prof. in Food Engineering         |
| Borges, N.          | 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](http://jm.um.ac.ir/index.php/food_tech/index)

This journal is indexed in ISC, SID, and MAGIRAN.



## Contents

|                                                                                                                                                                                                                               |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Evaluation of Ethyl Oleate, Sodium Chloride and Blanching Pretreatments on Vacuum Drying of Sweet Pepper (<i>Capsicum annuum</i>)</b> .....                                                                                | 195 |
| N. Alirezaloo, N. Asefi, P. Barman Veisi, H. Soraiyay Zafar                                                                                                                                                                   |     |
| <b>The Effect of Non-thermal Plasma on Improvement of Functional Properties of Sorghum Starch</b> ....                                                                                                                        | 217 |
| F. Shokrollahi, F. Shahidi, M.J. Varidi, A. Koocheki, F. Sohbatazadeh                                                                                                                                                         |     |
| <b>Preparation of Liposomal Nanoparticles Containing <i>Ziziphora tenuifolia</i> Essential Oil and Evaluation of its Antimicrobial Effects</b> .....                                                                          | 231 |
| N. Jafarian, A. Akhondzadeh Basti, H. Emtiazi                                                                                                                                                                                 |     |
| <b>Utilization of Fiber Obtained from Barley Malt Pulp as a Fat Substitute in the Production of Low Fat Mayonnaise</b> .....                                                                                                  | 247 |
| A. Mansouri Yarahmadi, P. Rajaei, S. Movahed                                                                                                                                                                                  |     |
| <b>Identification of Bioactive Compounds in the Extracts of Brown Algae <i>Sargassum angustifolium</i> and <i>Padina (Padina distromatic)</i> and Evaluation of Antimicrobial, Antioxidant and Enzymatic Properties</b> ..... | 259 |
| Kh. Shirani-Bidabadi, Sh. Safaeian, R. Mousavi-Nodoshan, N. Rahimifard                                                                                                                                                        |     |
| <b>Investigating the Effect of Roasting Temperature and Storage Time of Hazelnut Seed on the Color and Quality of its Dough</b> .....                                                                                         | 279 |
| S.H. Seyed Qavami, A. Nasrollah Zadeh                                                                                                                                                                                         |     |
| <b>Effect of Tragacanth Gum and Wheat Starch as a Substitute for Gelatin on Rheological, Physical and Sensory Properties of Dairy Dessert</b> .....                                                                           | 291 |
| F. Yousafzadeh-M. Taghizadeh                                                                                                                                                                                                  |     |
| <b>Isolation and Characterization of <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> Bacteriocin from Fruit-based Fermented Products and its Comparison with Commercial Nisin</b> .....                                                  | 311 |
| M. Noktehsanj Avval, M. Hosseini-neshad, A. Pahlavanlo, H.B. Ghodousi                                                                                                                                                         |     |
| <b>Evaluation the Effect of Wheat Germ Fermentation Using Yeast and Lactic Acid Bacteria on the Bioactive Compounds</b> .....                                                                                                 | 333 |
| E. Bayat asl, M. Mousavinasab, M. Fazaeli                                                                                                                                                                                     |     |
| <b>Investigation of Quality and Shelf Life of Marinated Chicken Meat by Asymmetric and Symmetric Multivariate Methods</b> .....                                                                                               | 349 |
| S. Gheibi, A. Pourfarzad, A. Rastkar Allahverdizadeh                                                                                                                                                                          |     |
| <b>Effect of Ultrasonic Waves on Structural, Functional and Rheological Properties of Locust Bean Gum</b> .....                                                                                                               | 365 |
| S. Farizadeh, H. Abbasi                                                                                                                                                                                                       |     |
| <b>Investigation of the Impact of Gallic Acid, Methyl Gallate and their Combination on the Oxidative Stability of Frying Oil</b> .....                                                                                        | 383 |
| M. Hosseinkhani Abadchi, R. Farhoosh                                                                                                                                                                                          |     |