

شاپا: ۱۷۳۵-۴۱۶۱

شماره پیاپی ۸۵

عنوان مقالات

- ۳ بررسی اثر پوشش خوراکی چندلایه کیتوزان/پکتین حاوی میکروکپسول‌های اسانس‌های دارچین یا آویشن در افزایش زمان ماندگاری پس از برداشت خیار..... شهره نیکخواه - فخری شهیدی - محبت محبی - فریده طباطبایی یزدی
- ۲۱ بررسی اثر روش تولید و کاربرد همزمان کنسانتره پروتئین آب پنیر و آنزیم ترانس گلوتامیناز بر ویژگی‌های رئولوژیکی و ریزساختاری دوغ..... محمد هادیان - مصطفی مظاهری طهرانی - محسن قدس روحانی
- ۳۷ عصاره اتانولی ریشه گیاه کهورک: تعیین فنول و فلاونوئید کل، توانایی رادیکال گیرندگی و اثر ضد میکروبی آن بر برخی از باکتری‌های عامل عفونت و مسمومیت غذایی..... بهروز علیزاده بهبهانی - مصطفی رحمتی جنیدآباد - محمد نوشاد
- ۴۹ ارزیابی ویژگی‌های کمی و کیفی ناگت مرغ بدون گلوتن حاوی آرد کینوا و هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC)..... غزاله شکاری - الناز میلانی - الهام آذرپژوه
- ۶۵ ارزیابی فرآیند حباب‌زایی در کاهش گرفتگی غشاء فرابالایش و کارایی آن طی تصفیه شربت خام چغندر..... مصطفی سلیمانی - وحید حکیم‌زاده - مصطفی شهیدی نوقایی - اکرم آریان فر
- ۷۷ ارزیابی خواص شیمیایی و حسی سوسیس آلمانی کم‌چرب تولید شده توسط مالتودکسترین..... مریم خسروانی - سید معین نظری - غلامحسن اسدی
- ۸۷ مدل‌سازی انتقال حرارت در کنسرو حاوی عصاره مالت در بسته‌بندی نیمه‌سخت بر پایه آلومینیوم..... سعیده حمیدی - نفیسه زمین‌دار - نیره قلی‌پور شهرکی
- ۱۰۳ اثر استفاده از آستاگزانتین میکروکپسول‌های هماتوکوبک هماتوکوبکس پلوویالیس در دو فرم آزاد و نانو کپسول‌های حامل در فرمولاسیون رب گوجه فرنگی و ارزیابی خصوصیات میکروبی و کیفی محصول طی نگهداری در دمای یخچال..... سهیل ریحانی پول - سکیته یگانه - زینب رفتی امیری
- ۱۲۱ ارزیابی کاربرد باکتری‌های اسید لاکتیک در حذف فلزات سنگین از محلول‌های آبی و سبزیجات برگ‌دار خوراکی..... مهدیه مستفیدی - محمدرضا سنجابی - ناهید مژگانی - سهیل اسکندری - سپیده اریایی بیدگلی
- ۱۳۷ تولید و ارزیابی نانوکیتوزوم کافئین و پودر نوشیدنی فوری غنی‌سازی شده با آن..... رضوان شاددل - شادی رجیبی مقدم

ادامه فهرست داخل جلد

نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران

با شماره پروانه ۱۳۴/۸۴۷ و درجه علمی-پژوهشی شماره ۳/۱۱/۸۱۰ از وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
"براساس مصوبه وزارت عتف از سال ۱۳۹۸، کلیه نشریات دارای درجه "علمی-پژوهشی" به نشریه "علمی" تغییر نام یافتند."

فروردین - اردیبهشت ۱۴۰۳

شماره ۱

جلد ۲۰

صاحب امتیاز: دانشگاه فردوسی مشهد
مدیر مسئول: دکتر ناصر شهنوشی
سردبیر: دکتر مسعود باورمنش

استاد، اقتصاد کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
دانشیار، میکروبیولوژی و بیوتکنولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد

اعضای هیئت تحریریه:

دکتر سید علی مرتضوی
دکتر فخری شهیدی
دکتر محمدباقر حبیبی نجفی
دکتر مرتضی خمیری
دکتر سید محمد علی رضوی
دکتر رضا فرحوش
دکتر بی بی صدیقه فضلای بزاز
دکتر مهدی کاشانی نژاد
دکتر آرش کوچکی
دکتر محبت محبی
دکتر بابک قنبرزاده
دکتر ایران عالمزاده
دکتر قدیر رجبزاده اوغاز
دکتر مهیار حیدرپور
دکتر حمید بهادر قدوسی
دکتر کیانوش خسروی
دکتر مرتضی عباسزادگان
دکتر محمدمامین محمدی فر
دکتر منوچهر وثوقی
دکتر هادی الماسی
دکتر میلاد فتحی
دکتر سلیمان عباسی
دکتر نونو بورخس
دکتر علی عطا معظمی
دکتر کلیفورد نکمناسو اوبی
دکتر ساموئل ایوفمی اولالکان آدیبه

استاد، میکروبیولوژی و بیوتکنولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد
استاد، میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد
استاد، میکروبیولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد
دانشیار، میکروبیولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
استاد، مهندسی و خواص بیوفیزیک مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد
استاد، شیمی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد
استاد، میکروبیولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
استاد، مهندسی مواد غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
استاد، تکنولوژی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد
استاد، مهندسی مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد
استاد، مهندسی مواد غذایی، دانشگاه تبریز
استاد، بیوتکنولوژی مواد غذایی، دانشگاه صنعتی شریف
دانشیار، نانو فناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد
دانشیار، زیست مولکولی، بیمارستان زنان و بزرگام، ایالت متحده آمریکا
دانشیار، میکروبیولوژی غذایی، دانشگاه متروپولیتن لندن
استاد، بیوتکنولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
استاد، مهندسی عمران و محیط زیست، دانشگاه آریزونا
استاد، مهندسی تولید مواد غذایی، دانشگاه فنی دانمارک
استاد، بیوتکنولوژی مواد غذایی، دانشگاه صنعتی شریف
دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه صنعتی اصفهان
استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تربیت مدرس.
استاد، گروه علوم تغذیه و مواد غذایی، دانشگاه پورتو، پرتغال
دانشیار، گروه علوم مولکولی، دانشکده منابع طبیعی و علوم کشاورزی، دانشگاه سوئد
دانشیار گروه میکروبیولوژی، دانشگاه کشاورزی مایکل اوکپارا، ایالت ابیا، نیجریه
دانشیار گروه فناوری غذایی، مؤسسه تکنولوژی و علم هندوستان، چنای، تامیل نادو، هند

ناشر: دانشگاه فردوسی مشهد

این نشریه در پایگاه‌های زیر نمایه شده است:

AGRIS, CABI, DOAJ, EBSCO, Google scholar, Internet Archive, پایگاه استنادی جهان اسلام (ISC), سامانه نشریات علمی ایران, پایگاه اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی (SID), بانک اطلاعات نشریات کشور (MAGRAN), مرجع دانش CIVILICA

پست الکترونیکی: ifstrj@um.ac.ir

مقالات این شماره در سایت <https://ifstrj.um.ac.ir> به صورت مقاله کامل نمایه شده است.

این نشریه به تعداد ۶ شماره در سال و به صورت آنلاین منتشر می‌شود.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

مندرجات

- ۳ بررسی اثر پوشش خوراکی چندلایه کیتوزان/پکتین حاوی میکروکپسول‌های اسانس‌های دارچین یا آویشن در افزایش زمان ماندگاری پس از برداشت خیار
شهره نیکخواه - فخری شهیدی - محبت محبی - فریده طباطبایی یزدی
- ۲۱ بررسی اثر روش تولید و کاربرد همزمان کنسانتره پروتئین آب پنیر و آنزیم ترانس گلوکزامیناز بر ویژگی‌های رئولوژیکی و ریزساختاری دوغ
محمد هادیان - مصطفی مظاهری طهرانی - محسن قدس روحانی
- ۳۷ عصاره اتانولی ریشه گیاه کهورک: تعیین فنول و فلاونوئید کل، توانایی رادیکال گیرندگی و اثر ضد میکروبی آن بر برخی از باکتری‌های عامل عفونت و مسمومیت غذایی
بهروز علیزاده بهبهانی - مصطفی رحمتی جنیدآباد - محمد نوشاد
- ۴۹ ارزیابی ویژگی‌های کمی و کیفی ناگت مرغ بدون گلوتن حاوی آرد کینوا و هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC)
غزاله شکاری - الناز میلانی - الهام آذرپژوه
- ۶۵ ارزیابی فرآیند حباب‌زایی در کاهش گرفتگی غشاء فرابالایش و کارایی آن طی تصفیه شربت خام چغندر
مصطفی سلیمانی - وحید حکیم‌زاده - مصطفی شهیدی نوقایی - اکرم آریان فر
- ۷۷ ارزیابی خواص شیمیایی و حسی سوسیس آلمانی کم‌چرب تولید شده توسط مالتودکسترین
مریم خسروانی - سید معین نظری - غلامحسین اسدی
- ۸۷ مدل‌سازی انتقال حرارت در کنسرو حاوی عصاره مالت در بسته‌بندی نیمه‌سخت بر پایه آلومینیوم
سعیده حمیدی - نفیسه زمین‌دار - نیره قلی‌پور شهرکی
- ۱۰۳ اثر استفاده از آستاگزانتین میکروجلبک هماتوکوکوس پلوویالیس در دو فرم آزاد و نانو کپسول‌های حامل در فرمولاسیون رب گوجه فرنگی و ارزیابی خصوصیات میکروبی و کیفی محصول طی نگهداری در دمای یخچال
سهیل ریحانی پول - سکینه یگانه - زینب رفتنی امیری
- ۱۲۱ ارزیابی کاربرد باکتری‌های اسید لاکتیک در حذف فلزات سنگین از محلول‌های آبی و سبزیجات برگ‌دار خوراکی
مهديه مستفیدی - محمدرضا سنجابی - ناهید مژگانی - سهیل اسکندری - سپیده اربابی بیدگلی
- ۱۳۷ تولید و ارزیابی نانو کیتوزوم کافئین و پودر نوشیدنی فوری غنی‌سازی شده با آن
رضوان شاددل - شادی رجبی مقدم
- ۱۵۵ مقایسه تأثیر افزودن پودر جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس (*Spirulina platensis*) روی خواص حسی، فیزیکی، پروتئین و آهن سه فرآورده مختلف صنعتی نان، کیک و شیرینی لایه‌ای
یزدان مرادی - منصوره قاننی - حاله حدائق
- ۱۶۷ "مروری بر استفاده از ریز جلبک‌ها به‌عنوان حسگرهای زیستی برای شناسایی آلاینده‌های زیست‌محیطی و بسته‌بندی‌های هوشمند مواد غذایی"
بهاره نوروزی



Evaluation of the Effect of Chitosan/Pectin Multi Layer Edible Coating Containing Microencapsulated Cinnamon or Thyme Essential Oils on Increasing the Postharvest Shelf Life of Cucumber

Sh. Nikkhah¹, F. Shahidi^{2*}, M. Mohebbi^{2*}, F. Tabatabayi Yazdi²

1 and 2- Ph.D. Graduated Student and Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.

(* Corresponding Authors Email: fshahidi@um.ac.ir & m-mohebbi@um.ac.ir)

Received: 13.02.2022
Revised: 27.02.2022
Accepted: 06.03.2022
Available Online: 15.05.2022

How to cite this article:

Nikkhah, Sh., Shahidi, F., Mohebbi, M., & Tabatabayi Yazdi, F. (2024). Evaluation of the effect of chitosan/ pectin multi layer edible coating containing microencapsulated cinnamon or thyme essential oils on increasing the postharvest shelf life of cucumber. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 20(1), 1-18. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.75208.1146>

Introduction

Cucumber is an economically important crop, containing vitamins, minerals, antioxidants, and flavonoids. However, due to loss of weight and firmness, microbial contamination, mechanical damage, and yellowing, the storage duration of cucumber is limited to 3–5 days at room temperature. Therefore, pretreatments are crucial for prolonging its shelf life. Chitosan is a cationic polysaccharide and can interact electrostatically with anionic, partially demethylated pectin. Besides, chitosan has inhibitory effects on fungal rot and prevents weight loss in fruits. Pectin can form excellent films. Because of increasing demand to reduce synthetic chemicals as antimicrobial agents, substances derived from plants, such as essential oils, can play a significant role in the future. Several essential oils and essential oil components have shown antimicrobial activity against spoilage and pathogenic microorganisms during fruit and vegetable storage. Essential oils of thyme and cinnamon contained phenolic groups have been found to be most consistently effective against microorganisms, however, essential oils are volatile and irritant. Therefore, forming an inclusion complex using β -cyclodextrin can improve solubility, control volatile, and induce off-flavors and unpleasant odor of the essential oils. The objectives of this study were to develop the microencapsulated thymol (thyme) and trans-cinnamaldehyde (cinnamon) essential oils to produce antimicrobial agents and subsequently evaluate the effectiveness of edible coating made of chitosan and pectin containing microencapsulated trans-cinnamaldehyde or thymol essential oils to improve qualitative and quantitative characteristics and shelf life of cucumber.

Materials and Methods

The inclusion complexes of trans-cinnamaldehyde and thymol in beta-cyclodextrin (CD) were prepared separately by freeze-drying. Each essential oil was dispersed in 1000 ml of beta-cyclodextrin aqueous solution (16 mmol/L, 18.15 g) in molecular ratio 1:1 (2.4 gr thymol, 2.11 gr trans-cinnamaldehyde) and mixed in a laboratory stirrer for 24 hour at room temperature, then frozen (-70 °C) and freeze-dried (<20Pa, 48 h). Lyophilized samples were stored inside a freezer (-20 °C) until further use. Cucumbers cv. Nagene with uniform size, appearance, ripeness and without mechanical damage or fungal contamination were selected. Then They were then sanitized by immersion in chlorine solution (150 mg/kg) for 1 min and air dried. Edible coatings were prepared as three immersion solutions of chitosan, pectin, and calcium chloride (CaCl₂). The fruits were coated with pectin (1%) and chitosan (0-0.5%-1%) containing beta-cyclodextrin microencapsulated trans-Cinnamaldehyde or thymol each (0-0.25%-0.5%). After coating by chitosan, the fruits were immersed in 1% Calcium chloride solution to induce crosslinking reaction. After dipping step, fruits dried for 8 minutes



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.75208.1146>

at room temperature to remove the excess solution attached to the surface. Uncoated fruits served as control. Then fruits were preserved in cold storage (temperature: 10°C; relative humidity: 90-95%) for 15 days. chemical (total soluble solids, titratable acidity) and physical (total color difference, Hardness, and weight loss) Characterization of fruits were measured immediately after harvest and after 5, 10 and 15 days. Microbial tests (total count, mold, and yeast) were done at the end of preservation time. Analytical data were subjected to analysis of variance and factorial adopted completely randomized design and a Duncan comparison test was used.

Results and Discussion

The results showed that weight loss, total soluble solids, and the total color difference increased and hardness and titratable acidity decreased gradually in all samples during cold storage (<0.05). Chitosan and essential oils slowed down this rising or decreasing trends. Interactive effects of chitosan, essential oil type, essential oil concentration, and storage time had positive effects on these quality attributes. The fruits coated with the highest concentration of chitosan (1%) and thymol (0.5%) essential oils showed the least weight loss, loss of hardness, and color change throughout 15 days of storage. Besides thymol in comparison with trans-Cinnamaldehyde was more efficient to prevent yeasts and molds on the surface of cucumber. By increasing chitosan and essential oil amounts, the ability of inhibiting microbial growth by coating is enhanced.

Conclusion

The results of chemical, physical and microbial tests, showed that multi-layer coating solution containing chitosan 1% with thymol 0.5% was effective in extending the shelf life of cucumber. The combined usage of microencapsulated thymol essential oil and chitosan-based coating on cucumber could be considered a healthy and effective treatment that reduces microbial spoilage and preserves quality and color characteristics in cucumber and represents an innovative method for commercial application. Therefore, this coating can be used as an alternative to chemical fungicides to prevent fungal rot of cucumber and other fruits, however, it is suggested that more studies should be done in this field.

Keywords: Cucumber, Edible coating, Chitosan, Essential oils, Shelf life

مقاله پژوهشی

جلد ۲۰، شماره ۱، فروردین-اردیبهشت ۱۴۰۳، ص. ۱۸-۱

بررسی اثر پوشش خوراکی چندلایه کیتوزان/پکتین حاوی میکروکپسول‌های اسانس‌های دارچین یا آویشن در افزایش زمان ماندگاری پس از برداشت خیار

شهره نیکخواه^۱ - فخری شهیدی^۲ ID* - محبت محبی^۲ ID* - فریده طباطبایی یزدی^۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۱۵

چکیده

هدف از این پژوهش استفاده از پوشش خوراکی چندلایه کیتوزان و پکتین حاوی میکروکپسول‌های بتاسیکلودکستین حاوی اسانس‌های ترانس سینامالدهید (دارچین) یا تیمول (آویشن) جهت افزایش زمان ماندگاری و حفظ کیفیت پس از برداشت میوه خیار بود. نمونه‌های خیار با پکتین (۱ درصد) و کیتوزان (صفر، ۰/۵ و ۱ درصد) حاوی غلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد) از اسانس‌های میکروانکپسوله شده ترانس سینامالدهید یا تیمول پوشش داده شدند. سپس در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۰ تا ۹۵ درصد، به مدت ۱۵ روز نگهداری گردیدند. ویژگی‌های شیمیایی (مواد جامد محلول، اسیدیته قابل تیتر) و فیزیکی (رنگ، بافت و کاهش وزن) نمونه‌های خیار در تناوب‌های زمانی پنج روزه (روز ۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ام) بررسی شدند. آزمایش‌های میکروبی در پایان زمان نگهداری انجام پذیرفت. آنالیز آماری براساس آزمون فاکتوریل ۴ فاکتوره با طرح کاملاً تصادفی انجام شد. در مدت نگهداری خیار در انبار سرد، میزان کاهش وزن و مواد جامد محلول در آب و تفاوت رنگی کل در میوه روند افزایشی و میزان اسیدیته قابل تیتر و سفتی بافت روند کاهشی داشت. نمونه‌های پوشش داده شده با بالاترین غلظت کیتوزان (۱ درصد) و اسانس (۰/۵ درصد)، کمترین درصد افت وزنی، افت سفتی و تغییر رنگ را در طول دوره ۱۵ روزه نگهداری نشان دادند. با افزایش غلظت کیتوزان و غلظت اسانس روغنی، توانایی فیلم خوراکی در ممانعت از رشد میکروارگانیسم‌ها افزایش یافت. تیمول در مقایسه با ترانس سینامالدهید توانایی بیشتری در ممانعت از رشد کپک و مخمر در سطح خیار نشان داد. به‌طور کلی با توجه به نتایج آزمایش‌های شیمیایی، فیزیکی و میکروبی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که پوشش چندلایه حاوی کیتوزان ۱ درصد و تیمول ۰/۵ درصد برای افزایش زمان ماندگاری پس از برداشت میوه خیار مؤثر بوده است.

واژه‌های کلیدی: اسانس روغنی، پوشش خوراکی، خیار، زمان ماندگاری، کیتوزان

مقدمه

خوراکی برای افزایش عمر مفید خیار تازه مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Moalemiyan; Adetunji *et al.*, 2014; Maleki *et al.*, 2018) نتایج پژوهش‌های پیشین مخلوط کردن ۲ تا ۳ بیوپلیمر برای ایجاد پوشش‌های چندلایه یک راه‌کار مناسب در جهت بهبود ویژگی‌های تشکیل فیلم و کارایی کلی پوشش‌های کامپوزیتی است (Sarker *et al.*, 2021). سید لویز و همکاران (Cid-Lopez *et al.*, 2021)، از ترکیب پلی وینیل الکل و پلی وینیل استات حاوی کلرور کلسیم جهت

خیار با نام علمی *Cucumis sativus* L. یک محصول کشاورزی بسیار محبوب و در دسترس در سراسر جهان است، اما ماندگاری آن به دلیل واکنش‌های نامطلوب پس از برداشت از جمله از دست دادن آب، چروکیدگی، زرد شدن و فساد قارچی بسیار کمتر از ۱۴ روز می‌باشد (Maleki *et al.*, 2018). استفاده از پوشش‌های خوراکی برای بسته‌بندی محصولات کشاورزی علاوه بر ممانعت از خروج رطوبت و ترکیبات فرار، سبب حفظ محصول در برابر آسیب‌های فیزیکی نیز می‌شود (Lin & Zhao, 2007). تاکنون انواع متنوعی از پوشش‌های

۱ و ۲ - به ترتیب دانش آموخته دکتری و استاد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(Email: fshahidi@um.ac.ir & m-mohebbi@um.ac.ir)

(* - نویسندگان مسئول)

تحويل کنترل شده ترکیبات زیست فعال و مواد مغذی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Mohammadian *et al.*, 2020). سیکلودکسترین‌ها از نظر فیزیکی و شیمیایی مولکول‌های باثباتی هستند و از تغییر شکل آنزیمی نشاسته به دست می‌آیند. سیکلودکسترین‌ها با ریزپوشانی کردن مولکول‌های آب‌گریز با اندازه مناسب در حفره داخلی نسبتاً آب‌گریز خود سبب افزایش حلالیت و پایداری این مواد زیستی می‌شوند و از تغییرات آن‌ها در اثر اکسیداسیون، نور و گرما محافظت می‌کنند و از ایجاد بو یا طعم نامطبوع نیز جلوگیری می‌نمایند (Mourtzinis *et al.*, 2008).

سیمی اوناتو و همکاران (Simionato *et al.*, 2019)، ریزپوشانی اسانس روغنی دارچین در نانواسفنج‌های پلیمری بر پایه سیکلودکسترین را جهت کاربرد در بسته‌بندی ضد میکروبی مواد غذایی مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج این تحقیق نشان داد اسانس روغنی ریزپوشانی شده دارای قدرت ضد میکروبی بر علیه طیفی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا با منشأ غذایی است. همچنین ریزپوشانی به دلیل فراهم آوردن رهایش کنترل شده‌ی اسانس روغنی سبب شد در غلظت بسیار پایین‌تر نسبت به اسانس روغنی ریزپوشانی نشده فعالیت ضد میکروبی بالایی داشته باشد. در تحقیق دیگری، سرنا-اسکولانو و همکاران (Serna-Escolano *et al.*, 2019)، ریزپوشانی تیمول و کارواکرول با استفاده از ۲ هیدروکسیل پروپیل بتاسیکلودکسترین به کمک اشعه مایکروویو را مورد ارزیابی قرار دادند و گزارش کردند، تیمول ریزپوشانی شده دارای کارایی بالایی در ممانعت از رشد قارچ *Geotrichum citriaurantii* در مرکبات نسبت به حالت آزاد آن است. شهدادی ساردو و همکاران (Shahdadi Sardo *et al.*, 2017)، از اتم سفر اصلاح شده و پوشش خوراکی کیتوزان برای حفظ ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی و حسی خیار رقم رویال پژوهشی انجام دادند. نتایج آنها نشان داد که سفتی بافت و خواص حسی با افزایش دما و زمان نگهداری کاهش و افت وزن افزایش یافت که منجر به افت کیفیت نمونه‌های خیار طی دوره نگهداری شد. عزیزیان دهکردی و همکاران (Aziziyan Dehkordi *et al.*, 2020) از فیلم حاوی نانو ذرات رس و بسته‌بندی اتم سفر اصلاح شده به منظور کاهش فساد و افزایش عمر ماندگاری برش‌های تازه خیار استفاده کردند و نتیجه گرفتند که این پوشش‌دهنده نسبت به شاهد بار میکروبی برش‌های خیار را کاهش داد و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن‌ها را بهتر حفظ کرد.

خیار به دلیل دارا بودن آب زیاد به سرعت رطوبت خود را از دست می‌دهد و بسیار مستعد چروکیدگی، همچنین حمله میکروارگانیسم‌ها به ویژه قارچ‌ها است. لذا کاهش زمان ماندگاری این محصول، در صادرات

پوشش‌دهی خیار استفاده کردند و در میوه پوشش‌داده شده تغییرات مثبتی در کیفیت ظاهری، رنگ و میزان آنتی‌اکسیدان‌ها مشاهده نمودند. در بین پلیمرهای طبیعی، کیتوزان به دلیل قیمت مناسب، دسترسی آسان، غیرسمی بودن و تجدیدپذیری به گزینه‌ای مناسب برای تولید فیلم بسته‌بندی تبدیل شده است. علاوه بر این، کیتوزان دارای خاصیت ضد میکروبی بر گستره وسیعی از میکروارگانیسم‌ها شامل قارچ‌ها، باکتری‌ها و ویروس‌ها می‌باشد (Rabea *et al.*, 2003). فیلم‌های کیتوزان به منظور استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی باید دارای ویژگی‌های مطلوب مکانیکی و ممانعت‌کنندگی در برابر رطوبت و نور باشند. هرناندز مونوز و همکاران (Hernandez-Munoz *et al.*, 2006)، گزارش کردند که استفاده از پوشش خوراکی کیتوزان سبب کاهش تنفس، تأخیر در پیری، کاهش افت وزن و کاهش پوسیدگی در توت فرنگی می‌گردد. کیتوزان یک پلی‌ساکارید کاتیونیک است که از دی‌استیل‌کردن کیتین به دست می‌آید. این خاصیت کاتیونی امکان ایجاد پیوند الکترواستاتیک با بیوپلیمرهای آنیونی مانند پکتینی که تا حدی دی‌استیل‌شده را فراهم می‌آورد. پکتین و کیتوزان به دلیل واکنش‌های پلی‌الکترولیت بین بارهای متضاد برای ایجاد یک پوشش‌دهنده پایدار و یکنواخت برای این منظور انتخاب می‌شوند (Murodova *et al.*, 2005). پکتین یک هتروپلی‌ساکارید است که از ضایعات کشاورزی که به صورت گسترده‌ای در دسترس می‌باشد استخراج می‌شود و قابلیت تشکیل فیلم خوبی دارد (Murodova *et al.*, 2005).

اسانس‌های روغنی جزو متابولیت‌های ثانویه گیاهی، آب‌گریز و بسیار فرار هستند. اسانس‌های روغنی از نظر تغذیه‌ای به عنوان ترکیبات ایمن شناخته شده (GRAS) طبقه بندی شده‌اند (Smith *et al.*, 2005). این ترکیبات علاوه بر کاربرد وسیعی که به عنوان طعم‌دهنده دارند (Attokaram, 2017)، دارای ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد ویروسی و ضد انگلی هستند (Turek & Stintzing, 2013) که منجر به کاربرد وسیع آن‌ها شده است (Perez-Santaescolastica *et al.*, 2020). اسانس‌های روغنی به دلیل وزن مولکولی کم و در نتیجه فراریت، هنگامی که در معرض شرایط محیطی قرار می‌گیرند، به سرعت تجزیه شده و فاسد می‌شوند. لذا عموماً از اسانس‌های روغنی در ترکیب با یک ماده ثانویه که نقش حامل و محافظت‌کننده را دارد، استفاده می‌شود (Rajabi *et al.*, 2015). تاکنون انواع مختلف بیوپلیمرهای غذایی از جمله پلی‌ساکاریدها، لیپیدها، پروتئین‌ها و ترکیبات آن‌ها، به دلیل ماهیت خوراکی، زیست تخریب‌پذیری، غیرسمی بودن و مقرون به صرفه بودن، برای تولید طیف وسیعی از نانو حامل‌ها جهت محافظت، به دام انداختن، ریزپوشانی و

فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و بعد توسط خشک‌کن انجمادی (فشار کمتر از ۲۰ پاسکال، ۴۸ ساعت) انکپسوله شد (Karathanus et al., 2007; Mantilla et al., 2013; Martinon et al., 2014). نمونه‌های منجمد خشک شده در فریزر (۲۰- درجه سانتی‌گراد) جهت استفاده بعدی نگهداری شدند.

تهیه محلول‌های پوشش

کیتوزان (وزن مولکولی متوسط، کیتین دی‌استیل‌ه شده پلی د- گلوکز آمین، خلوص ۹۵-۹۸ درصد، ویسکوزیته کمتر از ۳۰ میلی پاسکال در ثانیه یا سانتی پواز)، پکتین (اسید گالاکتورونیک بیشتر از ۷۴ درصد براساس میزان ماده خشک) و کلرورکلسیم به‌عنوان پوشش‌دهنده خوراکی به‌صورت محلول تهیه شدند. ابتدا محلول کیتوزان در غلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۵ درصد و ۱ درصد وزنی/حجمی) با حل کردن مقدار مشخصی از آن در محلول اسید استیک (۱ درصد حجمی/حجمی) تهیه گردید. سپس توئین ۸۰ (۰/۵ درصد وزنی/وزنی) به‌عنوان سورفکتانت و گلیسرول (۲ درصد وزنی/وزنی) به‌عنوان پلاستی‌سایزر برای بهبود خواص مکانیکی پوشش‌دهنده به محلول کیتوزان اضافه شد و یکنواخت گردید. پودر ریزپوشانی شده هر یک از اسانس‌های گیاهی در غلظت‌های مختلف (صفر، ۰/۲۵ درصد و ۰/۵ درصد وزنی/وزنی) به محلول کیتوزان اضافه شد. محلول پکتین (۱ درصد وزنی/وزنی) تهیه شده، به‌منظور انحلال کامل، به مدت یک ساعت بر روی همزن مغناطیسی (۷۰ درجه سانتی‌گراد، ۳۰۰ rpm) قرار گرفت. محلول کلرورکلسیم (۱ درصد وزنی/وزنی) برای ایجاد اتصال عرضی در پلیمرها تهیه گردید (Krzemiski et al., 2006).

پوشش‌دهی میوه خیار

نمونه‌ها به مدت ۲ دقیقه به‌ترتیب در هر یک از محلول‌های پکتین، کلرورکلسیم و کیتوزان (حاوی پودر ریزپوشانی شده اسانس‌های گیاهی)، غوطه‌ور شدند. پس از پوشش‌دهی و حذف محلول‌های اضافی، میوه‌ها به‌مدت ۸ دقیقه در دمای اتاق خشک گردیدند. نمونه‌های تیمار شده و نمونه شاهد (پوشش داده‌نشده)، در سینی‌های پلاستیکی که دارای منافذی بودند، بسته‌بندی و در انبار سرد نگهداری شدند (۱۰ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۹۵-۹۰ درصد). ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نمونه‌ها در تناوب‌های زمانی پنج روزه (روز ۰، ۵، ۱۰ و ۱۵) و بار میکروبی در آخرین روز نگهداری ارزیابی گردید.

و عرضه به بازارهای دور دست این محصول، محدودیت ایجاد کرده است. هدف از این پژوهش استفاده از پوشش چند لایه پکتین/کلرورکلسیم/کیتوزان حاوی اسانس‌های روغنی ریزپوشانی شده تیمول یا ترانس‌سینامالدهید برای پوشش‌دهی خیار تازه به‌منظور افزایش زمان ماندگاری و حفظ کیفیت آن بود.

مواد و روش‌ها

مواد و تجهیزات

بتاسیکلودکسترین، ترانس‌سینامالدهید، تیمول، کیتوزان، اسید استیک، پکتین، کلرورکلسیم و دیگر مواد شیمیایی مورد نیاز از شرکت‌های سیگما-آلدیج و مرک، تهیه شدند. دستگاه‌های مورد استفاده شامل: خشک‌کن انجمادی مدل (Beta 2-8 PLUS)، (CHRIST Denmark)، ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم، رفاکتومتر رومیزی مدل (ATAGO 3T.OGAWA Japan)، دستگاه بافت‌سنج مدل (SEIKI, CNS Farnell, Hertfordshire, UK)، اسکنر مدل (Hp Scan Jet G3010, Canada) بودند.

آماده‌سازی میوه خیار

خیار رقم ناگین^۱ از یک توزیع‌کننده محلی، در شهر مشهد تهیه و میوه‌های یکنواخت از نظر اندازه، ظاهر و فاقد صدمه مکانیکی یا آلودگی قارچی جهت پژوهش انتخاب شدند. نمونه‌ها پس از شستشو و ضدعفونی با محلول هیپوکلریت سدیم (با غلظت ۱۵۰ ppm) (Koseki et al., 2004)، دوباره شستشو شده، سپس در جریان ملایم هوا قرار گرفتند تا خشک شوند، تا در مراحل بعدی پوشش‌دهی و بسته‌بندی انجام پذیرد.

ریزپوشانی اسانس‌های روغنی با خشک‌کن انجمادی

اسانس‌های روغنی تیمول و ترانس‌سینامالدهید در بتاسیکلودکسترین، توسط خشک‌کن انجمادی، انکپسوله شدند. در ابتدا دو محلول آبی بتاسیکلودکسترین (۱۶ میلی‌مول بر لیتر ۱۸/۱۵ گرم) با استفاده از آب دیونیزه (pH=۷) تهیه، و به مدت ۲۴ ساعت با همزن مغناطیسی هم‌زده شد. سپس هر کدام از اسانس‌ها جداگانه در یک محلول آبی بتاسیکلودکسترین با نسبت مولکولی ۱:۱ (۱۶ میلی‌مول بر لیتر ۲/۴۰ گرم تیمول، ۲/۱۱ گرم ترانس‌سینامالدهید)، در حضور توئین ۸۰ (۰/۵ درصد) پخش گردیده و حجم محلول به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد و در بشر با پوشش کاغذ آلومینیومی به مدت ۲ ساعت با همزن مغناطیسی هم‌زده شد. سپس محلول به مدت ۲۴ ساعت در

ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و میکروبی نمونه‌های خیار

تعیین مواد جامد محلول در آب

درصد مواد جامد محلول، با استفاده از رفرکتومتر اندازه‌گیری شد (Gelly et al., 2004).

تعیین مقدار اسیدیته قابل تیتر

اسیدیته قابل تیتر، با تیتراسیون توسط سود ۰/۱ نرمال تعیین و بر حسب درصد اسید مالیک محاسبه و گزارش گردید (Gelly et al., 2004).

اندازه‌گیری میزان کاهش وزن

نمونه‌های خیار توسط ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم در ابتدای آزمایش و نیز در فواصل زمانی معین در طول نگهداری توزین و درصد کاهش وزن براساس رابطه ۱ محاسبه گردید:

$$(1) \quad \text{درصد کاهش وزن} = (W_1 - W_2) / W_1 \times 100$$

W_1 وزن اندازه‌گیری شده قبل از نگهداری در انبار و W_2 وزن اندازه‌گیری شده در بازه‌های زمانی مشخص در طی نگهداری در انبار می‌باشد (Chien et al., 2007).

تعیین مؤلفه‌های رنگی

مؤلفه‌های رنگی با استفاده از تکنیک پردازش تصویر مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه‌ها به کمک اسکنر تصویربرداری شدند. به‌منظور جلوگیری از ورود هرگونه نور جانبی، سطح اسکنر با پارچه کاملاً سیاه و ضخیم پوشانیده شد. تصاویر با وضوح 300 dpi و فرمت JPEG ذخیره گردیدند. پس از انتقال تصاویر به رایانه، مختصات رنگی آن‌ها در فضای رنگی $L^* a^* b^*$ با نرم‌افزار Image j (Version 1.40g) استخراج شد. تفاوت رنگی کل که نشان‌دهنده تفاوت رنگی نسبت به زمان صفر است، با استفاده از رابطه ۲ به دست آمد:

$$(2) \quad TCD_{Blank} = \sqrt{(L^* - L^*_0)^2 + (a^* - a^*_0)^2 + (b^* - b^*_0)^2}$$

در این معادله TCD_{Blank} تفاوت رنگ کل نسبت به نمونه شاهد، L^* میانگین روشنایی خیار پوشش‌دهی شده، L^*_0 میانگین روشنایی خیار شاهد، a^* میانگین قرمزی خیار پوشش‌دهی شده، a^*_0 میانگین قرمزی خیار شاهد، b^* میانگین زردی نمونه پوشش‌دهی شده و b^*_0 میانگین زردی نمونه شاهد می‌باشد (McGuire, ; Li et al., 2021).

ارزیابی بافت

به‌منظور ارزیابی میزان سفتی نمونه‌ها در طول دوره نگهداری از دستگاه آنالیز بافت استفاده شد. در این روش نیروی فشاری^۲ توسط یک پروب سوزنی با قطر ۵ میلی‌متر با عمق نفوذ ثابت (۵ میلی‌متر) و با سرعت ۵۰ میلی‌متر بر دقیقه نمونه‌ها را فشرده و سوراخ نمود (Hernandez-Munoz et al., ; Omoba & Onyekwere, 2016).

(2008).

ارزیابی بار میکروبی

آزمایش‌های میکروبی شامل شمارش کل باکتری‌های هوازی با استفاده از محیط کشت پلیت کانت آگار^۳ و روش کشت آمیخته شمارش کلی کپک و مخمر با استفاده از محیط کشت پوتیتودکستروز آگار^۴ و روش کشت سطحی انجام شد. بدین منظور از رقیق‌کننده پیتون‌واتر استفاده گردید. ۱ گرم از نمونه برداشته و به لوله حاوی ۹ میلی‌لیتر محلول پیتون‌واتر استریل اضافه شد و رقت‌های بعدی با استفاده از این رقت ۰/۱ تهیه گردیدند. گرمخانه‌گذاری برای شمارش کل باکتری‌های هوازی (۳۵ درجه سانتی‌گراد، ۴۸ ساعت) و برای کپک و مخمر (۲۵ درجه سانتی‌گراد، ۳ روز) بود. در نهایت تعداد کلنی‌های تشکیل شده مورد بررسی و شمارش قرار گرفتند (ISO ; ISO 4833- 1., 2013).

(21527-1., 2008).

آنالیز آماری

آنالیز آماری با استفاده از آزمایش فاکتوریل چهار فاکتوری در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. آزمایش‌های میکروبی با استفاده از آزمایش فاکتوریل سه فاکتوری در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام پذیرفت. فاکتور A: مدت نگهداری (در چهار سطح، زمان ۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ روز) و فاکتور B: غلظت کیتوزان (در سه سطح ۰، ۰/۵ و ۱ درصد)، فاکتور C: نوع اسانس (در دو سطح اسانس تیمول از آویشن و اسانس ترانس سینامالدهید از دارچین) و فاکتور D: غلظت اسانس میکروکپسوله شده (در سه سطح ۰، ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم در صد گرم محلول پوشش‌دهنده) بود. میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۹۵ درصد مقایسه شدند و بهترین نوع و غلظت اسانس و بهترین غلظت پوشش‌دهنده کیتوزان برای میوه خیار مشخص گردید.

نتایج و بحث

خلاصه نتایج آنالیز واریانس اثرات مدت نگهداری، غلظت پوشش‌دهنده کیتوزان، نوع و غلظت اسانس بر خصوصیات کیفی میوه

خيار در جدول ۱، مشاهده می‌شود. نتایج نشان داد که مدت نگهداری در انبار سرد، غلظت کیتوزان و غلظت اسانس بر اثرات مستقل خصوصیات کیفی میوه خیار (اسیدیته قابل تیتر، مواد جامد محلول در آب، کاهش وزن، سفتی بافت، تفاوت رنگ) تأثیر معنی‌داری داشته است.

جدول ۱- میانگین مربعات غلظت پوشش کیتوزان، نوع و غلظت اسانس و مدت زمان نگهداری بر خصوصیات کیفی میوه خیار

Table 1- Mean square concentration of chitosan coating, type and concentration of essence and storage time on quality characteristics of cucumber fruit

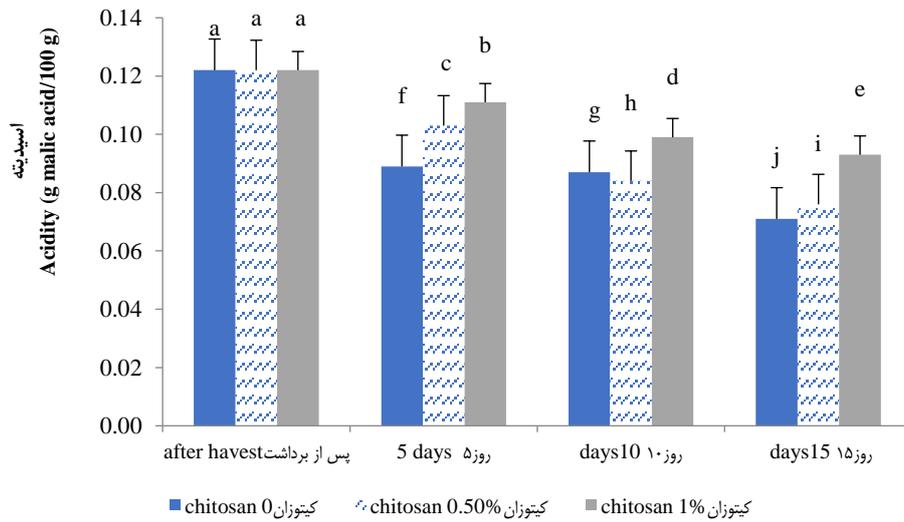
منابع تغییر Sources of variables (SOV)	درجه آزادی Degrees of Freedom	میانگین مربعات Average Squares				
		کاهش وزن Weight Loss (%)	مواد جامد محلول در آب Total Soluble Solids (%)	اسیدیته Acidity (mg malic Acid/100 g)	سفتی بافت Firmness (N)	تفاوت رنگ کل Total Color Difference
مدت نگهداری (A) (Storage Time)	3	106.57**	1.17**	0.018**	386.52**	1897.56**
غلظت کیتوزان (B) (Chitosan Concentration)	2	5.45**	0.17**	0.004**	18.06**	7.23 ^{ns}
اثر متقابل (A*B) Interaction Effect	6	1.06**	0.04**	0.001**	3.64**	12.26**
نوع اسانس (C) (Essence Type)	1	0.076 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.00 ^{ns}	0.00001 ^{ns}	3.51 ^{ns}
اثر متقابل (A*C) Interaction Effect	3	1.28**	0.00 ^{ns}	0.00 ^{ns}	1.59 ^{ns}	4.99 ^{ns}
اثر متقابل (B*C) Interaction Effect	2	0.62**	0.02 ^{ns}	0.00 ^{ns}	7.53**	27.74**
اثر متقابل (A*B*C) Interaction Effect	6	0.31**	0.01 ^{ns}	0.00 ^{ns}	2.08**	27.95**
غلظت اسانس (D) (Essence Concentration)	2	3.21**	0.17**	0.001**	104.50**	20.83**
اثر متقابل (A*D) Interaction Effect	6	1.18**	0.03*	0.0001*	15.71**	96.61**
اثر متقابل (B*D) Interaction Effect (B*D)	4	0.14 ^{ns}	0.02 ^{ns}	0.00 ^{ns}	2.53**	7.70 ^{ns}
اثر متقابل (A*B*D) Interaction Effect	12	1.46**	0.01 ^{ns}	0.00 ^{ns}	2.65**	36.29**
اثر متقابل (C*D) Interaction Effect	2	0.13 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.00 ^{ns}	0.29 ^{ns}	60.13**
اثر متقابل (A*C*D) Interaction Effect	6	0.97**	0.01 ^{ns}	0.00 ^{ns}	0.81 ^{ns}	13.96**
اثر متقابل (B*C*D) Interaction Effect	4	0.16 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.00 ^{ns}	2.19*	85.08**
اثر متقابل (A*B*C*D) Interaction Effect	12	1.11**	0.00 ^{ns}	0.00 ^{ns}	2.37**	14.87**
خطا (Error)	144	0.12	0.01	0.0001	0.72	3.64

*,** and ns: Significant at 5% and 10% levels of probability and non significant, respectively

اسیدیته قابل تیتر

فعالیت‌های متابولیکی میوه و در نتیجه به تعویق افتادن تبدیل اسید به قند در اثر استفاده از پوشش‌دهنده ذکر شده است (Cid-Lopez et al., 2021).

اسیدیته قابل تیتر در همه تیمارها با افزایش مدت نگهداری از صفر تا ۱۵ روز، کاهش یافته بود ($p < 0.05$). با افزایش میزان کیتوزان (شکل ۱) و اسانس (شکل ۲) این روند کاهشی کندتر بوده است. این روند کاهشی در سایر پژوهش‌های مربوط به تأثیر استفاده از پوشش بر اسیدیته قابل تیتر خیار تازه گزارش گردیده و دلیل آن کند شدن

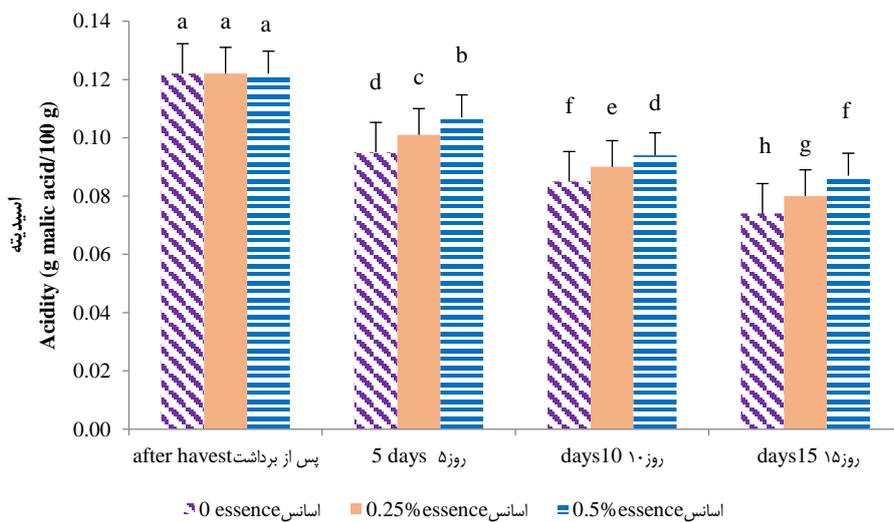


شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف پوشش کیتوزان بر اسیدیته قابل تیتر میوه خیار در طی زمان نگهداری

Fig. 1. Effect of chitosan coating concentration on titratable acidity of cucumber fruit during storage

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است ($p > 0.05$).

The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level ($p < 0.05$).



شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف اسانس بر اسیدیته قابل تیتر میوه خیار در طی زمان نگهداری

Fig. 2. Effect of essence concentration on titratable acidity of cucumber fruit during storage

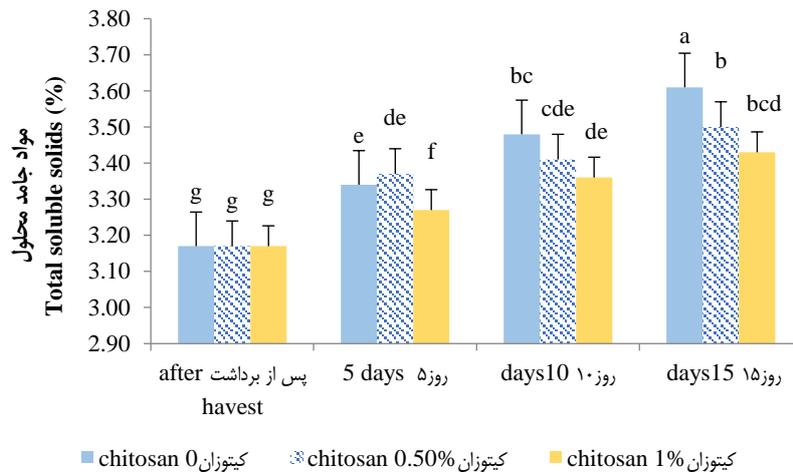
حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است ($p > 0.05$).

The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level ($p < 0.05$).

مواد جامد محلول در آب

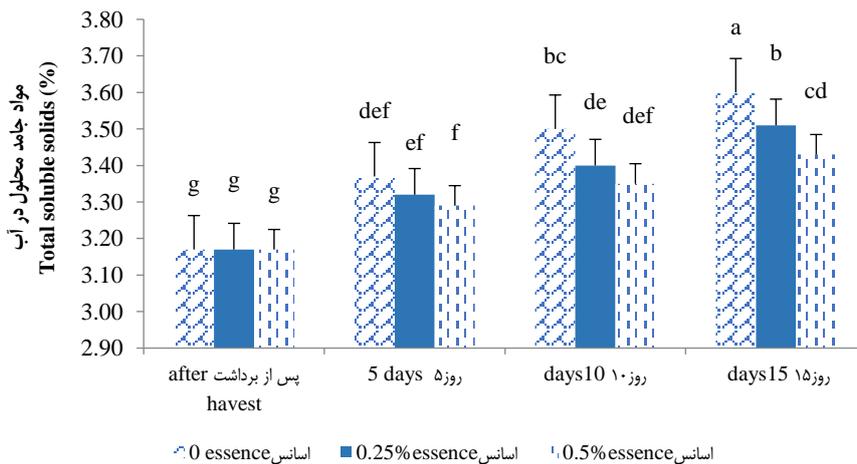
بریکس تمامی نمونه‌ها با افزایش مدت نگهداری، به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرده است ($p < 0.05$). افزایش میزان کیتوزان (شکل ۳) و اسانس (شکل ۴) سبب کندتر کردن این روند افزایشی شده است. در واقع پوشش با کاهش میزان تنفس داخلی میوه، سبب کند شدن تبدیل نشاسته به قندهای ساده و جلوگیری از افزایش شدید میزان مواد جامد محلول می‌گردد (Moalemiyan & Ramaswamy, 2012). ملکی و همکاران (Maleki et al., 2018)، به‌طور مشابه در خصوص تأثیر

پوشش کیتوزان، مدت نگهداری و بسته‌بندی بر میزان مواد جامد محلول در آب خیار بیان نمودند که میزان مواد جامد محلول نمونه‌های خیار پوشش‌داده‌شده با کیتوزان با افزایش مدت نگهداری، به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. نتایج مشابهی بوسیله لی و همکاران (Li et al., 2021)، در خصوص پوشش‌دهی میوه خیار گزارش شده است. این محققان اعلام نمودند که استفاده از اسانس روغنی اوژنول برای پوشش‌دهی خیار، سبب افزایش میزان پاسخ به تنش آن شده و در نتیجه منجر به کاهش پیری میوه می‌گردد.



شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف پوشش کیتوزان بر مواد جامد محلول میوه خیار در طی زمان نگهداری
 Fig. 3. Effect of chitosan coating concentration on total soluble solids of cucumber fruit during storage
 حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است ($p > 0.05$).

The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level ($p < 0.05$).



شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف اسانس بر مواد جامد محلول میوه خیار در طی زمان نگهداری
 Fig. 4. Effect of essence concentration on total soluble solids of cucumber fruit during storage
 حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است ($p > 0.05$).

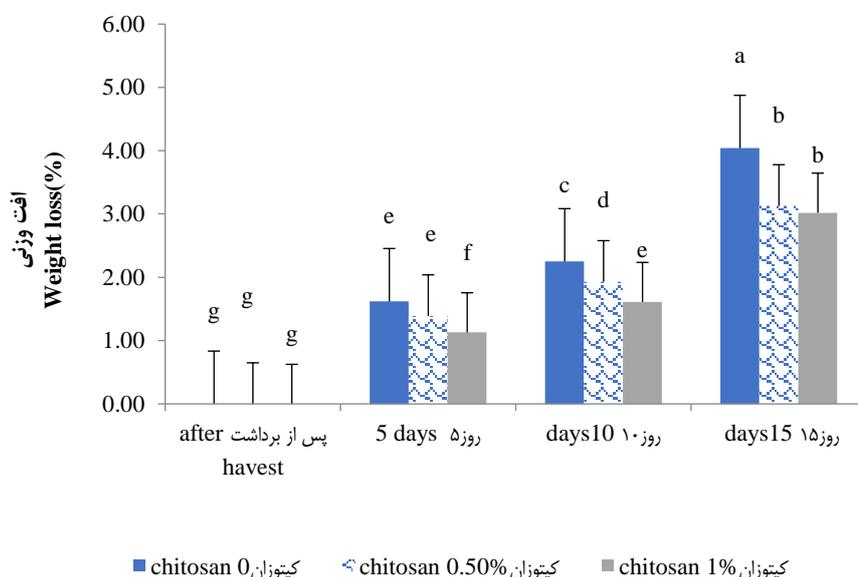
The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level ($p < 0.05$).

افت‌وزنی

با افزایش مدت نگهداری از صفر تا ۱۵ روز، میزان افت‌وزنی بطور معنی‌داری افزایش پیدا کرده است ($p < 0.05$). همان‌طور که مشخص است در همه زمان‌های نگهداری، نمونه‌های حاوی پوشش کیتوزان ۱ درصد، افت‌وزنی کمتری را نسبت به کیتوزان ۰/۵ درصد و نمونه شاهد نشان دادند (شکل ۵). در طی مدت نگهداری، نمونه‌های حاوی اسانس تیمول ۰/۵ درصد دارای کاهش وزن کمتری بودند (شکل ۶). کاهش یافتن میزان افت‌وزنی در نمونه‌های پوشش‌داده شده نسبت به نمونه فاقد پوشش می‌تواند مربوط به ویژگی‌های ممانعت‌کنندگی فیلم دو لایه در برابر اکسیژن، بخار آب و دی‌اکسید کربن باشد، که نهایتاً منجر به کاهش خروج رطوبت خیار در طول نگهداری شده است (Araguez et al., 2020; Boonsiriwit et al., 2020). همسو با این نتایج، لی و همکاران (Li et al., 2021)، گزارش کردند میزان افت‌وزنی نمونه‌های خیار پوشش‌داده شده با پلی‌اسید لاکتیک و ژلاتین حاوی اوژنول ریزپوشانی شده، در مقایسه با نمونه شاهد کمتر می‌باشد. نتایج مشابهی در خصوص سایر میوه‌ها نیز گزارش شده است. به‌عنوان مثال علی و همکاران (Ali et al., 2013)، گزارش کردند که میزان افت‌وزنی در میوه دراگون دارای پوشش دولایه کیتوزان به‌طور معنی‌داری کمتر از نمونه‌های بدون پوشش می‌باشد.

سفتی بافت

سفتی بافت در همه تیمارها با افزایش مدت نگهداری از صفر تا ۱۵ روز، کاهش یافته بود ($p < 0.05$) (شکل ۷). برهم‌کنش پوشش کیتوزان، نوع و غلظت اسانس نشان داد که با افزایش غلظت کیتوزان و اسانس، افت سفتی بافت نمونه‌ها کاهش یافت و نمونه‌های خیار پوشش داده شده با کیتوزان ۱ درصد و اسانس تیمول ۰/۵ درصد دارای سفتی بافت بیشتری بودند (شکل ۸). کاهش سفتی بافت می‌تواند به دلیل نرم‌شدن ساختار بافتی میوه در مدت نگهداری باشد. بافت میوه در ارتباط نزدیک با ساختمان و ترکیبات دیواره سلولی آن است و کاهش سفتی بافت به دلیل کاهش یکپارچگی دیواره سلولی است (Eboibi & Uguru, 2017). لی و همکاران (Li et al., 2021)، گزارش نمودند که سفتی بافت نمونه‌های میوه خیار در طول دوره نگهداری کاهش پیدا کرد، اما نمونه‌های پوشش‌داده شده به‌صورت دولایه با پلی‌اسید لاکتیک و ژلاتین حاوی اوژنول ریزپوشانی شده، دارای بافت سفت‌تری نسبت به نمونه شاهد بودند. نتایج مشابهی توسط ملکی و همکاران (Maleki et al., 2018)، در خصوص نمونه‌های خیار پوشش داده شده با کیتوزان گزارش شده است. این محققان اعلام نمودند که میوه دارای پوشش نسبت به میوه فاقد پوشش از لحاظ آماری سفتی بافت بیشتری را نشان داد.

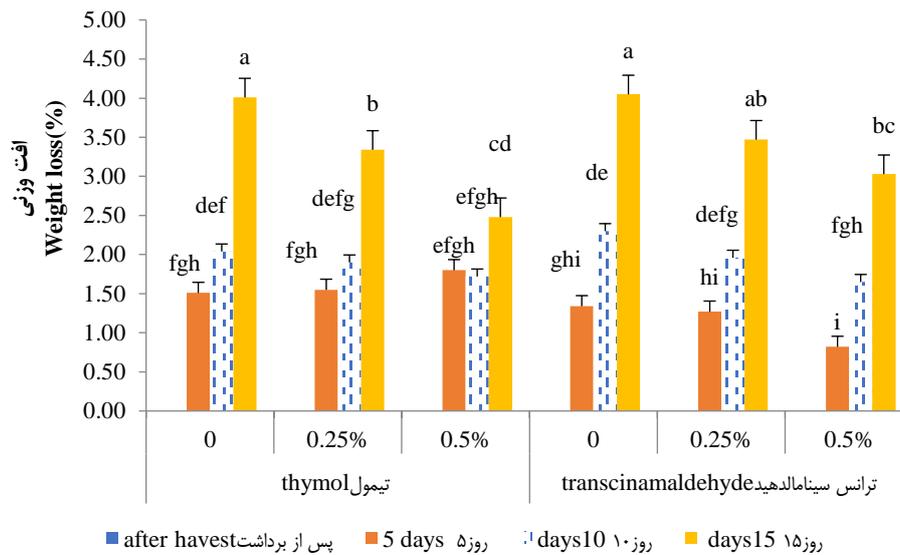


شکل ۵- اثر پوشش‌دهنده کیتوزان بر افت وزنی در میوه خیار در طی زمان نگهداری

Fig. 5. Effect of chitosan coating on weight loss of cucumber fruit during storage

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است ($p > 0.05$).

The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level ($p < 0.05$).

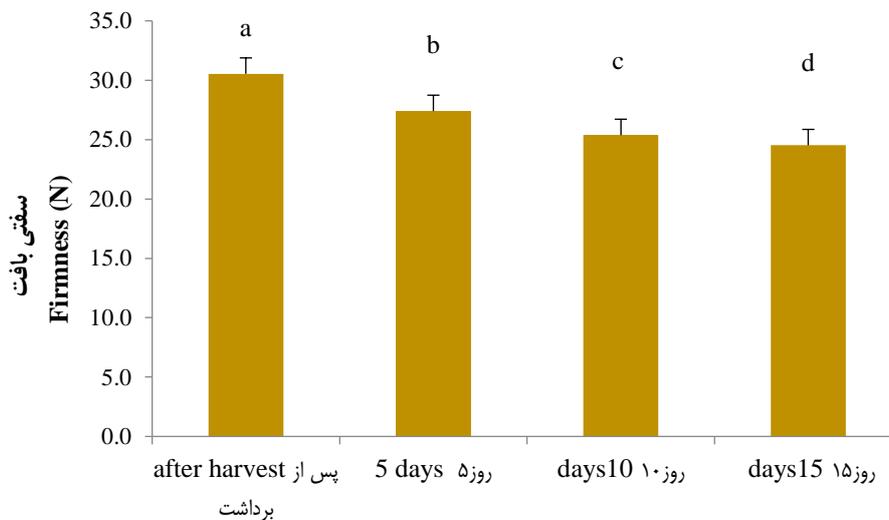


شکل ۶- اثر نوع و غلظت اسانس بر افت وزنی میوه خیار در طی زمان نگهداری

Fig. 6. Effect of essence type and concentration on weight loss of cucumber fruit during storage

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است ($p > 0.05$).

The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level ($p < 0.05$).

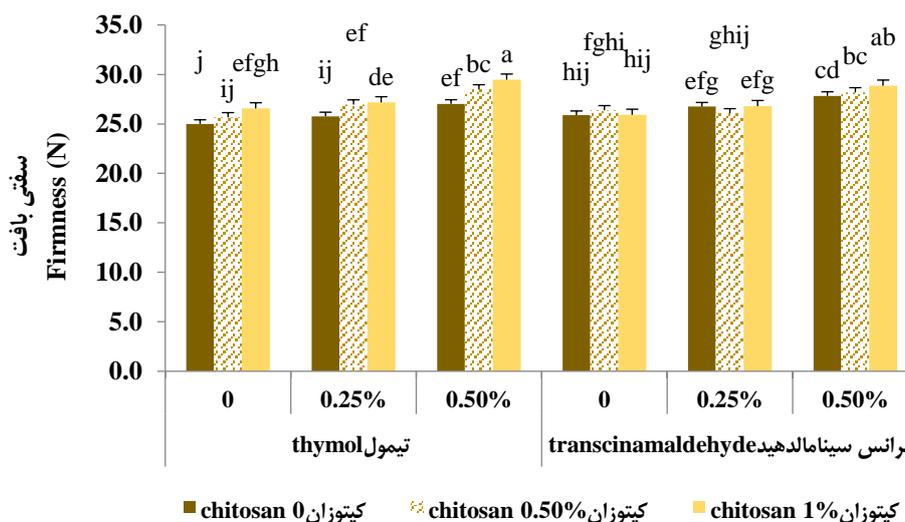


شکل ۷- اثر مستقل مدت نگهداری بر سفتی بافت در میوه خیار

Fig. 7. Independent effect of storage time on fruit flesh firmness in cucumber

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است ($p > 0.05$).

The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level ($p < 0.05$).



شکل ۸- اثر پوشش کیتوزان، نوع و غلظت اسانس بر سفتی بافت در میوه خیار

Fig. 8. Effect of chitosan coating, and essence type and concentration on fruit flesh firmness in cucumber

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است ($p > 0.05$).

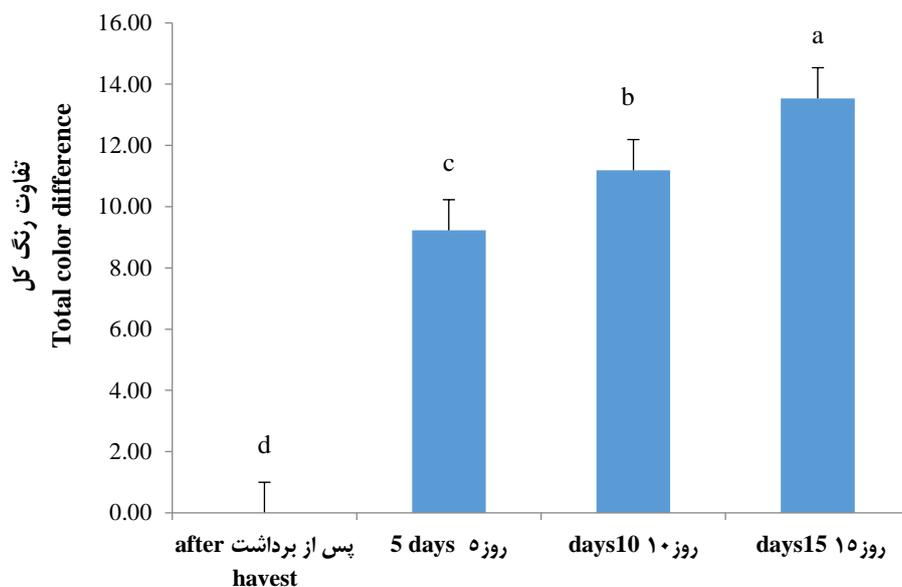
The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level ($p < 0.05$).

بار میکروبی سطح خیار

نتایج آنالیز واریانس اثرات غلظت پوشش کیتوزان، نوع و غلظت اسانس بر ویژگی‌های میکروبی میوه خیار در جدول ۲، نشان داده شده‌است. نتایج نشان داد که غلظت کیتوزان بر میزان شمارش کلی میکروبی و میزان کپک و مخمر اثر معنی‌دار نشان داد ($p < 0.05$). نوع اسانس و غلظت اسانس بر میزان شمارش کلی و کپک و مخمر تأثیر معنی‌داری داشت ($p < 0.05$). همچنین میزان کپک و مخمر با افزایش غلظت کیتوزان و اسانس‌روغنی کاهش یافت (شکل ۱۲). برهم‌کنش نوع و غلظت اسانس نشان داد، اسانس تیمول نسبت به ترانس‌سینامالدهید دارای توانایی بالاتری در مانع از رشد کپک و مخمر بود (شکل ۱۳). به‌علاوه برهم‌کنش غلظت کیتوزان و غلظت اسانس مشخص کرد که افزایش غلظت کیتوزان و اسانس‌روغنی سبب کاهش شمارش کلی میکروبی شد (شکل ۱۴). تیمار خیار با پوشش ۱ درصد کیتوزان + ۰/۵ درصد اسانس، سبب بهبود پایداری میکروبی خیار گردید. مانع از رشد میکروبی در سطح خیار را می‌توان از دو دیدگاه ارزیابی نمود؛ تأثیر کیتوزان و اسانس‌روغنی. محققان مختلف ویژگی ضد میکروبی کیتوزان را بررسی نموده‌اند. مشخص شده است که کیتوزان در مقایسه با سایر پلیمرهای زیستی بر روی طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و کپک و مخمر فعالیت ضد میکروبی دارد (Abdelghany et al., 2019; Goy et al., 2009).

تفاوت رنگ کل

تفاوت رنگ کل در همه تیمارها با افزایش مدت نگهداری از صفر تا ۱۵ روز، افزایش یافت ($p < 0.05$) (شکل ۹). تفاوت رنگ کل تحت تأثیر برهم‌کنش غلظت کیتوزان، نوع و غلظت اسانس بود و نمونه خیار پوشش داده شده با کیتوزان ۱ درصد و اسانس تیمول ۰/۵ درصد دارای تفاوت رنگ کمتری بود (شکل ۱۰). برهم‌کنش مدت نگهداری، نوع و غلظت اسانس بر تفاوت رنگ کل در میوه خیار تأثیر داشت و پس از ۱۵ روز نگهداری در میوه‌های شاهد بیشترین میزان تفاوت رنگ مشاهده شد (شکل ۱۱). رنگ پوست تأثیر مستقیمی بر ارزیابی حسی خیار دارد و از تفاوت رنگ کل برای نشان دادن تغییرات رنگ پوست استفاده می‌شود. پوشش دهی به دلیل ایجاد اتمسفر تغییر یافته بین سطح میوه و پوشش، از تجزیه کلروفیل جلوگیری می‌کند و در نتیجه میزان تغییر رنگ به حداقل می‌رسد (Mohammadi ; Chen et al., 2015; Li et al., 2021). اعلام نمودند که میزان تفاوت رنگ کل در نمونه‌های خیار با گذشت زمان افزایش پیدا کرد، اما تغییر رنگ در نمونه‌های تیمار شده با پوشش دولایه پلی‌اسید لاکتیک و ژلاتین حاوی اوژنول ریزپوشانی شده، به‌طور معنی‌داری کمتر از نمونه‌های شاهد بود. در میوه خیار پوشش داده شده در نانو کیتوزان و ترانس‌سینامالدهید، میزان کلروفیل در پایان مدت زمان نگهداری بیشتر از میوه شاهد بود (Isturiz-Zapata et al., 2020).

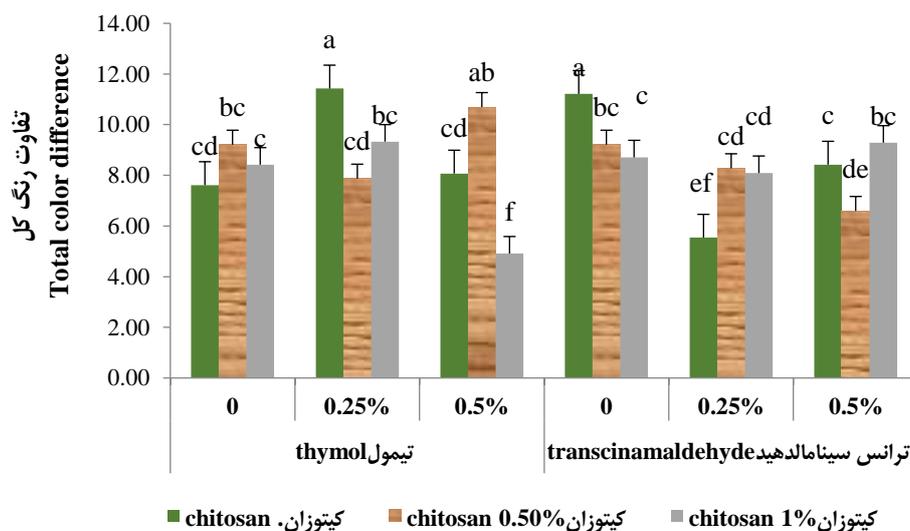


شکل ۹- اثر مستقل مدت نگهداری بر تفاوت رنگ کل در میوه خیار

Fig. 9. Independent effect of storage time on total color difference in cucumber fruit

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است ($p > 0.05$).

The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level ($p < 0.05$).

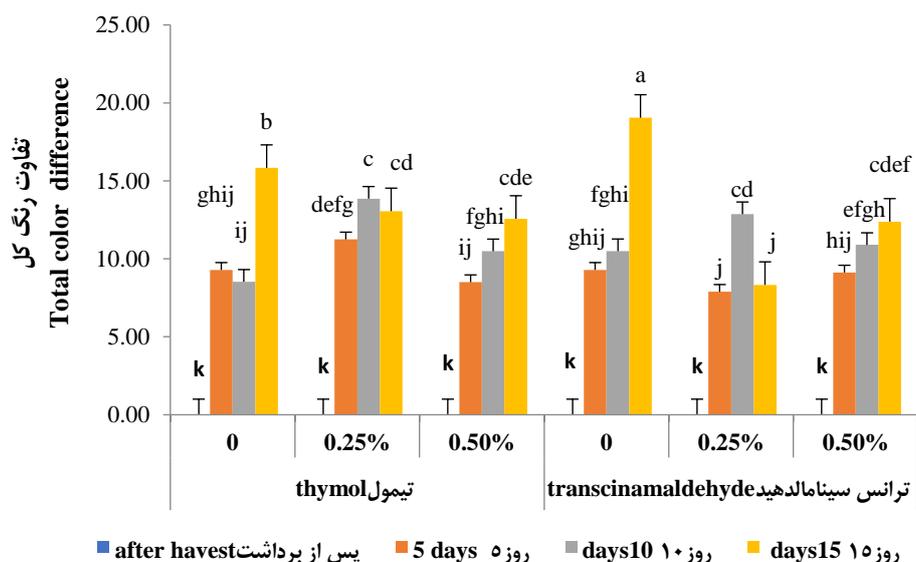


شکل ۱۰- اثر پوشش‌دهنده کیتوزان، نوع و غلظت اسانس بر تفاوت رنگ کل در میوه خیار

Fig. 10. Effect of chitosan coating, and essence type and concentration on total color difference in cucumber fruit

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است ($p > 0.05$).

The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level ($p < 0.05$).



شکل ۱۱- اثر نوع و غلظت اسانس بر تفاوت رنگ کل میوه خیار در طی زمان نگهداری

Fig. 11. Effect of essence type and concentration on total color difference of cucumber fruit during storage

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است ($p > 0.05$).

The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level ($p < 0.05$).

ماندگاری خیار تازه را افزایش دهند. لی و همکاران (Li et al., 2021)، به‌طور مشابه گزارش نمودند پوشش‌دهی خیار با استفاده از محلول کیتوزان حاوی اسانس‌روغنی اوژنول سبب کاهش معنی‌دار رشد میکروبی (شمارش کلی میکروبی، کپک و مخمر) شده است.

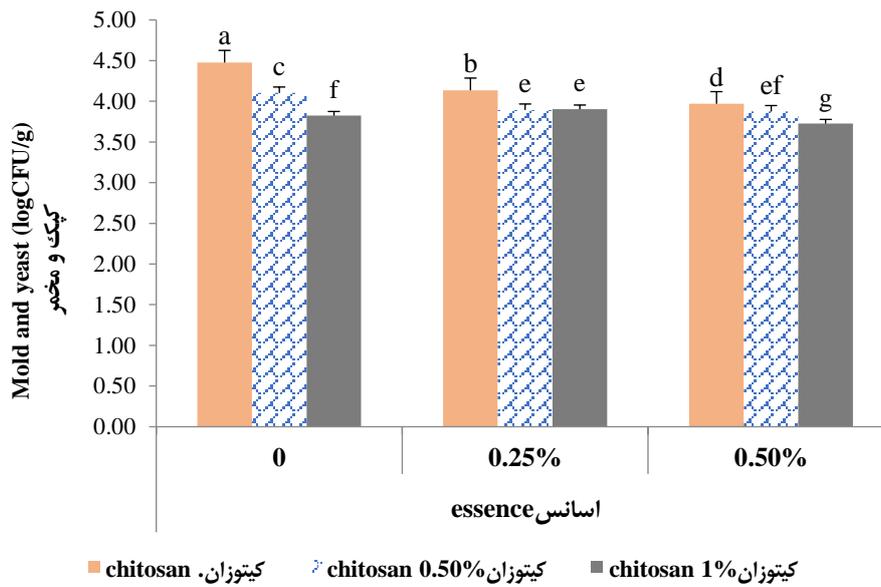
از سوی دیگر، مشخص شده است که اسانس‌روغنی تیمول و ترانس‌سینامالدهید دارای خاصیت ضد میکروبی هستند (Karathanos et al., 2007). بنابراین می‌توان گفت استفاده از کیتوزان و اسانس‌روغنی به دلیل فعالیت ضد میکروبی هر دو گروه، توانسته‌اند

جدول ۲- میانگین مربعات غلظت پوشش‌دهنده کیتوزان، نوع و غلظت اسانس بر خصوصیات میکروبی در میوه خیار

Table 1- Mean square concentration of chitosan coating, type and concentration of essence on microbial characteristics in cucumber fruit

منابع تغییر Sources of Variables (SOV)	درجه آزادی Degrees of Freedom	میانگین مربعات Average Squares	
		شمارش کلی ($\log \text{CFU} \times 10^5$) Total Count ($\log \text{CFU} \times 10^5$)	کپک و مخمر ($\log \text{CFU} \times 10^3$) Mold and Yeast ($\log \text{CFU} \times 10^3$)
		(A) غلظت کیتوزان (Chitosan Concentration)	2
(B) نوع اسانس (Essence Type)	1	98.66 ^{ns}	42.67**
اثر متقابل (A*B) Interaction Effect	2	26.96 ^{ns}	16.89**
(C) غلظت اسانس (Essence Concentration)	2	3412.06**	395.06**
اثر متقابل (A*C) Interaction Effect	4	1841.56**	189.22**
اثر متقابل (B*C) Interaction Effect	2	69.8 ^{ns}	11.17**
اثر متقابل (A*B*C) Interaction Effect	4	57.41 ^{ns}	7.39**
خطا (Error)	36	24.76	0.57

*,** and ns: Significant at 5% and 10% levels of probability and non significant, respectively

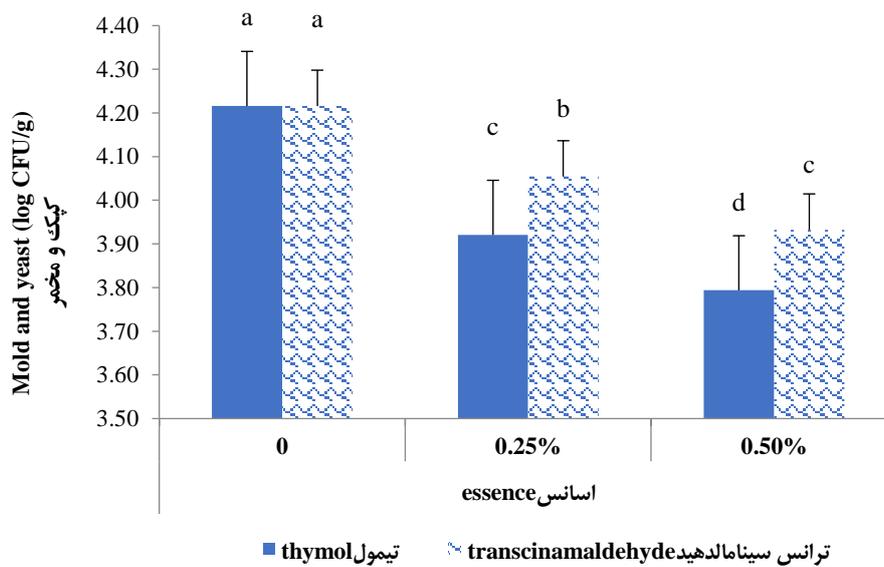


شکل ۱۲- اثر پوشش‌دهنده کیتوزان و غلظت اسانس بر میزان کپک و مخمر در میوه خیار

Fig. 12. Effect of chitosan coating and essence concentration on mold and yeast in cucumber

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است ($p > 0.05$).

The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level ($p < 0.05$).

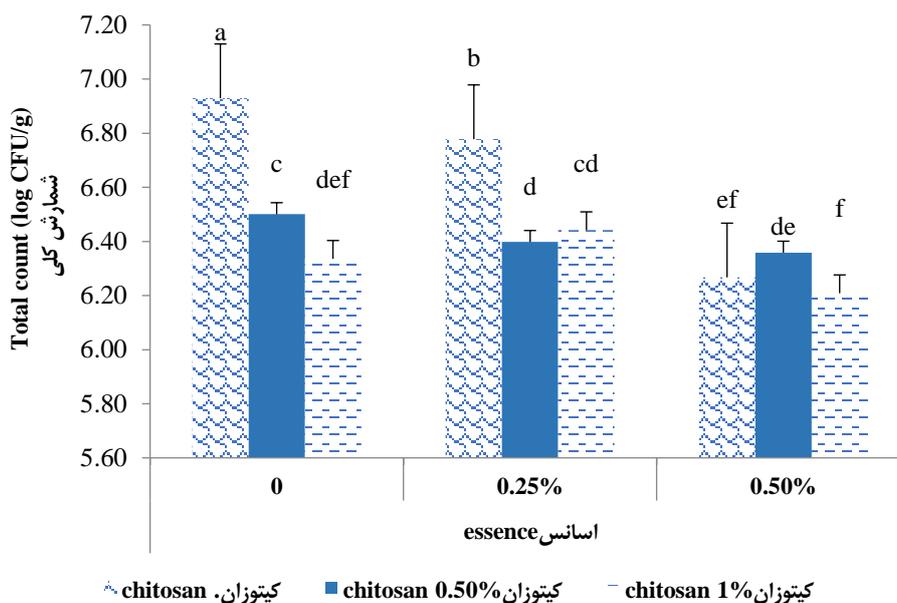


شکل ۱۳- اثر نوع و غلظت اسانس بر میزان کپک و مخمر در میوه خیار

Fig. 13. Effect of essence type and concentration on mold and yeast in cucumber

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است ($p > 0.05$).

The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level ($p < 0.05$).



شکل ۱۴- اثر پوشش دهنده کیتوزان و غلظت اسانس بر شمارش کلی میکروبی در میوه خیار
 Fig. 14. Effect of chitosan coating and essence concentration on total microbial count in cucumber

حروف یکسان قرار گرفته بر روی هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۹۵ درصد است ($p > 0.05$).

The same letters placed on each column indicate the absence of significant differences at the 95% level ($p < 0.05$).

نتیجه گیری

به علاوه اسانس تیمول نسبت به ترانس سینامالدهید در ممانعت از رشد کپک و مخمر در خیار مؤثرتر بود. با افزایش غلظت کیتوزان و اسانس روغنی میزان کپک و مخمر و شمارش کلی میکروبی کاهش یافت. بنابراین، داده‌های به دست آمده از این تحقیق دلالت بر این دارد که محلول پوشش دهی متشکل از ۱ درصد کیتوزان همراه با ۰/۵ درصد اسانس روغنی تیمول می تواند به عنوان یک تیمار مؤثر در نظر گرفته شود که سبب کاهش فساد میکروبی و حفظ بهتر ویژگی‌های کیفی و خصوصیات رنگی در خیار گردد. بنابراین می توان این پوشش را به عنوان جایگزین قارچ کش‌های شیمیایی جهت جلوگیری از فساد قارچی خیار و سایر میوه‌ها به کار برد، البته پیشنهاد می شود مطالعات بیشتری در این زمینه صورت پذیرد.

در این پژوهش از پوشش چندلایه پکتین-کلرورکلسیم-کیتوزان حاوی اسانس‌های روغنی ریزپوشانی شده جهت پوشش دهی میوه خیار تازه به منظور افزایش زمان ماندگاری آن استفاده شد. نتایج نشان داد که با افزایش مدت زمان نگهداری نمونه‌های مختلف خیار، میزان اسیدیته قابل تیتر و سفتی بافت کاهش و میزان مواد جامد محلول، میزان کاهش وزن و تفاوت رنگ کل افزایش یافت، اما پوشش دهی با کیتوزان و اسانس بر سرعت این تغییرات تأثیر مثبت گذاشت. همچنین، نتایج نشان داد که خیار تیمار شده با پوشش کیتوزان ۱ درصد حاوی ۰/۵ درصد اسانس روغنی تیمول، بالاترین میزان اسیدیته قابل تیتر، سفتی بافت و کمترین میزان مواد جامد محلول و تفاوت رنگ کل را داشت.

References

1. Abdelghany, A.M., Menazea, A.A., & Ismail, A.M. (2019). Synthesis, characterization and antimicrobial activity of Chitosan/Polyvinyl Alcohol blend doped with *Hibiscus sabdariffa* L. extract. *Journal of Molecular Structure*, 1197, 603-609. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.07.089>
2. Adetunji, C.O., Fadiji, A.E., & Aboyeji, O.O. (2014). Effect of chitosan coating combined Aloe vera gel on cucumber (*Cucumis sativa* L.) post-harvest quality during ambient storage. *Journal of Emerging Trends in Engineering and Applied Sciences*, 5(6), 391-397.
3. Ali, A., Zahid, N., Manickam, S., Siddiqui, Y., & Alderson, P.G. (2014). Double layer coatings: a new technique for maintaining physico-chemical characteristics and antioxidant properties of dragon fruit during storage. *Food and Bioprocess Technology*, 7, 2366-2374. <https://doi.org/10.1007/s11947-013-1224-3>
4. Aragüez, L., Colombo, A., Borneo, R., & Aguirre, A. (2020). Active packaging from triticale flour films for prolonging storage life of cherry tomato. *Food Packaging and Shelf Life*, 25, 100520. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100520>

5. Attokaran, M. (2017). *Natural food flavors and colorants*. Chap 98, 354-398. <https://doi.org/10.1002/9781119114796>
6. Aziziyani Dehkordi, B., Zamindar, N., Ghorbani, Z., & Mosaffa, L. (2020). Changes in the physicochemical and microbial properties of fresh-cut cucumber during storage as affected by modified atmosphere packaging and films of polypropylene containing clay nanoparticles. *Journal of Nutrition Science and Food Technology*, 15(12), 83-62. (In Persian)
7. Boonsiriwit, A., Xiao, Y., Joung, J., Kim, M., Singh, S., & Lee, Y.S. (2020). Alkaline halloysite nanotubes/low density polyethylene nanocomposite films with increased ethylene absorption capacity: Applications in cherry tomato packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 25, 100533. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100533>
8. Chen, A., Yang, Z., Zhang, N., Zhao, S., & Chen, M. (2015). Effects of cold shock intensity on physiological activity of harvested cucumbers during storage. *Scientia Horticulturae*, 197, 420-427. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.056>
9. Cid-López, M.L., Soriano-Melgar, L.D.A.A., García-González, A., Cortéz-Mazatán, G., Mendoza, E., Rivera-Cabrera, F., & Peralta-Rodríguez, R.D.(2021). The benefits of adding calcium oxide nanoparticles to biocompatible polymeric coatings during cucumber fruits postharvest storage. *Scientia Horticulturae*, 287, 110285. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110285>
10. Chien, P.J., Sheu, F., & Yang, F.H. (2007). Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. *Journal of Food Engineering*, 78, 225-229. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.09.022>
11. Eboibi, O., & Uguru, H. (2017). Storage conditions effect on physical, mechanical and textural properties of intact cucumber (cv Nandini) fruit. *International Journal of Engineering and Technical Research (IJETR)*, 7(11), 48-56.
12. Gelly, M., Recasens, I., Girona, J., Mata, M., Arbones, A., Rufat, J., & Marsal, J.(2004). Effects of stage II and postharvest deficit irrigation on peach quality during maturation and after cold storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(6), 561-568. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1686>
13. Goy, R.C., Britto, D.D., & Assis, O.B. (2009). A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 19(3), 241-247. <https://doi.org/10.1590/S0104-14282009000300013>
14. Hamzah, H.M., Osman, A., Tan, C.P., & Ghazali, F.M. (2013). Carrageenan as an alternative coating for papaya (*Carica papaya* L. cv. Ekotika). *Postharvest Biology and Technology*, 75, 142-146. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.08.012>
15. Hernández-Muñoz, P., Almenar, E., Del Valle, V., Velez, D., & Gavara, R. (2008). Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria × ananassa*) quality during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 110(2), 428-435. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.020>
16. Hernández-Muñoz, P., Almenar, E., Ocio, M.J., & Gavara, R. (2006). Effect of calcium dips and chitosan coatings on postharvest life of strawberries (*Fragaria x ananassa*). *Postharvest Biology and Technology*, 39(3), 247-253. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.11.006>
17. ISO 4833-1. (2013). Microbiology of the food chain -Horizontal method for the enumeration of microorganisms - Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique. 1st. Edition. 9 pages. (In Persian)
18. ISO 21527-1. (2008). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of yeasts and molds -Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0.95. 1st. Edition. 8 pages. (In Persian)
19. Istúriz-Zapata, M.A., Hernández-López, M., Correa-Pacheco, Z.N., & Barrera- Necha, L.L. (2020). Quality of cold-stored cucumber as affected by nanostructured coatings of chitosan with cinnamon essential oil and cinnamaldehyde. *LWT - Food Science and Technology*, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109089>
20. Karathanos, V.T., Mourtzinos, I., Yannakopoulou, K., & Andrikopoulos, N.K. (2007). Study of the solubility, antioxidant activity and structure of inclusion complex of vanillin with β -cyclodextrin. *Food Chemistry*, 101(2), 652-658. <https://doi.org/10.1016/j.FOODCHEM.2006.01.0537>
21. Koseki, S., Kyoichiro, Y., Seiichiro, I., & Kazuhiko, I. (2004). Efficacy of acidic electrolyzed water for microbial decontamination of cucumbers and strawberries. *Journal of Food Protection*, 67, 1247-1251. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.6.1247>
22. Krzemiski, A., Marudova, M., Moffat, J., Noel, T.R., Parker, R., & Welliner, N. (2006). Deposition of pectin/ poly- l- lysine multilayers with pectin of varying degrees of esterification. *Biomacromolecules*, 7(2), 498-506. <https://doi.org/10.1021/bm0507249>
23. Li, M., Yu, H., Xie, Y., Guo, Y., Cheng, Y., Qian, H., & Yao, W. (2021). Effects of double layer membrane loading eugenol on postharvest quality of cucumber. *LWT*, 145, 111310. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111310>
24. Lin, D., & Zhao, Y. (2007). Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 6(3), 60-75. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2007.00018.x>

25. Maleki, G., Sedaghat, N., Woltering, E.J., Farhoodi, M., & Mohebbi, M. (2018). Chitosan-limonene coating in combination with modified atmosphere packaging preserve postharvest quality of cucumber during storage. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12, 1610-1621. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9776-6>
26. Mantilla, M., Castel-Perez, M.E., Gomes, C., & Moreira, R.G. (2013). Multilayered antimicrobial edible coating and its effect on quality and shelf -life of fresh cut pineapple (*Ananas comosus*). *LWT-Food Science and Technology*, 51, 37-43. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.10.010>
27. Martinon, M.E., Moreira, R.G., Castel-Perez, & Gomes, C. (2014). Development of a multilayered antimicrobial edible coating for shelf-life extension of fresh-cut cantaloupe (*Cucumis melo* L.) stored at 4°. *LWT - Food Science and Technology*, 56, 341-350. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.11.043>
28. Marudova, M., Lang, S., Brownsey, G.J., & Ring, S.G. (2005). Pectin-Chitosan multilayer formation. *Carbohydrate Research*, 340, 2144-2149. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2005.07.004>
29. McGuire, R. (1992). Reporting of objective color measurements. *Hortscience*, 27(12), 1254-1255.
30. Mohammadian, M., Waly, M.I., Moghadam, M., Emam-Djomeh, Z., Salami, M., & Moosavi-Movahedi, A.A. (2020). Nanostructured food proteins as efficient systems for the encapsulation of bioactive compounds. *Food Science and Human Wellness*, 9(3), 199-213. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2020.04.009>
31. Mohammadi, A., Hashemi, M., & Hosseini, S.M. (2016). Postharvest treatment of nanochitosan-based coating loaded with *Zataria multiflora* essential oil improves antioxidant activity and extends shelf-life of cucumber. *Innovative Food Science & Emerging Technologie*, 33, 580-588. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.10.015>
32. Moalemiyan, M., & Ramaswamy, H.S. (2012). Quality retention and shelf-life extension in Mediterranean cucumbers coated with a pectin-based film. *Journal of Food Research*, 1(3), 159-168. <https://doi.org/10.5539/JFR.V1N3>
33. Mourtzinou, I., Kalogeropoulos, N., Papadakis, S.E., Konstantinou, K., & Karathanos, V.T. (2008). Encapsulation of nutraceutical monoterpenes in β -Cyclodextrin and modified starch. *Journal of Food Science*, 73(1), 89-94. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00609.x>
34. Omoba, O.S., & Onyekwere, U. (2016). Postharvest physicochemical properties of cucumber fruits (*Cucurbit sativus* L.) treated with chitosan-lemon grass extracts under different storage durations. *African Journal of Biotechnology*, 15(50), 2758-2766. <https://doi.org/10.5897/AJB2016.15561>
35. Pérez-Santaescolástica, C., Munkata, P.E., Feng, X., Liu, Y., Bastianello Campagnol, P.C., & Lorenzo, J.M. (2020). Active edible coatings and films with Mediterranean herbs to improve food shelf-life. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1853036>
36. Rabea, E.I., Badawy, M.E.T., Stevens, C.V., Smagghe, G., & Steurbaut, W. (2003). Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromolecules*, 4(6), 1457-1465. <https://doi.org/10.1021/bm034130m>
37. Rajabi, H., Ghorbani, M., Jafari, S.M., Mahoonak, A.S., & Rajabzadeh, G. (2015). Retention of saffron bioactive components by spray drying encapsulation using maltodextrin, gum Arabic and gelatin as wall materials. *Food Hydrocolloids*, 51, 327-337. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.05.033>
38. Sarker, A., Deltisidis, A., & Grift, T.E. (2021). Effect of Aloe vera gel-carboxymethyl cellulose composite coating on the degradation kinetics of cucumber. *Journal of Biosystems Engineering*, 46, 112-118.
39. Serna-Escolano, V., Serrano, M., Valero, D., Rodríguez-López, M.I., Gabaldón, J.A., Castillo, S., & Martínez-Romero, D. (2019). Effect of thymol and carvacrol encapsulated in Hp- β -Cyclodextrin by two inclusion methods against *Geotrichum citri-aurantii*. *Journal of Food Science*, 84(6), 1513-1521. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14670>
40. Simionato, I., Domingues, F.C., Nerín, C., & Silva, F. (2019). Encapsulation of cinnamon oil in cyclodextrin nanosponges and their potential use for antimicrobial food packaging. *Food and Chemical Toxicology*, 132, 110647.
41. Smith, R.L., Cohen, S.M., Doull, J., Feron, V.J., Goodman, J.I., Marnett, L.J., & Adams, T.B. (2005). A procedure for the safety evaluation of natural flavor complexes used as ingredients in food: essential oils. *Food and Chemical Toxicology*, 43(3), 345-363. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2004.11.007>
42. Shahdadi Sardo, A., Sedaghat, N., Taghizadeh, M., & Milani, E. (2017). Effect of packaging type and chitosan edible coating on the physico-chemical and sensory characteristics of Royal greenhouse cucumber during storage conditions. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 13, 2(42), 363-378. (In Persian). <https://doi.org/10.22067/ifstrj.v1395i0.41901>
43. Turek, C., & Stintzing, F.C. (2013). Stability of essential oils: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(1), 40-53. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12006>



The Effect of Production Method and Simultaneous Use of Whey Protein Concentrate and Transglutaminase Enzyme on Rheological Characteristics and Microstructure of Doogh

M. Hadian¹, M. Mazaheri Tehrani ^{2*}, M. Ghods Rohani³

1 and 2- Former M.Sc. Student and Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

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

3- Associate Professor, Department of Food Science and Industry, Research and Education Center Khorasan Razavi Agriculture and Natural Resources, Research, Education and Promotion Organization Agriculture, Mashhad, Iran

Received: 13.03.2022
Revised: 18.06.2022
Accepted: 25.10.2022
Available Online: 26.10.2022

How to cite this article:

Hadian, M., Mazaheri Tehrani, M., & Ghods Rohani, M. (2024). The effect of production method and simultaneous use of whey protein concentrate and transglutaminase enzyme on rheological characteristics and microstructure of Doogh. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 20(1), 19-34. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.74657.1134>

Introduction

Doogh is a fermented dairy product that is produced by blending yogurt with water and some salt. This fermented beverage is widely consumed as a refreshing drink in Iran and other Middle East countries. Doogh is a source of calcium needed by the body on a daily basis and contains B vitamins that are effective in the health and strength of teeth and bones. In addition, doogh contains a low percentage of fat, which makes it a diet drink. Whey Protein Concentrate (WPC) is a product contains 25 to 89% protein and different amounts of lactose, fat and minerals. Due to the functional properties of whey protein and its nutritional value; whey protein is widely used in dairy products. The development of cross-linking bonds between protein chains by enzymes is very important today. Enzyme cross-linking of proteins can affect some of their functional properties such as solubility, water absorption, rheological and emulsifying properties. One of the most widely used enzymes in the food industry is the transglutaminase enzyme. In this study the effects of WPC in three levels (0%, 1% and 2%) and the transglutaminase enzyme in two levels (0 and 1 unit per gram of milk protein) in two method of dough preparation (adding water to yogurt and fermented milk diluted with water) on rheological characteristics, and microstructure of doogh were studied.

Material and Methods

Raw milk was provided by Pegah Khorasan Company, WPC from Multi Company (Mashhad) and Trans glutaminease enzyme from BDF Company of Spain. WPC was first added to milk at 45 °C at three levels of zero, 1 and 2%. The milk samples were then pasteurized at 85 °C for 30 min. After lowering the temperature to 45 °C, the enzymatic operation was performed at two levels of zero and one unit (per gram of protein). To complete the enzyme function, the samples were incubated for 180 minutes at 45 °C. Then a temperature of 90 °C was applied for 1 minute to inactivate the enzyme. The samples were then cooled to 45 °C. At this stage, the samples were divided into two parts. In one part of the samples; milk was diluted with water in a ratio of 6% of the total dry matter for direct production of doogh. After adding the starter, the samples were transferred to an incubator and hold at 43-42 °C, until the pH reaches about 4.1. The fermented samples were then transferred to a refrigerator. In the second part, starter was added to milk to produce yogurt; after adding starter,



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.74657.1134>

the mix was transferred to an incubator and hold at 43-42 °C, until the pH reaches about 4.1. Doogh was produced by diluting yogurt with waterto givethe final product with 6% of total dry matter.

Results and Discussion

In both production methods, in samples treated only with WPC, the average particle size increased with increasing WPClevel. In both methods, the production of only enzymatically treated samples led to the formation of smaller particles with a more uniform shape and distribution. In samples of doogh produced by both production methods, WPC and transglutaminase enzyme changed the flow characteristics of doogh to non-Newtonian behavior. Samples made directly from milk had significantly higher viscosity than samples made from yogurt. In samples without enzymatic treatment, the microstructure was smooth and homogeneous with smaller particles than other samples. These particles settle very quickly. In the samples where WPC treatment was applied, the amount of large particles and non-uniformity increase with increasing WPC level. The distribution of particles in samples made directly from milk was more regular than samples made from yogurt.

Keywords: Doogh, Rheology, Serum separation, Transglutaminase, Whey protein concentrate

مقاله پژوهشی

جلد ۲۰، شماره ۱، فروردین - اردیبهشت ۱۴۰۳، ص. ۱۹-۳۴

بررسی اثر روش تولید و کاربرد همزمان کنسانتره پروتئین آب پنیر و آنزیم ترانس گلوتامیناز بر ویژگی‌های رئولوژیکی و ریزساختاری دوغ

محمد هادیان^۱ - مصطفی مظاهری طهرانی^{۲*} - محسن قدس روحانی^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۰۳

چکیده

دوغ فرآورده لبنی تخمیری است که در سطح وسیعی به‌عنوان یک نوشیدنی پر طرفدار در ایران و سایر کشورهای خاورمیانه مصرف می‌شود. یکی از عمده‌ترین مشکلات در این محصول دو فاز شدن آن پس از تولید و در طی مدت زمان نگهداری می‌باشد؛ که این مسئله ناشی از بزرگ بودن ذرات کلونیدی دوغ، پایین بودن pH محصول و در نهایت تجمع کازئین‌ها است. در این پژوهش اثر کنسانتره پروتئین آب پنیر (WPC) در سه سطح (۰، ۱ و ۲ درصد) به همراه آنزیم ترانس گلوتامیناز در دو سطح (صفر و یک واحد به ازای هر گرم پروتئین شیر) در دو روش آماده‌سازی دوغ (یکی افزودن آب به ماست و دیگری تخمیر شیر رقیق شده با آب) بر روی خصوصیات رئولوژیکی و ریزساختاری دوغ مورد بررسی قرار گرفت. افزودن WPC و آنزیم ترانس گلوتامیناز به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) سبب افزایش ویسکوزیته در محدوده ۲۰۰ تا ۲۵۰ میلی‌پاسکال ثانیه و افزایش رفتار شل‌شوندگی دوغ نسبت به کنترل گردید. این نتایج نشان می‌دهد که WPC سبب ایجاد شبکه ژل در دوغ گردیده که آنزیم ترانس گلوتامیناز با مرتب کردن این ساختار سبب بهبود خصوصیات فیزیکی و پایداری نمونه‌های دوغ شد؛ که بررسی ریزساختار نمونه‌های دوغ نیز مؤید این مسئله می‌باشد. روش تهیه دوغ هم عامل تأثیرگذار دیگری در ویژگی‌های فیزیکی این محصول بود. نمونه‌هایی که به‌صورت مستقیم از شیر رقیق شده بدست آمدند خصوصیات فیزیکی بهتری نسبت به نمونه‌هایی که پس از افزودن آب به ماست تولید شدند از خود نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: ترانس گلوتامیناز، دوغ، دوفاز شدن، رئولوژی، کنسانتره پروتئین آب پنیر

مقدمه

دوغ یکی از نوشیدنی‌های سنتی ایرانیان و برخی ملل دیگر در اروپای شرقی و خاور میانه به‌شمار می‌آید (Foroughi-nia et al., 2007). دوغ به‌عنوان یک نوع شیر تخمیری سالم و مفید است که از منابع تأمین‌کننده کلسیم مورد نیاز روزانه بدن بوده و حاوی ویتامین‌های گروه (ب) است که در سلامت و استحکام دندان‌ها و استخوان‌ها مؤثرند. به‌علاوه، دوغ محتوی درصد پایین چربی است که این محصول را به

عنوان یک نوشیدنی رژیمی مطرح ساخته است (Nilson et al., 2006).

برای تولید دوغ سه روش وجود دارد: روش اول که روش سنتی تولید دوغ نیز می‌باشد؛ شامل رقیق کردن ماست با آب، سپس جدا کردن چربی با استفاده از همزنی که از مشک استفاده می‌شود (Kiani et al., 2009). ماست را می‌توان با آب آشامیدنی، آب معدنی، آب پنیر تخمیر شده و یا دوغ کره رقیق کرد (Foroughi-nia et al., 2009). در روش دوم، چربی شیر برای تولید ماست تنظیم شده و دوغ با

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

۳ - دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران

مدت ۱۵ دقیقه) منجر به بهبودی ساختاری دوغ (Shirkhani *et al.*, 2015) و ماست قالبی می شود (Sanli *et al.*, 2011).

در پژوهشی تاثیر افزودن پروتئین آب پنیر و آنزیم ترانس گلوتامیناز بر خواص فیزیکی و حسی بستنی کم‌چرب مورد بررسی قرار گرفت که نتایج حاکی از آن بود که افزودن پروتئین آب پنیر با تیمار آنزیمی ترانس گلوتامیناز، خواص فیزیکی و حسی بستنی کم‌چرب را بهتر از افزودن پروتئین آب پنیر یا تیمار آنزیمی به تنهایی بهبود می‌بخشد (Jooyandeh *et al.*, 2017). در مطالعه‌ای تاثیر ادغام پروتئین آب پنیر و آنزیم ترانس گلوتامیناز به‌عنوان جایگزین چربی در فرمولاسیون پنیر سفید کم‌چرب ایرانی مورد بررسی قرار گرفت که گنجاندن پروتئین‌های آب پنیر با واسطه آنزیم در پنیر کم‌چرب باعث افزایش قابل توجه نسبت رطوبت به پروتئین با کاهش همزمان پارامترهای رئولوژیکی (سختی، مدول یانگ، مدول ذخیره‌سازی) شد (Jooyandeh *et al.*, 2018). در مطالعه‌ای دیگر بهینه‌سازی تولید پنیر فراپالایش کم‌چرب با استفاده از تلفیق پروتئین‌های آب پنیر و تیمار آنزیمی به روش سطح پاسخ مورد بررسی قرار گرفت نتایج نشان داد که کاهش چربی باعث افزایش معنی‌دار سفتی، ارتجاع‌پذیری و میزان رطوبت می‌شود، اما چسبندگی و امتیاز پذیرش کلی نمونه‌های پنیر کاهش می‌یابد. برخلاف WPC، تیمار آنزیمی با ترانس گلوتامیناز سفتی، پیوستگی و ارتجاع‌پذیری را بطور معنی‌داری افزایش داد اما میزان رطوبت و چسبندگی پنیر را کاهش داد (Jooyandeh *et al.*, 2017).

در مطالعه‌ای دیگر تاثیر آنزیم ترانس گلوتامیناز و صمغ ایرانی بر ویژگی‌های نوشیدنی سنتی کفیر مورد بررسی قرار گرفت که نتایج حاکی از آن بود که افزودن آنزیم ترانس گلوتامیناز همراه با صمغ ایرانی منجر به افزایش pH، اندازه ذرات و ویسکوزیته و در عین حال باعث کاهش اسیدیته قابل تیتراسیون، سینرزیس و پتانسیل زتا می‌شود (Hojjati *et al.*, 2021). در پژوهشی تاثیر تیمار آنزیمی بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی دوغ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که افزودن آنزیم ترانس گلوتامیناز پس از پاستوریزاسیون شیر و متعاقب آن اضافه کردن آب و تخمیر کمترین جدا شدن سرم در طول نگهداری را در پی داشت. دلیل افزایش پایداری نمونه‌ها به بالا رفتن ویسکوزیته و مدول ذخیره آن‌ها در اثر بکارگیری آنزیم و هم‌شکلی بیشتر ذرات پروتئینی نسبت داده شد. همچنین تیمار با آنزیم منجر به سفیدی بیشتر نمونه‌ها و ریز ساختار میکروسکوپی منظم‌تر و منافذ ریزتر حاوی آب شد (Shirkhani *et al.*, 2015).

به دلیل ارزش تغذیه‌ای بالای WPC و نیز آثار مثبت WPC و آنزیم ترانس گلوتامیناز بر ویژگی‌های دوغ، این تحقیق با هدف مطالعه تاثیر روش تولید و استفاده همزمان پروتئین‌های آب پنیر تغلیظ شده و

اختلاط و همگن کردن آب و ماست تولید می‌گردد که این روش در صنعت کاربرد بیشتری دارد. در روش سوم، عمل تخمیر بر روی شیر مورد استفاده برای دوغ که دارای ترکیب استاندارد است، صورت می‌پذیرد (Koksoy and Kilic, 2004; Kiani *et al.*, 2009).

کنسانتره پروتئین آب پنیر^۱ محصول تغلیظ پروتئین آب پنیر در محدوده ۲۵ تا ۸۹ درصد پروتئین و مقادیر متفاوت لاکتوز، چربی و مواد معدنی می‌باشد. به دلیل خواص عملکردی پروتئین‌های آب پنیر و ارزش تغذیه‌ای آن، استفاده از فرآورده‌های پروتئینی آب پنیر در فرآورده‌های لبنی کاربرد زیادی دارد. ماست و فرآورده‌های آن مانند ماست نوشیدنی، گروهی از فرآورده‌های لبنی هستند که WPC با اهداف مختلفی مانند جانشین چربی در فرآورده‌های کم‌چرب، کمک به زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک، بهبود بافت و ظرفیت نگهداری آب، به آن‌ها افزوده می‌شود. بررسی ریزساختار ماست کم‌چرب حاوی WPC (به‌عنوان جایگزین چربی) نشان می‌دهد که پروتئین آب پنیر دناتوره شده از طریق ایجاد پیوند با میسل‌های کازئین و پر کردن حفرات ناشی از حذف چربی، ریزساختار و ویژگی‌های بافتی مشابه با ماست پرچرب دارد (Sandoval-Castilla *et al.*, 2004). نتایج نشان می‌دهد افزودن WPC باعث کاهش آب‌اندازی، افزایش قوام و افزایش مطلوبیت ماست کم‌چرب می‌شود. ماست کم‌چرب حاوی WPC دارای شبکه پروتئین فشرده با اندازه ذرات بزرگ‌تر و تخلخل کمتر نسبت به نمونه شاهد است.

ایجاد پیوندهای عرضی بین زنجیره‌های پروتئینی توسط آنزیم، امروزه بسیار مورد توجه می‌باشد. اتصال عرضی پروتئین‌ها با آنزیم می‌تواند برخی خصوصیات عملکردی آنها نظیر حلالیت، جذب آب، خصوصیات رئولوژیکی و امولسیون‌کنندگی را تحت تاثیر قرار دهد (Lorenzen *et al.*, 2002). یکی از آنزیم‌هایی که به‌طور گسترده در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد آنزیم ترانس گلوتامیناز است. در بین پروتئین‌های شیر، کازئین سوبسترای بسیار مناسبی برای آنزیم ترانس گلوتامیناز می‌باشد. در مقایسه با کازئین‌ها، پروتئین‌های آب پنیر دارای ساختار کروی بوده، و دارای نقاط کمتری برای ایجاد اتصال می‌باشند، که دلیل اصلی آن را می‌توان به پایداری پیکربندی پروتئین‌های آب پنیر، در نتیجه اتصالات سولفیدی مرتبط دانست که موجب محدود شدن مناطق در دسترس برای ایجاد اتصالات بین مولکولی می‌گردد. با این حال با دناتوراسیون پروتئین‌های آب پنیر از هر دو طریق تیمار حرارتی یا افزودن مواد احیاء کننده می‌توان حساسیت آنزیمی را بهبود بخشید. به طوری که بر اساس گزارش محققین استفاده از آنزیم بعد از فرآیند حرارتی (۹۰ درجه سانتیگراد به

شیر مورد استفاده با ماده خشک بدون چربی ۸/۵ درصد و چربی ۱/۵ درصد از شرکت پگاه خراسان تهیه شد. WPC (WPC80) از شرکت مولتی مشهد و آنزیم ترانس گلوتامیناز با میانگین فعالیت ۱۰۰ واحد در گرم از نمایندگی شرکت BDF اسپانیا تهیه شد. ترکیب شیمیایی WPC در جدول ۱ ارائه شده است. کشت‌های آغازگر از نمایندگی شرکت Danisco با نام تجاری Yo-mix 211، نمک طعام تجاری از فروشگاه‌های محلی و آب بدون یون با دستگاه اسمز معکوس تهیه شد.

آنزیم ترانس گلوتامیناز بر ویژگی‌های رئولوژیکی شامل رفتار جریان، تنش تسلیم، رفتار شل‌شوندگی، توزیع اندازه ذرات و ویژگی‌های ریزساختاری دوغ انجام گردید.

مواد و روش‌ها

مواد

جدول ۱- ترکیب شیمیایی کنسانتره پروتئین آب پنیر مورد استفاده در این پژوهش (بر حسب درصد)

Table 1- The chemical composition of Whey Protein Concentrate (WPC) used in this research (in percentage)

لاکتوز	چاکستر	چربی	رطوبت	پروتئین برحسب وزن مرطوب
Lactose	Ash	Fat	Humidity	Protein by wet weight
<17	2.96	0.4	5.53	82.77

از غیر فعال کردن آنزیم و خنک کردن تا دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد، عملیات استارت‌ترزی (به میزان ۲ دصد) انجام شد، سپس به گرمخانه با دمای ۴۲-۴۳ درجه سانتی‌گراد منتقل شد؛ تا این که pH به حدود ۴/۱ رسید. ماست تولیدی به مدت یک شب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد خنک شد. از ماست تولیدی جهت تولید دوغ استفاده شد، و از رقیق کردن ماست با محلول آب و نمک طعام دوغ تولید گردید. فرمولاسیون نمونه‌ها به گونه‌ای تنظیم شد که محصول نهایی دارای ۰/۵ درصد نمک طعام و ۶/۵ درصد ماده خشک کل باشد، سپس عملیات هموژنیزاسیون انجام شد، و نمونه‌ها در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تولید دوغ

ابتدا به شیر با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد، WPC در سه سطح صفر، ۱ و ۲ درصد به صورت وزنی-وزنی نسبت به شیر اضافه شد. مقدار WPC و آب تقطیر شده به میزانی به نمونه‌های شیر اضافه گردید که ماده خشک نهایی تمام نمونه‌های شیر ۱۰ درصد باشد. سپس مخلوط به آرامی بهم زده شده تا کاملاً یکنواخت گردد. نمونه‌های شیر در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه پاستوریزه شده (Shahidi et al., 2013) و پس از کاهش دما تا ۴۵ درجه سانتی‌گراد، عملیات آنزیم زنی در دو سطح صفر و یک واحد (به ازای هر گرم پروتئین) انجام شد. برای تکمیل عملکرد آنزیم، نمونه‌ها به مدت ۱۸۰ دقیقه در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردید (Shirkhani et al., 2015). سپس عملیات حرارتی ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه برای غیر فعال کردن آنزیم اعمال شد (Shirkhani et al., 2015). سپس نمونه‌ها تا دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد خنک شد. در این مرحله نمونه‌ها به دو بخش تقسیم گردید. در یک بخش از نمونه‌ها (برای تولید مستقیم دوغ از شیر)، شیر با آب به نسبتی که محصول نهایی دارای ۶ درصد ماده خشک کل باشد رقیق شد، سپس عملیات هموژنیزاسیون در دمای ۶۰-۵۵ درجه سانتی‌گراد و فشار هموزن ۱۰۰ بار توسط هموژنایزر آزمایشگاهی (FT9 Homogeniser, Armfield, England) انجام گردید سپس تا دمای مطلوب تلقیح استارتر سرد شد (۴۲-۴۳ درجه سانتی‌گراد) و پس از استارت‌ترزی (به میزان ۲ درصد) به گرمخانه ۴۳-۴۲ درجه سانتی‌گراد منتقل شد، تا زمانی که pH به حدود ۴/۱ رسید؛ سپس تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد خنک شد، و ۰/۵ درصد نمک طعام اضافه شد و پس از اختلاط، به یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید. در بخش دوم نمونه‌ها (برای تولید دوغ با استفاده از ماست) بعد

آزمون‌ها

آزمون رفتار جریان

جهت اندازه‌گیری ویسکوزیته نمونه‌ها از دستگاه ویسکومتر هندسه استوانه و کاسه DVIII Ultra Rheometer, Brookfield (ساخت آمریکا) استفاده گردید. نمودارهای تنش برشی و ویسکوزیته برای نمونه‌های مختلف در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد (دمای نگهداری و مصرف دوغ) با اسپیندل C4-18 بدست آمد. برازش مدل‌های رفتار جریان با استفاده از نرم‌افزار Matlab انجام شد و سه شاخص R^2 ، SSE و RMSE برای ارزیابی مدل برازش یافته طبق معادله ۱ و ۲ استفاده گردید.

$$\sum_{i=1}^N (X_{ei} - X_{pi})^2 \quad (1)$$

$$RMSE = [1/N \sum_{i=1}^N (X_{ei} - X_{pi})^2]^{0.5} \quad (2)$$

در روابط فوق X_{ei} داده حاصل از آزمایش و X_{pi} مقدار محاسبه شده توسط مدل برازش یافته و N تعداد داده‌های آزمایش است. مقادیر

بالاتر R^2 و مقادیر کمتر SSE و RMSE به معنی برازش بهتر مدل است.

بررسی ریزساختار

جهت مشاهده توزیع ذرات کلئیدی و ریزساختار دوغ از روش کیانی و همکاران (Kiani et al., 2010) استفاده شد. ۰/۵ میلی‌لیتر رنگ Rhodamin B با غلظت ۰/۰۵ وزنی- حجمی به ۹/۵ میلی‌لیتر از نمونه دوغ اضافه و سپس با آب بدون یون، ۱۰ برابر رقیق شد. از میکروسکوپ نوری Olympus BX41 (ساخت ژاپن) مجهز به دوربین دیجیتال با قابلیت ایجاد فاز متضاد^۱ و زمینه تاریک^۲ برای مشاهده نمونه‌ها بلافاصله پس از رنگ‌آمیزی استفاده شد. رودامین با پروتئین‌ها واکنش غیر کووالان داده و باعث شفاف شدن و تمایز آن‌ها در زیر نور معمولی می‌گردد.

تعیین اندازه ذرات

تعیین اندازه ذرات، ۲۴ ساعت پس از تولید، با استفاده از دستگاه تعیین اندازه ذرات Shimadzu-SALD210 (ساخت ژاپن) براساس پراش‌سنجی اشعه لیزر انجام شد. شاخص‌های $d(0.5)$ ، $d(0.1)$ و $d(0.9)$ که به ترتیب اندازه ذرات در ۱۰، ۵۰ و ۹۰ درصد منحنی تجمع است، براساس نمودار توزیع اندازه ذرات تعیین می‌شود. قطر متوسط ذرات $D[4,3]$ بر اساس معادله ۳ که در این رابطه n_i تعداد ذرات با قطر d_i می‌باشد. و پهنای توزیع ذرات (اسپان)^۳ براساس معادله ۴ بدست آمد.

$$D[4,3] = \frac{\sum_i^n d_i^4 n_i}{\sum_i^n d_i^3 n_i} \quad (۳)$$

$$Span = \frac{d(0.9) - d(0.1)}{d(0.5)} \quad (۴)$$

طرح آماری و تجزیه و تحلیل نتایج

آزمایش‌ها در قالب فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی، در دو تکرار انجام پذیرفت. تحلیل‌های آماری آنالیز واریانس با استفاده از نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام پذیرفت و نمودارها با نرم‌افزار MS EXCEL رسم شد.

نتایج و بحث

اندازه ذرات

شاخص‌های محاسبه شده براساس توزیع اندازه ذرات در جدول ۳ (دوغ تولیدی از شیر) و جدول ۴ (دوغ تولیدی از ماست) ارائه شده است.

در هر دو روش تولید در نمونه‌هایی که فقط با WPC تیمار شدند با افزایش درصد WPC، قطر متوسط ذرات نیز افزایش یافت. به طوری که نمونه‌های حاوی ۱ درصد WPC تفاوت معنی‌داری با نمونه‌های حاوی ۲ درصد WPC داشتند. WPC طی حرارت‌دهی با تشکیل ذرات ژل زمینه ایجاد ذرات بزرگی را فراهم می‌کند و در نهایت یک شبکه سه بعدی را ایجاد می‌کند. وجود ذرات بزرگ در نمونه‌های حاوی WPC و برخوردهای بیشتری که بین این ذرات کلئیدی وجود دارد سبب افزایش ویسکوزیته و تنش تسلیم دوغ می‌شود، که این در بحث بررسی رفتار جریان مشاهده شد. در مطالعه اوزن و کلیک (Ozen & Kilic, 2009) با افزایش سطح جانشینی WPC، اندازه ذرات ابتدا کاهش و سپس افزایش پیدا کرد؛ در مطالعه این پژوهشگران از نسبت‌های بالای پروتئین آب پنیر به کازئین استفاده شده است و فرآیند همگن کردن با روش متفاوتی انجام شد. پوواننتیرن و همکاران (Puvanenthiran et al., 2002) اظهار داشتند که با افزایش نسبت پروتئین آب پنیر به کازئین در شیر حرارت دیده شده اندازه ذرات افزایش می‌یابد.

در هر دو روش تولید نمونه‌هایی که فقط تیمار آنزیمی انجام شد (نمونه‌های با کد M5 و Y5) منجر به شکل‌گیری ذرات کوچک‌تری با شکل و توزیع یکنواخت‌تر شد. شاخص اسپان که نماینده گستردگی توزیع اندازه ذرات است در نمونه‌هایی که فقط تیمار آنزیمی انجام گرفت مقادیر نسبتاً کمتری داشت که نشان‌دهنده یکنواختی بیشتر ذرات در این نمونه‌هاست. شیر خانی و همکاران (Shirkhani et al., 2015) اظهار داشتند اصلاح و بهبود ساختار پروتئین‌ها با ایجاد پیوندهای جدید کووالانس توسط ترانس‌گلوتامیناز اندازه و نحوه توزیع ذرات را در نمونه‌های دوغ تحت تأثیر قرار داد و سبب تشکیل ذرات کوچک‌تر شد. براساس **جدول ۳** و **۴**، نمونه‌های تیمار شده با WPC و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز در مقایسه با نمونه‌های تیمار شده با WPC اندازه ذرات کاهش پیدا کرد؛ ولی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P < 0.05$)؛ که می‌توان افزایش نسبت پروتئین‌های آب پنیر به کازئین را دلیل این امر دانست. این طور انگاشته می‌شود که در پروتئین‌های آب پنیر، آنزیم عمل ایجاد پیوندهای عرضی را میان این ملکول‌ها با سطح میسل‌های کازئین و با خودشان انجام می‌دهد.

جدول ۲- جدول کدگذاری نمونه‌ها
Table 2- Coding table of samples

کد Code	کنسانتره پروتئین آب پنیر Whey Protein Concentrate	آنزیم ترانس گلوتامیناز Transglutaminase enzyme (units per gram of protein)	روش تولید Method of production
M1	1%	0 Unit	Milk شیر
M2	2%	0 Unit	Milk شیر
M3	1%	1 Unit	Milk شیر
M4	2%	1 Unit	Milk شیر
M5	0%	1 Unit	Milk شیر
M6	0%	0 Unit	Milk شیر
Y1	1%	0 Unit	Yogurt ماست
Y2	2%	0 Unit	Yogurt ماست
Y3	1%	1 Unit	Yogurt ماست
Y4	2%	1 Unit	Yogurt ماست
Y5	0%	1 Unit	Yogurt ماست
Y6	0%	0 Unit	Yogurt ماست

جدول ۳- شاخص‌های اندازه ذرات نمونه‌های دوغ تیمار شده با کنسانتره پروتئین آب پنیر و آنزیم ترانس گلوتامیناز به روش تولید دوغ از شیر
Table 3- Particle size indices of doogh samples treated with Whey Protein Concentrate and transglutaminase enzyme by fermented milk diluted with water method

Sample نمونه	d(0.1) (µm) شاخص اندازه ذرات	d(0.5) (µm) شاخص اندازه ذرات	d(0.9) (µm) شاخص اندازه ذرات	D[4,3] قطر متوسط ذرات	Span پهنای توزیع ذرات
M1	3.41	9.32	19.02	21.13±2.37 ^b	1.67
M2	6.11	17.43	34.78	36.94±2.10 ^a	1.64
M3	3.07	8.89	18.26	20.28±1.61 ^b	1.70
M4	5.72	16.94	32.73	35.11±1.97 ^a	1.59
M5	2.68	6.23	11.12	13.25±1.30 ^c	1.35
M6	2.86	6.57	12.92	15.12±1.00 ^c	1.53

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵٪ است.

Similar letters in each column indicate no significant difference at the 95% confidence level.

رفتار جریان

رفتار جریان مستقل از زمان نمونه‌های دوغ در دامنه درجه برش بین ۱/۳۴ تا ۳۰۰ بر ثانیه اندازه‌گیری شد. شکل‌های ۱ و ۲ نمودارهای جریان و شکل‌های ۳ و ۴ نمودار تغییرات ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های دوغ را نشان می‌دهد. بررسی نمودارهای رفتار جریان نشان داد که

نمونه‌های بدون WPC و آنزیم ترانس گلوتامیناز با ماده خشک کل ۶/۵ درصد و در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد رفتاری نزدیک به رفتار نیوتنی دارند و در محدوده درجه برش ۱/۳۴ تا ۳۰۰ بر ثانیه با افزایش درجه برش، تنش برشی با آهنگ ثابتی تغییر می‌کند. همچنین ویسکوزیته ظاهری با افزایش درجه برش تقریباً ثابت ماند.

خشک پایین فاصله بین ذرات به حدی است که امکان ایجاد اتصالات عرضی وجود ندارد و باعث می‌شود که در درجه برش پایین و بالا، تنش برشی دارای تناسب ثابت با درجه برش باشد. در صورتی که ماده خشک افزایش یابد یا اندازه حجمی ذرات بیشتر شود، ویسکوزیته ظاهری افزایش پیدا می‌کند (Koksoy & Kilic, 2003).

کیانی و همکاران (Kiani *et al.*, 2008) رفتار جریان دوج صنعتی با ماده خشک ۵ درصد را نیوتنی ارزیابی کرده و اظهار داشتند دوج در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد، ویسکوزیته بین ۱ تا ۲ میلی‌پاسکال ثانیه دارد. ساختار فیزیکی دوج متشکل از ذرات کلوتیدی پراکنده در فاز آبی است. مقدار حجمی ذرات پروتئینی و برهم‌کنش بین این ذرات تعیین کننده نوع رفتار جریانی دوج است. در دوج بدون پایدار کننده با ماده

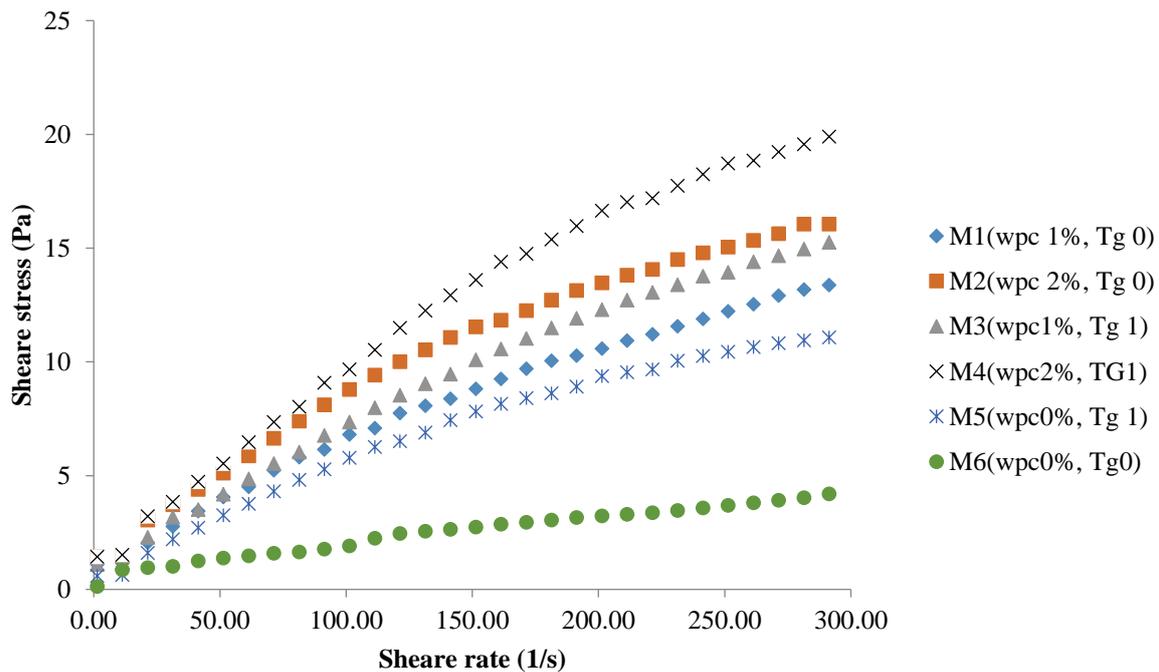
جدول ۴- شاخص‌های اندازه ذرات نمونه‌های دوج تیمار شده با کنسانتره پروتئین آب پنیر و آنزیم ترانس گلوتامیناز به روش تولید دوج از ماست

Table 4- Particle size indices of doogh samples treated with Whey Protein Concentrate and transglutaminase enzyme by adding water to yogurt method

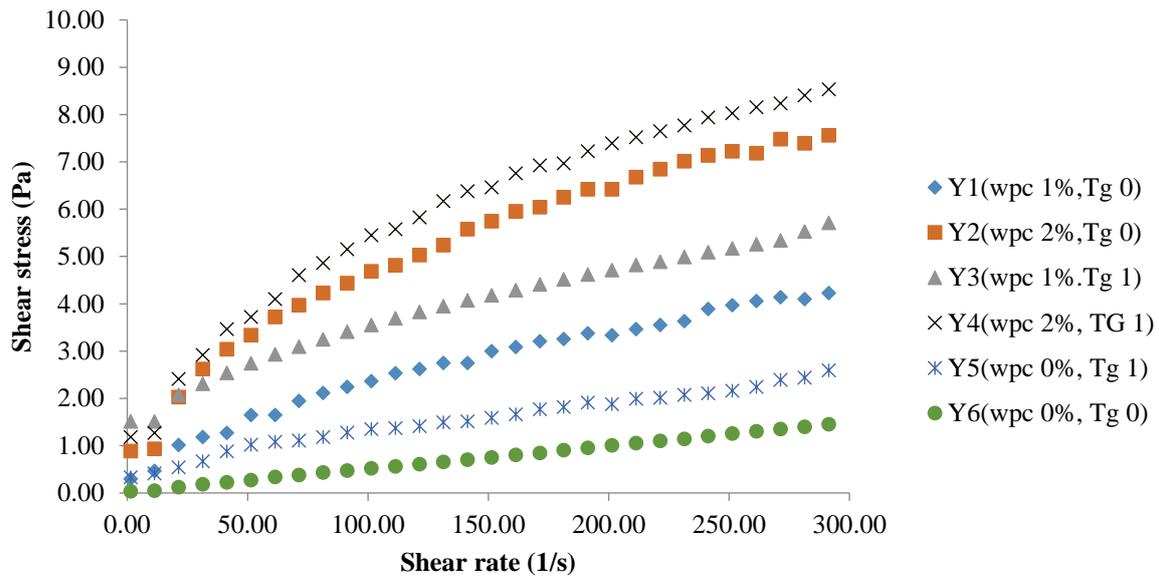
Sample	d(0.1) (μm)	d(0.5) (μm)	d(0.9) (μm)	D[4,3]	Span
نمونه	شاخص اندازه ذرات	شاخص اندازه ذرات	شاخص اندازه ذرات	قطر متوسط ذرات	پهنای توزیع ذرات
Y1	4.12	10.10	19.85	21.96±2.92 ^b	1.55
Y2	6.91	18.31	35.73	37.89±2.51 ^a	1.57
Y3	3.57	9.44	18.89	20.91±2.23 ^b	1.62
Y4	6.12	17.42	33.31	35.69±1.14 ^a	1.56
Y5	2.92	6.51	11.52	13.65±1.32 ^c	1.32
Y6	3.24	7.03	13.42	15.62±1.00 ^c	1.44

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵٪ است.

Similar letters in each column indicate no significant difference at the 95% confidence level.



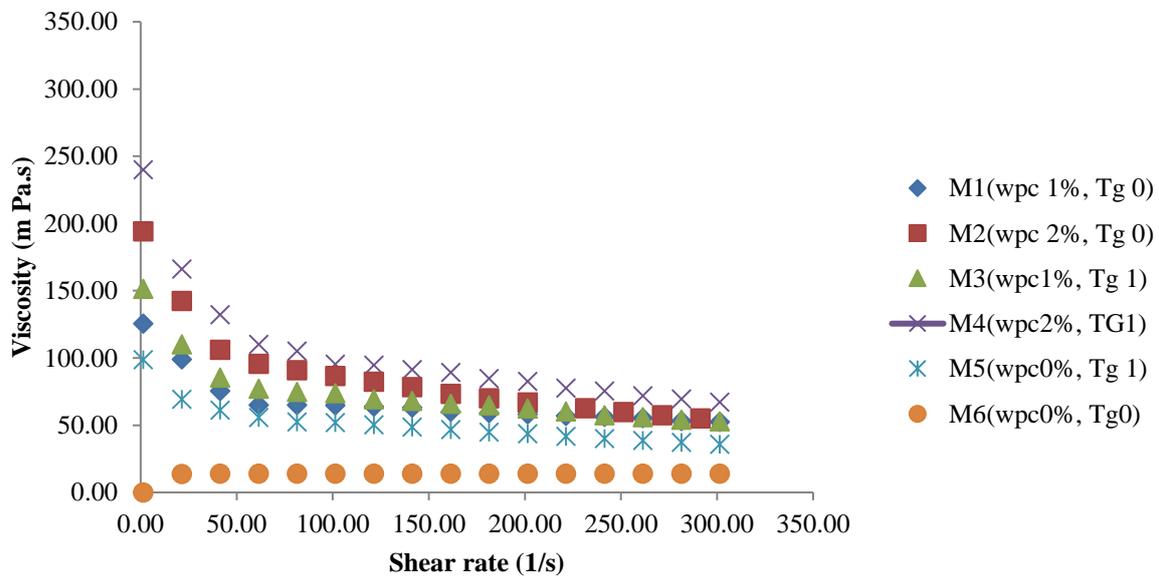
شکل ۱- نمودار جریان نمونه‌های دوج حاوی کنسانتره پروتئین آب پنیر و آنزیم ترانس گلوتامیناز تهیه شده به روش تولید مستقیم دوج از شیر
Fig. 1. Flow diagram of doogh samples containing Whey Protein Concentrate and transglutaminase enzyme prepared by fermented milk diluted with water method



شکل ۲- نمودار جریان نمونه‌های دوغ حاوی کنسانتره پروتئین آب پنیر و آنزیم ترانس گلوتامیناز تهیه شده به روش تولید دوغ از ماست
 Fig. 2. Flow diagram of dough samples containing Whey Protein Concentrate and transglutaminase enzyme prepared by adding water to yogurt method

افزایش درجه برش ویسکوزیته سریع کاهش پیدا می‌کند (شکل‌های ۳ و ۴). چنین رفتاری در ماست نوشیدنی و ماست‌های همزده نیز گزارش شده است (Afonso & Maya, 1999; Patocka *et al.*, 2007; Jaros *et al.*, 2006).

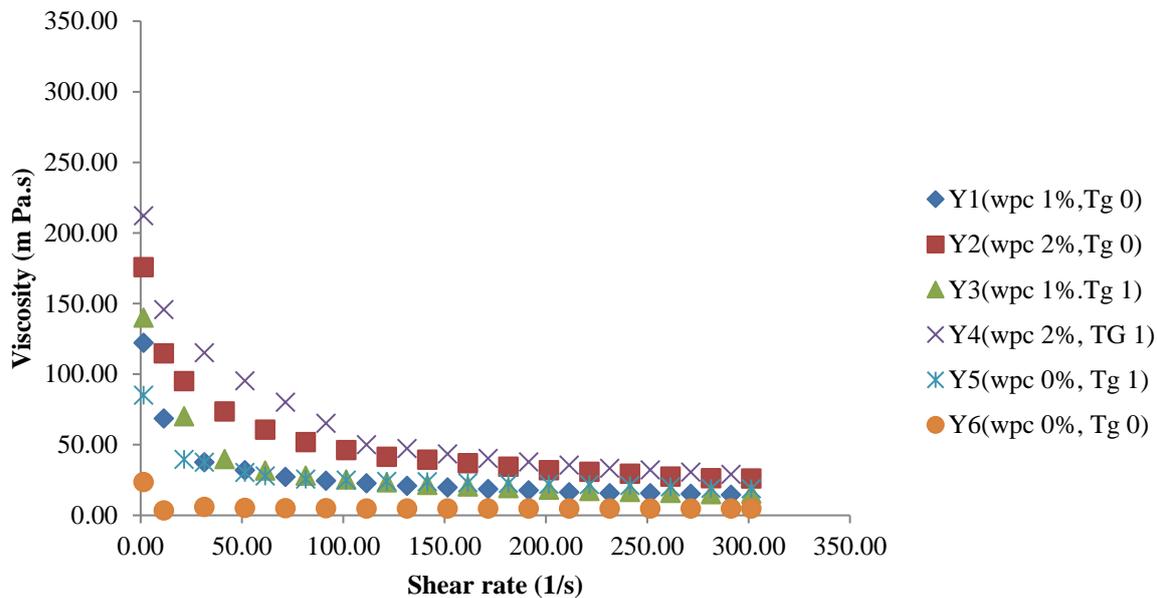
اثر WPC و آنزیم ترانس گلوتامیناز بر رفتار جریان در نمونه‌های دوغ تولید شده با هر دو روش تولید، WPC و آنزیم ترانس گلوتامیناز باعث تغییر رفتار جریان دوغ به سمت رفتار غیر نیوتنی شدند. در درجه‌های برش پایین مقدار ویسکوزیته ظاهری بالاست و با



شکل ۳- نمودار ویسکوزیته نمونه‌های دوغ حاوی کنسانتره پروتئین آب پنیر و آنزیم ترانس گلوتامیناز تهیه شده به روش تولید مستقیم دوغ از شیر
 Fig. 3. Viscosity diagram of dough samples containing Whey Protein Concentrate and transglutaminase enzyme prepared by fermented milk diluted with water method

کد M4(wpc 2%, Tg 1u) در درجه‌های برش پایین بالاترین ویسکوزیته و همچنین در درجه‌های برش بالاتر نیز ویسکوزیته نسبتاً بالاتری نسبت به بقیه نمونه‌های این گروه داشت. در نمونه‌ای دوغ تولید شده از ماست نیز نمونه با کد Y4(wpc 2%, Tg 1u) در درجه‌های برش پایین دارای ویسکوزیته بیشتر و در درجه‌های برش بالا ویسکوزیته تقریباً مشابهی با نمونه با کد Y2(wpc 2%, Tg 0 u) داشت؛ ولی ویسکوزیته نسبتاً بالاتری نسبت به بقیه نمونه‌های این گروه داشتند.

استفاده از WPC و آنزیم ترانس گلوتامیناز باعث ایجاد شبکه‌ای شده که در درجه برش پایین در برابر حرکت مقاومت ایجاد کرده و ویسکوزیته ظاهری را افزایش می‌دهد، ولی در درجه برشی بالاتر به دلیل حذف نیروهای ضعیف، ملکول‌ها با جریان هم جهت شده و ویسکوزیته کاهش می‌یابد و تناسب بین درجه برش و تنش برش به ثبات می‌رسد. با افزایش مقدار WPC و همچنین اعمال تیمار آنزیمی، انحراف از رفتار نیوتنی تشدید شد. در نمونه‌های دوغ تولید شده از شیر، نمونه با



شکل ۴- نمودار ویسکوزیته نمونه‌های دوغ حاوی کنسانتره پروتئین آب پنیر و آنزیم ترانس گلوتامیناز تهیه شده به روش تولید دوغ از ماست
Fig. 4. Viscosity diagram of buttermilk samples containing Whey Protein Concentrate and transglutaminase enzyme prepared by adding water to yogurt method

تنش تسلیم

افزایش مقدار WPC و افزودن آنزیم ترانس گلوتامیناز باعث بالا رفتن نمودار جریان و ایجاد عرض از مبدأ ناشی از تنش تسلیم می‌شود. تنش تسلیم عامل مهمی در پایداری نوشیدنی‌های لبنی اسیدی می‌باشد؛ به طوری که بالاتر بودن این مقدار نشان دهنده وجود شبکه ژلی است؛ که باعث کاهش سرعت حرکت ذرات معلق ناپایدار در نوشیدنی و افزایش پایداری فیزیکی می‌گردد (Kiani et al., 2010).

در اثر هی پروتئین‌های آب پنیر ذرات ژل ایجاد می‌شود. همچنین بخشی از پروتئین آب پنیر با کازئین پیوند برقرار می‌کند که این عمل در اثر فعالیت آنزیم ترانس گلوتامیناز انجام می‌گردد. طی فرایند اسیدی شدن شیر در اثر تخمیر امکان اتصال بین ترکیب‌های جدا شده پروتئین

اثر روش تولید بر رفتار جریان

با توجه به شکل‌های ۱ تا ۴ نمونه‌هایی که به طور مستقیم از شیر تهیه شده بودند (نمونه‌های دارای کد M) به طرز قابل توجهی از نمونه‌های تهیه شده از ماست (نمونه‌های دارای کد Y) ویسکوزیته بالاتری داشتند. به نظر می‌رسد اضافه کردن آب قبل از اسیدی کردن شیر باعث می‌شود که میزان آب بیشتری توسط پروتئین‌ها در طول تخمیر در شبکه ژلی گرفتار شود؛ این در حالی است که آب افزوده شده با ماست برای ساخت دوغ نمی‌تواند به خوبی با پروتئین‌ها که اکنون به صورت تکه‌های ژلی هستند برهم کنش داشته باشد.

ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های M4 و Y4 در میان نمونه‌های گروه‌های مربوط به خود بالاترین ویسکوزیته ظاهری و ضریب قوام را داشتند (جدول ۵). این امر به این دلیل است که پس از تیمار حرارتی نسبتاً شدید (۸۵ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ دقیقه) پروتئین‌های آب پنیر نیز به فعالیت آنزیمی حساس می‌شوند و تحت تأثیر تیمار با آنزیم قرار می‌گیرند و در نتیجه باعث بهبود ساختار تکه‌های ژلی پروتئین‌ها می‌گردد. مشابه این نتایج توسط سانلی و همکاران (Sanli et al., 2011) در ماست قالبی گزارش شده است. میسل‌های کازئین به فعالیت آنزیم ترانس گلوتامیناز بسیار حساس هستند که این امر به ساختار زنجیر مانند آن‌ها نسبت داده می‌شود (Sharma et al., 2001)؛ این در حالی است که پروتئین‌های آب پنیر در حالت طبیعی خود به عمل آنزیم کمتر حساس هستند زیرا پیوندهای دی‌سولفید درون ساختاری، دسترسی آنزیم به قسمت‌های درگیر در هم تنیده شده را محدود می‌نماید (Faergemand et al., 1997). واسرشته کردن پروتئین‌های آب پنیر با حرارت و یا با استفاده از مواد کاهنده می‌تواند حساسیت آن‌ها به آنزیم را بالاتر ببرد (Rodriguez-Nogales, Sharma et al., 2001)؛ این در حالی است (2006).

ریزساختار

ریزساختار نمونه‌های دوغ تیمار شده با WPC و آنزیم ترانس گلوتامیناز با دو روش تولید متفاوت در شکل ۵ نشان داده شده است. ذرات پروتئینی با استفاده از رنگ رودامین رنگ‌آمیزی شده و به شکل شفاف در زمینه تاریک قابل مشاهده است. ذرات به شکل کلئیدی نامنظم و در اشکال و اندازه‌های گوناگون وجود دارد. ذرات دوغ در واقع توده‌های پروتئینی هستند که در ابتدا درون شبکه سه بعدی ژل اسیدی ماست قرار داشتند؛ که در اثر همزنی ناشی از همگن‌سازی شبکه شکسته شده و ذرات دوغ تشکیل می‌شود. ذرات دوغ از لحاظ اندازه معادل صدها میسل کازئین هستند (Kiani et al., 2008).

در نمونه‌های بدون اعمال تیمار آنزیمی، ریزساختار به شکل صاف و همگن با ذرات کوچک‌تر نسبت به سایر نمونه‌ها مشاهده می‌شود. این ذرات خیلی سریع ته‌نشین می‌شوند و دو فاز شدن رخ می‌دهد. در نمونه‌هایی که تیمار WPC اعمال شد با افزایش مقدار WPC، ایجاد ذرات بزرگ و عدم یکنواختی بیشتر می‌شود. فرآیند همگن کردن اگرچه باعث کاهش اندازه ذرات می‌گردد ولی در نمونه‌های WPC، ذرات ژل موجود در سرم، شبکه سه بعدی تشکیل داده که باعث ایجاد توده ذرات بزرگی در دوغ می‌شود. این ذرات در توزیع گسترده‌ای در کل سامانه پراکنده شده‌اند. از ویژگی‌های این شبکه ایجاد تنش تسلیم، ایجاد حالت شل شوندگی و افزایش قوام دوغ است.

آب پنیر دنا توره شده و ذرات کازئین نیز وجود دارد (Puvanenthiran et al., 2002). مجموعه این عوامل باعث ایجاد شبکه سه بعدی در دوغ می‌شود. افزایش مقدار WPC مقدار پروتئین آب پنیر را افزایش داده، و افزودن آنزیم ترانس گلوتامیناز سبب ایجاد اتصالات عرضی بین پروتئین‌های آب پنیر و کازئین می‌شود؛ که این عوامل قدرت ژلی را افزایش می‌دهد، که در نتیجه نیروی لازم برای برش ژل نیز افزایش یافته و سبب افزایش تنش تسلیم نمونه‌های حاوی WPC و آنزیم می‌شود؛ که در نمونه‌های دارای غلظت بالاتر WPC و دارای آنزیم ترانس گلوتامیناز مشهودتر می‌باشد. اوزن و کلیک (Ozen & Kilic, 2009) افزایش تنش تسلیم محاسبه شده با مدل هرشل بالکی را برای نمونه‌های نوشیدنی اسیدی با افزایش مقدار WPC گزارش کردند. با افزایش مقدار WPC تا سطح ۳ درصد، در نتیجه ناپایدار شدن ساختار، تنش تسلیم کاهش پیدا کرد. کیانی و همکاران (Kiani et al., 2010). دلیل افزایش تنش تسلیم دوغ حاوی ژلان را ناشی از ایجاد یک شبکه سه بعدی حاوی ذرات ژل مایع ژلان دانستند؛ که در برابر تنش ناشی از سقوط ذرات مقاومت ایجاد کرده و همچنین ذرات کلئیدی دوغ با این ذرات دارای پیوند فیزیکی هستند. کیوکشین (Küçükçetin, 2008) گزارش کرد که با کاهش نسبت کازئین به پروتئین آب پنیر تنش تسلیم ماست همزده افزایش پیدا می‌کند.

رفتار شل شوندگی

با توجه به شکل‌های ۱ تا ۴ مشاهده می‌شود که در تمام تیمارهای انجام شده حاوی WPC و آنزیم ترانس گلوتامیناز ویسکوزیته با افزایش درجه برش کاهش می‌یابد که نشان‌دهنده رفتار شل شوندگی با برش می‌باشد. بررسی داده‌های بدست آمده از برازش دو مدل قانون توان و هرشل بالکی نشان داد که مدل قانون توان برای توصیف رفتار شل شوندگی نمونه‌های دوغ مناسب‌تر است. محققان دیگری نیز مدل قانون توان را برای توصیف رفتار جریان ماست نوشیدنی بکار بردند (Penna et al., 2001; Janhoj et al., 2008; Gorji et al., 2011). شاخص‌های محاسبه شده مدل قانون توان در جدول ۵ ارائه شده است. داده‌های نشان داده شده در جدول ۵ حاکی از آن است که افزودن WPC و تیمار آنزیمی با ترانس گلوتامیناز، به طرز قابل توجهی ضریب قوام (k) و ویسکوزیته نمونه‌های دوغ را افزایش داد؛ به‌علاوه بکارگیری ترانس گلوتامیناز و WPC در هر دو روش تهیه دوغ باعث کاهش شاخص رفتار جریان (n) دوغ شد. قابل ذکر است که هر چه مقدار عددی n از یک به سمت صفر نزدیک شود خصوصیات رفتار جریان از نیوتنی به شل شونده با برش نزدیک‌تر خواهد شد (Bourne, 2002). بنابراین افزودن WPC و تیمار آنزیمی با ترانس گلوتامیناز توانسته است خصوصیات سودوپلاستیک نمونه‌های دوغ را بالا ببرد. ضریب قوام و

جدول ۵- شاخص‌های محاسبه شده توسط مدل قانون توان
Table 5- Indexes calculated by power law model

Treatment تیمار	Coefficient of consistency (mPa.s ⁿ)(k) ضریب قوام	n شاخص رفتار جریان	R ²	Adj-R ²	RMSE
M1	478.27±4.16 ^f	0.6392±0.008 ^d	0.9961	0.996	0.2857
M2	569.10±5.74 ^c	0.4889±0.007 ^h	0.9931	0.9928	0.3913
M3	543.18±6.56 ^d	0.5892±0.008 ^f	0.9948	0.9946	0.3445
M4	725.55±9.52 ^a	0.2194±0.008 ^j	0.9938	0.9936	0.4633
M5	393.56±6.25 ^h	0.7383±0.009 ^c	0.9937	0.9935	0.2854
M6	138.37±3.86 ^j	0.9201±0.004 ^b	0.9873	0.9869	0.3721
Y1	414.28±6.01 ^g	0.7489±0.014 ^c	0.9948	0.9946	0.0844
Y2	552.60±10.42 ^d	0.5397±0.010 ^g	0.9945	0.9943	0.1524
Y3	506.15±3.79 ^e	0.6144±0.018 ^e	0.9943	0.9941	0.0884
Y4	665.03±8.70 ^b	0.3214±0.015 ⁱ	0.9932	0.993	0.1782
Y5	299.80±6.57 ⁱ	0.7483±0.002 ^c	0.9991	0.999	0.0135
Y6	69.48±5.31 ^k	0.9783±0.008 ^a	0.9969	0.9968	0.1523

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵٪ است.

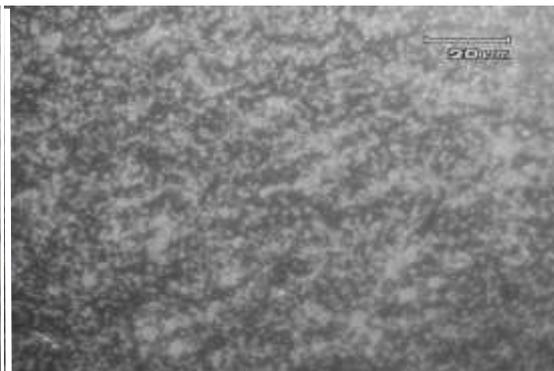
Similar letters in each column indicate no significant difference at the 95% confidence level.

همانطور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، توزیع ذرات در نمونه‌های دارای کد M که از تخمیر شیر رقیق شده با آب تهیه شده‌اند نسبت به انواع Y (تهیه شده از رقیق‌سازی ماست)، منظم‌تر است. می‌توان نتیجه گرفت که اضافه کردن آب قبل از تخمیر، باعث تجمع مرتب‌تر میسل‌های کازئین در مقایسه با افزودن آب به ماست (بعد از تخمیر) می‌گردد. هرچه توزیع ذرات منظم‌تر باشد، منافذ حاوی آب و خوشه‌های کازئینی کوچک‌تر هستند و آب کمتری از این شبکه‌ها به بیرون تراوش می‌کند (Schorsch *et al.*, 2000).

در نمونه‌هایی که تیمار آنزیمی اضافه گردید، در هم تنیده شدن پروتئین‌ها توسط آنزیم ترانس‌گلوتامیناز منجر به توزیع سازمان یافته‌تر و شبکه منظم‌تری از خوشه‌های پروتئینی در نمونه‌های دوغ می‌شود که در نتیجه آن منافذهای حاوی آب میان آن‌ها کوچک‌تر دیده می‌شود. فارگمنمت و کویست (Færgemand & Qvist, 1997) ذکر کرده‌اند که برهم‌کنش‌های میان میسل‌های کازئین، به دلیل پیوندهای جدید ایجاد شده توسط آنزیم ترانس‌گلوتامیناز در سطح و تا حدی درون آن‌ها، تغییر می‌یابد که متعاقب آن ریزساختار شبکه‌ای پروتئین عوض می‌شود و ژلاسیون آن‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرد.



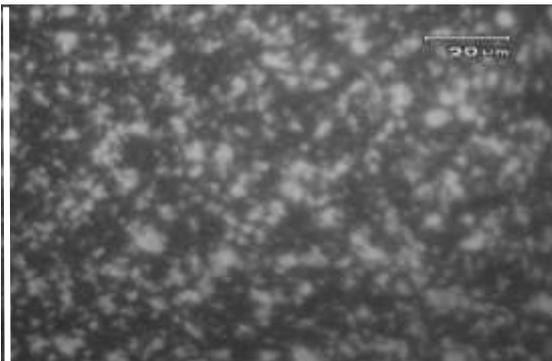
M1



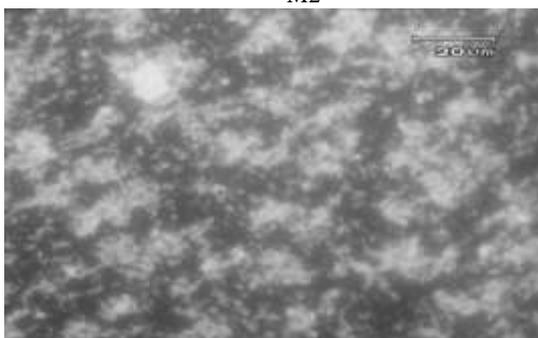
Y1



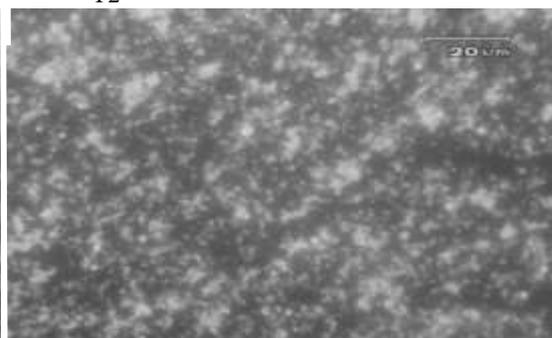
M2



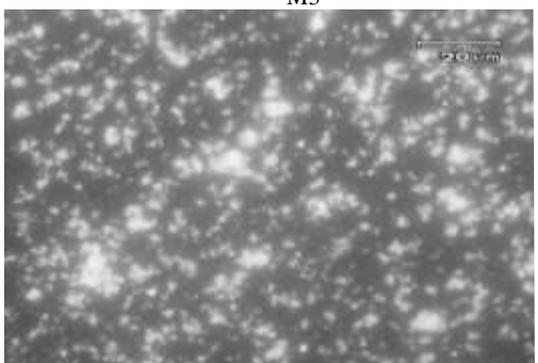
Y2



M3



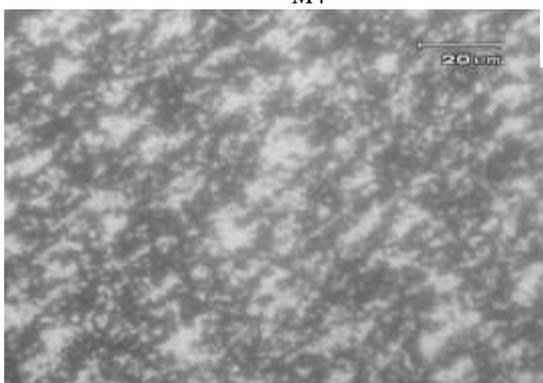
Y3



M4



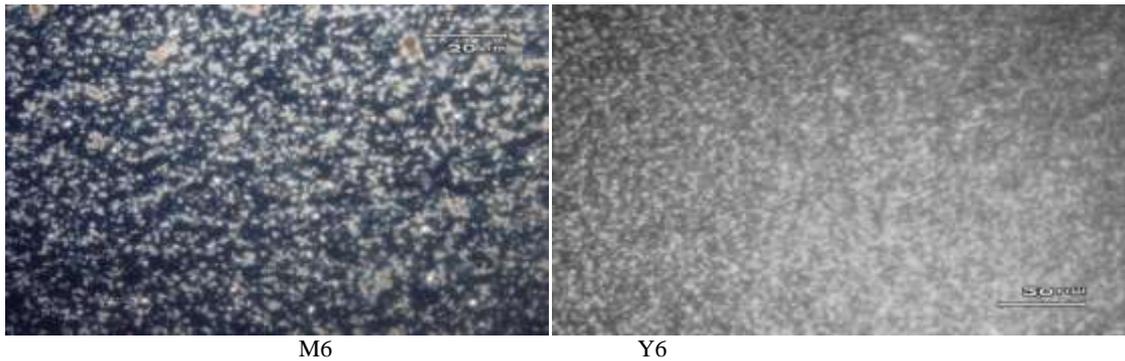
Y4



M5



Y5



شکل ۵- ریزساختار نمونه‌های تولید شده تحت تأثیر تیمارهای اعمال شده

Fig. 5. The microstructure of the samples produced under the influence of the applied treatments

که WPC سبب ایجاد شبکه ژل در دوغ گردیده که آنزیم ترانس گلوتامیناز با مرتب کردن این ساختار سبب بهبود خصوصیات فیزیکی نمونه‌های دوغ شد؛ که بررسی ریزساختار نمونه‌های دوغ نیز مؤید این مسئله می‌باشد. روش تهیه دوغ هم عامل تأثیرگذار دیگری در ویژگی‌های فیزیکی این محصول بود. نمونه‌هایی که به‌صورت مستقیم از شیر رقیق شده بدست آمدند خصوصیات فیزیکی بهتری نسبت به نمونه‌هایی که پس از افزودن آب به ماست تولید شدند از خود نشان دادند. در مجموع از بین تیمارهای مورد بررسی تیمار حاوی ۲ درصد WPC و یک واحد آنزیم که با روش تولید دوغ به‌طور مستقیم از شیر تهیه شدند پیشنهاد می‌گردد.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش از کنسانتره پروتئین آب پنیر (WPC) با هدف بهره‌گیری از خواص عملکردی پروتئین‌های آب پنیر و همچنین آنزیم ترانس‌گلوتامیناز با هدف ایجاد اتصالات عرضی بین ملکولی و درون ملکولی بین کازئین و پروتئین‌های آب پنیر استفاده شد. نمونه‌ها به دو روش تولید (تولید دوغ از شیر و تولید دوغ از ماست) تهیه شده و ویژگی‌های محصول نهایی مورد ارزیابی قرار گرفت. افزودن WPC و تیمار آنزیمی با ترانس‌گلوتامیناز به طرز قابل توجهی ضریب قوام و ویسکوزیته نمونه‌های دوغ را افزایش و اندازه ذرات را کاهش داد و همچنین رفتار شل‌شوندگی با برش تشدید شد. این نتایج نشان می‌دهد

References

1. Afonso, I.M., & Maia, J.M. (1999). Rheological monitoring of structure evolution and development in stirred yoghurt. *Journal of Food Engineering*, 42(4), 183-190. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(99\)00118-1](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(99)00118-1)
2. Beirami-Serizkani, F., Hojjati, M., & Jooyandeh, H. (2021). The effect of microbial transglutaminase enzyme and Persian gum on the characteristics of traditional kefir drink. *International Dairy Journal*, 112(10). <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104843>
3. Danesh, E., Jooyandeh, H., Samavati, V., & Goudarzi, M. (2017). Effect of enzymatic transglutaminase treatment on textural and sensory properties of low-fat Uf-Feta cheese incorporated with whey proteins using response surface optimization. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 13(42), 282-294. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/iftstrj.v1395i0.45870>
4. Danesh, E., Goudarzi, M., & Jooyandeh, H. (2018). Transglutaminase-mediated incorporation of whey protein as fat replacer into the formulation of reduced-fat Iranian white cheese: physicochemical, rheological and microstructural characterization. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(4), 2416-2425. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9858-5>
5. Danesh, E., Goudarzi, M., & Jooyandeh, H. (2017). Effect of whey protein addition and transglutaminase treatment on the physical and sensory properties of reduced-fat ice cream. *Journal of Dairy Science*, 100(7), 5206-5211. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12537>
6. Bourne, M.C. (2002). *Food Texture and viscosity. Concept and Measurement*, New York, Academic press, p.p, 214.
7. Færgemand, M., & Qvist, K.B. (1997). Transglutaminase: effect on rheological properties, microstructure and permeability of set style acid skim milk gel. *Food Hydrocolloids*, 11(3), 287-292. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(97\)80058-6](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(97)80058-6)
8. Faergemand, M., Otte, J., & Qvist, K.B. (1997). Enzymatic cross-linking of whey proteins by a Ca²⁺-independent microbial transglutaminase from *Streptomyces lydicus*. *Food Hydrocolloids*, 11(1), 19-25. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(97\)80006-9](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(97)80006-9)

9. Foroughi Nia, S., Abasi, S., & Hamidi Esfahani, Z. (2007). Effect of individual and combined addition of salep, tragacantin and guar gums on the stabilisation of Iranian doogh. *Journal of Nutrition Scince & Food Technology*, 2(2), 15-25
10. Foroughi Nia, S., Abasi, S., & Hamidi Esfahani, Z. (2009). Influence of shear stirring and homogenization on serum separation of doogh. *Electronic Journal of Food Processing and Preservation*, 1(3), 83-100. <https://doi.org/20.1001.1.24233544.1388.1.3.5.9>
11. Gorji, E.G., Mohammadifar, M.A., & Ezzatpanah, H. (2011). Influence of gum tragacanth, *Astragalus gossypinus*, addition on stability of nonfat Doogh, an Iranian fermented milk drink. *International Journal of Dairy Technology*, 64(2), 262-268. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00658.x>
12. Janhøj, T., Frøst, M.B., & Ipsen, R. (2008). Sensory and rheological characterization of acidified milk drinks. *Food Hydrocolloids*, 22(5), 798-806. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.03.006>
13. Jaros, D., Heidig, C., & Rohm, H. (2007). Enzymatic modification through microbial transglutaminase enhances the viscosity of stirred yogurt. *Journal of Texture Studies*, 38(2), 179-198. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2007.00093.x>
14. Kiani, H., Mousavi, M.E., Razavi, H., & Morris, E.R. (2010). Effect of gellan, alone and in combination with high-methoxy pectin, on the structure and stability of doogh, a yogurt-based Iranian drink. *Food Hydrocolloids*, 24(8), 744-754. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.03.016>
15. Kiani, H., Mousavi, S.M.A., & Emam-Djomeh, Z. (2008). Rheological properties of Iranian yoghurt drink, Doogh. *International Journal of Dairy Science*, 3(2), 71-78. <https://doi.org/10.3923/ijds.2008.71.78>
16. Kiani, H., Ebrahimzadeh Mousavi, S.M.A., Razavi, S.H., Yarmand, M.S., & Dini, A. (2009). Effect of source and amount of total solids content on the rheological properties and stability of non-fat doogh. *Journal Of Agricultural Engineering Rresearch*, 10(3),45-56.
17. Köksoy, A., & Kılıç, M. (2003). Effects of water and salt level on rheological properties of ayran, a Turkish yoghurt drink. *International Dairy Journal*, 13(10), 835-839. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00103-1](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00103-1)
18. Koksoy, A., & Kilic, M. (2004). Use of hydrocolloids in textural stabilization of a yoghurt drink, ayran. *Food Hydrocolloids*, 18(4), 593-600. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2003.10.002>
19. Küçükçetin, A. (2008). Effect of heat treatment and casein to whey protein ratio of skim milk on graininess and roughness of stirred yoghurt. *Food Research International*, 41(2), 165-171. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.11.003>
20. Lorenzen, P.C., Neve, H., Mautner, A., & Schlimme, E. (2002). Effect of enzymatic cross-linking of milk proteins on functional properties of set-style yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 55(3), 152-157. <https://doi.org/10.1046/j.1471-0307.2002.00065.x>
21. Nilson, L.-E., Lyck, S., & Tamime, A.Y. (2006). Production of drinking products. In: Tamime, A. (ed.) *Fermented Milks*. UK: Society of Dairy Tehnology-Blackwell Science Ltd, p,p, 95-127.
22. Ozen, A.E., & Kilic, M. (2009). Improvement of physical properties of nonfat fermented milk drink by using whey protein concentrate. *Journal of Texture Studies*, 40(3), 288-299. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2009.00182.x>
23. Patocka, G., Cervenkova, R., Narine, S., & Jelen, P. (2006). Rheological behaviour of dairy products as affected by soluble whey protein isolate. *International Dairy Journal*, 16(5), 399-405. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.05.010>
24. Penna, A.L.B., Sivieri, K., & Oliveira, M.N. (2001). Relation between quality and rheological properties of lactic beverages. *Journal of Food Engineering*, 49(1), 7-13. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(00\)00179-5](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(00)00179-5)
25. Puvanenthiran, A., Williams, R.P.W., & Augustin, M.A. (2002). Structure and visco-elastic properties of set yoghurt with altered casein to whey protein ratios. *International Dairy Journal*, 12(4), 383-391. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00033-X](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00033-X)
26. Rodriguez-Nogales, J.M. (2006). Effect of preheat treatment on the transglutaminase-catalyzed cross-linking of goat milk proteins. *Process Biochemistry*, 41(2), 430-437. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.07.009>
27. Sandoval-Castilla, O., Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E., & Vernon-Carter, E.J. (2004). Microstructure and texture of yogurt as influenced by fat replacers. *International Dairy Journal*, 14(2), 151-159. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00166-3](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00166-3)
28. Şanlı, T., Sezgin, E., Deveci, O., Şenel, E., & Benli, M. (2011). Effect of using transglutaminase on physical, chemical and sensory properties of set-type yoghurt. *Food Hydrocolloids*, 25(6), 1477-1481. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.09.028>
29. Schorsch, C., Carrie, H., & Norton, I.T. (2000). Cross-linking casein micelles by a microbial transglutaminase: influence of cross-links in acid-induced gelation. *International Dairy Journal*, 10(8), 529-539. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(00\)00069-8](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(00)00069-8)

30. Shahidi, F., Ehtiati, A., Mohebi, M., & Yavarmanesh, M. (2013). The effect of WPC and starters producing exopolysaccharide on the physical properties of doogh. *Iranian Food Science and Technology*, 9(4), 295-303. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/ifstrj.v9i4.30072>
31. Sharma, R., Lorenzen, P.C., & Qvist, K.B. (2001). Influence of transglutaminase treatment of skim milk on the formation of ϵ -(γ -glutamyl) lysine and the susceptibility of individual proteins towards crosslinking. *International Dairy Journal*, 11(10), 785-793. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00096-6](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00096-6)
32. Shirkhani, M., Madadlou, A., & Khosrowshahi, A. (2015). Enzymatic modification to stabilize the fermented milk drink, doogh. *Journal of Texture Studies*, 46(1), 22-33. <https://doi.org/10.1111/jtxs.12107>
33. Ye, A., & Taylor, S. (2009). Characterization of cold-set gels produced from heated emulsions stabilized by whey protein. *International Dairy Journal*, 19(12), 721-727. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.06.003>



Ethanollic Extract of *Prosopis farcta* Root: Determination of Total Phenols and Flavonoids, Radical Scavenging Ability and Its Antimicrobial Effect on Some Bacteria Causing Infection and Food Poisoning

B. Alizadeh Behbahani¹*, M. Rahmati-Joneidabad², M. Noshad¹

1- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

(*- Corresponding Author Email: B.alizadeh@asnrukh.ac.ir)

2- Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

Received: 19.05.2022
Revised: 11.06.2022
Accepted: 15.06.2022
Available Online: 01.05.2023

How to cite this article:

Alizadeh Behbahani, B., Rahmati-Joneidabad, M., & Noshad, M. (2024). Ethanollic extract of *Prosopis farcta* root: Determination of total phenols and flavonoids, radical scavenging ability and its antimicrobial effect on some bacteria causing infection and food poisoning. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 20(1), 35-46. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.76780.1173>

Introduction

The use of safe ingredients to preserve food is steadily increasing. The high time and cost of production and approval of synthetic food additives and the reduction of public acceptance of these compounds have caused serious problems in their utilization. Excessive use of synthetic preservatives, which some of them are suspected to be toxic, has completely eliminated these additives and led to the use of natural alternatives to preserve or extend the shelf life of food products. Many plant-based bioactive compounds are good alternatives to synthetic antimicrobial and antioxidant supplements. Plant extracts have significant biological activity including antioxidant, antibacterial, and antifungal properties, which has increased their use in food products. In addition, plant-derived antimicrobial compounds have been considered in the pharmaceutical industry to control microbial pathogens. Natural antioxidant and antimicrobial compounds are receiving a lot of research and industrial attention in food preservation technologies. In the last 2 decades, the use of herbal medicines rich in bioactive molecules (including polyphenols, carotenoids and flavonoids) with medicinal and health effects such as delaying the onset of some diseases such as cardiovascular disorders, diabetes, and cancer have increased.

The plant *Prosopis farcta* grown in arid and semi-arid regions. In Iran, it is found in the southern regions of the country. In traditional medicine, this plant is used to prevent hyperlipidemia and hyperglycemia, to treat hemorrhoids, intestinal diseases and diarrhea, and leprosy, and to reduce abortion. In addition, antimicrobial and antioxidant properties of various species of *Prosopis* have been reported. Accordingly, in this study, after examining the of total phenols and flavonoids concentrations, the antioxidant and antimicrobial properties of ethanollic extract of *Prosopis farcta* were determined.

Materials and Methods

The ethanollic extract of *P. farcta* was obtained maceration method. Total phenol content (by Folin-Ciocalteu reagent method), total flavonoid content (by aluminum chloride method), antioxidant activity (by DPPH and ABTS free radical scavenging and beta-carotene bleaching methods), and antimicrobial effect against *Escherichia coli*, *Shigella dysentery*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus subtilis* (by disk diffusion agar, well diffusion agar, minimum inhibitory concentration, and minimum fungicidal concentration) of the extract were evaluated.



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.76780.1173>

Results and Discussion

P. farcta ethanolic extract showed high phenol content (145.58 ± 1.30 mg GAE/g), while its total flavonoid content was 72.37 ± 1.48 mg QE/g. Antioxidant activity of ethanolic extract of melon root using different methods of DPPH and ABTS free radical scavenging and beta-carotene bleaching inhibition were 62.60, 71.82 and 54.50%, respectively. Antibacterial activity of *P. farcta* ethanolic extract against *Escherichia coli*, *Shigella dysentery*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus subtilis* according to disk diffusion agar and well diffusion agar methods showed that the antimicrobial activity of the extract was concentration dependent and *Shigella dysentery* and *Staphylococcus aureus* were the most resistant and sensitive bacterial strains to the extract respectively. The minimum inhibitory concentrations of ethanolic extract of *P. farcta* root for *Escherichia coli*, *Shigella dysentery*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus subtilis* were 8, 8, 4 and 4 mg/ml, respectively; while the minimum bactericidal concentrations for these bacteria were 128, 256, 32 and 64 mg/ml, respectively.

Conclusion

In the present study, ethanolic extract obtained from the roots of *P. farcta* was identified as a rich source of phenolic and flavonoid compounds. The ethanolic extract showed effective antimicrobial and antioxidant properties. The results greatly indicated the promising effect of *P. farcta* root extract against Gram-positive and Gram-negative bacterial species. As the microbial resistance is constantly increasing, ethanolic extract of *P. farcta* root can be considered as a suitable complementary option to tackle this problem. In addition, the identification of individual components of *P. farcta* ethanolic extract and their biological functions or their combination with common antioxidant and antimicrobial agents could be the subject of future research.

Keywords: Antibacterial effect, Antioxidant activity, Bioactive extract, Phenolic compounds, *Prosopis farcta*

مقاله پژوهشی

جلد ۲۰، شماره ۱، فروردین - اردیبهشت ۱۴۰۳، ص. ۴۶-۳۵

عصاره اتانولی ریشه گیاه کهورک: تعیین فنول و فلاونوئید کل، توانایی رادیکال گیرندگی و اثر ضد میکروبی آن بر برخی از باکتری‌های عامل عفونت و مسمومیت غذایی

بهروز علیزاده بهبهانی^{۱*} - مصطفی رحمتی جنیدآباد^۲ - محمد نوشاد^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۲۵

چکیده

پژوهش حاضر به منظور بررسی میزان فنول کل و فلاونوئید کل و همچنین فعالیت مهار رادیکال آزاد و ضد میکروبی عصاره اتانولی ریشه کهورک (*Prosopis farcta*) انجام شد. عصاره اتانولی کهورک محتوای فنول بالایی را نشان داد ($145/58 \pm 1/30$ mg GAE/g). همچنین محتوای فلاونوئید کل آن $1/48 \pm 22/37$ mg QE/g بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی ریشه کهورک با استفاده از روش‌های مختلف مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS و مهار زوال رنگ بتا-کاروتن به ترتیب برابر با $62/60$ و $71/82$ و $54/50$ درصد بود. فعالیت ضد باکتریایی عصاره کهورک در برابر باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *شیگلا دیسانتری*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* مطابق روش‌های دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار نشان داد که فعالیت ضد میکروبی عصاره وابسته به غلظت است و باکتری‌های *شیگلا دیسانتری* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب با کمترین و بیشترین قطر هاله عدم رشد، مقاوم‌ترین و حساس‌ترین سویه‌های باکتریایی در برابر عصاره بودند. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره اتانولی ریشه کهورک برای باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *شیگلا دیسانتری*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* به ترتیب ۸، ۸، ۴ و ۴ میلی‌لیتر بود؛ در حالی که حداقل غلظت کشندگی برای باکتری‌های مذکور به ترتیب برابر با ۱۲۸، ۲۵۶، ۳۲ و ۶۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود.

واژه‌های کلیدی: اثر ضد باکتریایی، ترکیبات فنولی، کهورک، عصاره زیست فعال، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

مقدمه

و استفاده از جایگزین‌های طبیعی جهت نگهداری یا افزایش عمر مفید محصولات غذایی شده است. بسیاری از ترکیبات زیست فعال گیاهی جایگزین مناسبی برای افزودنی‌های غذایی ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی مصنوعی به شمار می‌آیند (Ortega-Ramirez et al., 2014).

عصاره‌های گیاهی دارای فعالیت بیولوژیکی قابل توجهی از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی و ضد قارچی می‌باشند که این امر

تلاش جهت استفاده از مواد جدید ایمن برای نگهداری مواد غذایی در سراسر جهان افزایش یافته است. زمان و هزینه بالای تولید و تأیید افزودنی‌های شیمیایی مواد غذایی و کاهش پذیرش عمومی در مصرف این ترکیبات استفاده از آن‌ها را با مشکلات جدی روبه‌رو کرده است. استفاده بیش از حد از نگهدارنده‌های مصنوعی، که برخی از آن‌ها به دلیل سمی بودن آن‌ها مشکوک هستند، باعث حذف کامل این عوامل

۱- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران
* نویسنده مسئول: (Email: B.alizadeh@asnrukh.ac.ir)

۲- استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران

عصاره اتانولی گیاه کهورک با استفاده از روش خیساندن تهیه شد. بدین ترتیب که، ۱ گرم نمونه با ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد به مدت ۲۰ ساعت همزده شد. سپس مخلوط با استفاده از کاغذ صافی واتمن فیلتر و تا خشک شدن و خروج حلال اضافی تحت خلأ در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد (Alizadeh-Behbahani et al., 2021).

تعیین فنول کل

در این روش ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره به همراه ۲ میلی‌لیتر سدیم کربنات (۷۵ گرم در لیتر) به معرف فولین- سیوکالچو (۱۰ درصد حجمی/ حجمی) اضافه شد. پس از نگهداری نمونه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق، جذب آن در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقدار فنول کل بر اساس میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک عصاره (mg GAE/g) گزارش شد (Rahmati-Joneidabad & Alizadeh, 2021).

تعیین فلاونوئید کل

بدین منظور ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره اتانولی گیاه کهورک (۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با ۰/۳ میلی‌لیتر محلول نیتريت سدیم (۵ درصد) مخلوط گردید. پس از افزودن ۰/۳ میلی‌لیتر آلومینیوم تری کلراید (۱۰ درصد وزنی/حجمی) مخلوط به مدت ۶ دقیقه همزده شد. در مرحله بعد ۲ میلی‌لیتر سود ۱ مولار اضافه و جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان فلاونوئید کل بر اساس میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک عصاره (mg QE/g) گزارش گردید (Barzegar et al., 2020).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

از سه روش مهار رادیکال آزاد DPPH، مهار رادیکال آزاد ABTS و روش رنگ‌بری بتاکاروتن- لینولئیک اسید جهت اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی گیاه کهورک استفاده شد.

اندازه‌گیری مهار رادیکال آزاد DPPH

بدین منظور، ۵۰ میکرولیتر عصاره یا نمونه کنترل با ۵ میلی‌لیتر محلول DPPH (۰/۱۲ میلی‌مولار) مخلوط گردید. محلول به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در پایان جذب نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH عصاره طبق فرمول زیر محاسبه گردید (Alizadeh Behbahani et al., 2021):

$$(۱) \quad \text{جذب عصاره} - \text{جذب نمونه کنترل} \times 100 = \text{درصد فعالیت بازدارندگی} \times \frac{\text{جذب نمونه کنترل}}{\text{جذب نمونه کنترل}}$$

استفاده از آن‌ها را در محصولات غذایی افزایش داده است. علاوه بر این، ترکیبات ضد میکروبی با منشأ گیاهی در صنعت داروسازی برای کنترل پاتوژن‌های میکروبی مورد توجه قرار گرفته است. اگرچه معرفی آنتی‌بیوتیک‌ها به‌طور چشمگیری درمان عفونت‌های باکتریایی را بهبود می‌بخشند، ظهور سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک منجر به جستجوی مداوم برای ترکیبات ضد میکروبی طبیعی شده است. یک آنتی‌اکسیدان طبیعی برای جلوگیری از آسیب پراکسیداتیو لیپیدی که در چندین اختلال مانند تصلب شرایین، سرطان‌زایی و در فرآیند پیری نقش دارد نیز اهمیت زیادی دارد (Duffy & Power, 2001). عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی مختلفی فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی بالایی را از خود نشان داده‌اند (Poudineh et al., 2015).

گیاه کهورک یا جفجغه با نام علمی *Prosopis farcta* متعلق به خانواده Fabaceae بوده که در مناطق خشک و نیمه‌خشک آمریکا، آفریقا و آسیا می‌روید. در ایران نیز در مناطق جنوبی کشور در استان‌های هرمزگان، خوزستان، سیستان و بلوچستان، جنوب فارس و بوشهر یافت می‌شود. گیاه کهورک با ارتفاع حدود ۳۰ تا ۱۰۰ سانتی‌متری، گیاهی بوته‌ای و چند ساله می‌باشد که به آب زیادی نیاز ندارد و در زمین‌های خشک یافت می‌شود. در طب سنتی از این گیاه جهت جلوگیری از افزایش چربی و قند خون، درمان بواسیر، بیماری‌های روده‌ای و اسهال، جذام و تنگی نفس و کاهش سقط جنین استفاده می‌شود. علاوه بر این خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی گونه‌های مختلف آن گزارش شده است (Aziznia et al., 2019; Khatami et al., 2016; Morovati Sharifabad & Salehi, 2017). با توجه به اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی گیاه کهورک در این پژوهش پس از بررسی میزان فنول و فلاونوئید کل، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره اتانولی این گیاه تعیین گردید.

مواد و روش‌ها

سویه‌های میکروبی و مواد شیمیایی مورد استفاده

در این پژوهش از سویه‌های *اشرشیا کلی*، *شیگلا دیسانتری*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* نگهداری شده در کلکسیون میکروبی گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان استفاده شد. دیسک‌های بلانک، محلول تری‌فنیل‌تترازولیم کلراید، محیط‌های کشت مولر هینتون آگار و مولر هینتون برات از شرکت مرک (آلمان) و معرف‌های ABTS، بتاکارتن/ لینولئیک اسید، DPPH و فولین- سیوکالچو از شرکت سیگما (آمریکا) تهیه شدند.

تهیه عصاره اتانولی گیاه کهورک

روش مهار رادیکال آزاد ABTS

روی محیط‌های کشت، ۶۰ میکرولیتر از هر یک از غلظت‌های تهیه شده عصاره (۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در هر چاهک ریخته شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند و قطر هاله‌های عدم رشد اطراف چاهک‌ها بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری گردید (Shahidi et al., 2019).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی

در تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی، ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف نمونه در محیط کشت مولر هینتون برات (۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به همراه ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی به پلیت ۹۶ خانه‌ای اضافه شد. پس از پایان آنکوباسیون (به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد)، ۱۰ میکرولیتر تری‌فنیل‌تترازولیوم کلرید ۵ درصد به هر یک از چاهک‌ها اضافه و مجدداً آنکوبه‌گذاری انجام شد. پس از ۳۰ دقیقه اولین چاهکی که در آن رنگ قرمز مشاهده نشد، غلظت آن چاهک به‌عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی ثبت شد (Yeganegi et al., 2018).

تعیین حداقل غلظت کشندگی

به‌منظور تعیین حداقل غلظت کشندگی همه چاهک‌های بدون کدورت به‌طور جداگانه روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شدند. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد آنکوبه شدند. غلظتی از عصاره اتانولی که در آن باکتری رشد نکرد به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش شد (Alizadeh Behbahani & Fooladi, 2018).

نتایج و بحث

بسیاری از روش‌های نگهداری مواد غذایی را می‌توان برای کنترل فساد میکروبی و اکسیداسیون استفاده نمود. اگرچه عوامل ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی مصنوعی در بسیاری از کشورها تأیید شده است، استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی ایمن و مؤثر یکی از خواسته‌های مصرف‌کنندگان و تولیدکنندگان مواد غذایی است. گیاهان دارویی به‌طور سنتی برای درمان اختلالات سلامتی و پیشگیری از بیماری‌ها استفاده می‌شوند و منبعی از ترکیبات زیست‌فعال با خواص افزودنی غذایی هستند. گیاهان دارویی سرشار از ترپن‌ها و ترکیبات فنولی هستند که خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی دارند (Alizadeh Behbahani et al., 2019; Alizadeh Behbahani & Shahidi, 2013; Alizadeh Behbahani, Shahidi, et al., 2019). در این راستا، عصاره اتانولی ریشه گیاه کهورک استخراج گردید و میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی آن

در این روش، حجم‌های برابری از پرسولفات پتاسیم ۲/۴۵ میلی‌مولار و ۷ میلی‌مولار مخلوط شدند و محلول حاصل در دمای اتاق در مکانی تاریک به مدت ۱۶ ساعت برای تولید کاتیون‌های رادیکال ABTS نگهداری شد. پس از آن، متانول به محلول رادیکال ABTS اضافه شد تا به جذب 0.7 ± 0.7 در ۷۳۴ نانومتر برسد. محلول رادیکال ABTS (۳/۹ میلی‌لیتر) با ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره یا متانول به‌عنوان کنترل مخلوط و پس از نگهداری در دمای اتاق به مدت ۶ دقیقه، جذب آن در ۷۳۴ نانومتر خوانده شد. فعالیت مهارکنندگی در نهایت به‌صورت زیر تعیین شد (Alizadeh Behbahani et al., 2021):

$$(۲) \quad \text{جذب عصاره - جذب نمونه کنترل} \times 100 = \frac{\text{جذب نمونه کنترل}}{\text{جذب نمونه کنترل}} \text{درصد فعالیت بازدارندگی}$$

روش رنگبری بتاکاروتن - لینولئیک اسید

میزان قدرت آنتی‌اکسیدانی در این روش بر اساس مقاومت در برابر اکسیداسیون لینولئیک اسید و تغییر رنگ بتاکاروتن از طریق رادیکال‌های آزاد می‌باشد که مانع از تولید هیدروپراکسیدهای کائوچوگه و ترکیبات فرار می‌شود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی در این روش طبق فرمول زیر محاسبه گردید (Tanavar et al., 2020):

$$(۳) \quad 100 \times \frac{\text{جذب کنترل بعد از 120 دقیقه} - \text{جذب نمونه بعد از 120 دقیقه}}{\text{جذب کنترل بعد از 120 دقیقه} - \text{جذب کنترل در زمان صفر}} = \text{درصد جذب رادیکال}$$

بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره

از روش‌های دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی به‌منظور بررسی قدرت ضد میکروبی عصاره اتانولی گیاه کهورک استفاده شد.

روش دیسک دیفیوژن آگار

پس از تهیه غلظت‌های مختلف عصاره (۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) و استریل آن‌ها با استفاده از توسط فیلترهای ۰.۴۵ میکرومتری، دیسک‌های بلانک به مدت ۲۰ دقیقه در غلظت‌های تهیه شده نگهداری شدند. سپس دیسک روی محیط‌های کشت مولر هینتون آگار حاوی باکتری‌ها تثبیت شدند. پس از گرمخانه‌گذاری پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای باکتری‌ها، قطر هاله‌های عدم رشد اندازه‌گیری شد (Alizadeh Behbahani et al., 2019).

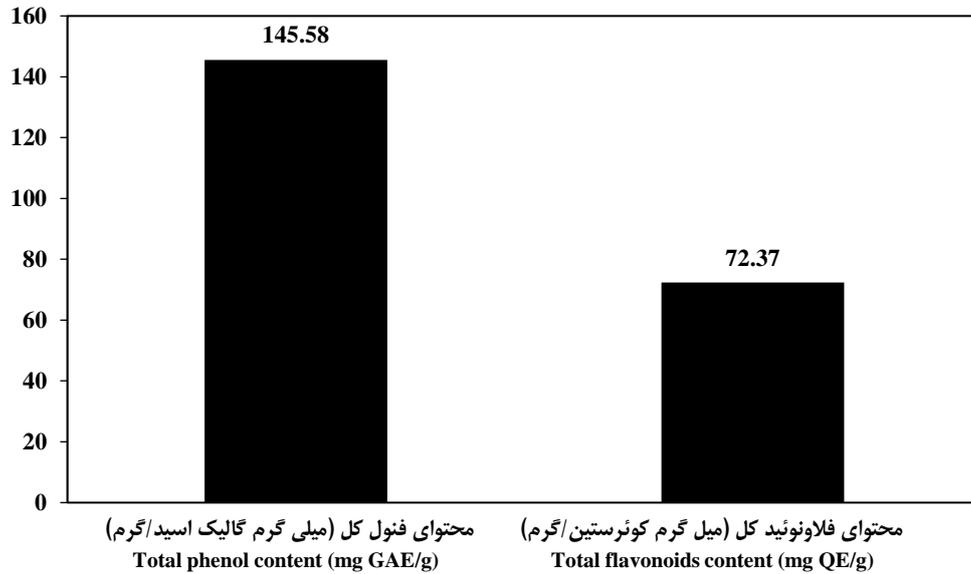
چاهک آگار

در این روش ابتدا چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌لیتر در پلیت‌های حاوی مولر هینتون آگار ایجاد گردید. پس از کشت سطحی باکتری‌ها

آنتی‌اکسیدانی آن بر پایه روش‌های مهار رادیکال‌های DPPH و ABTS و جلوگیری از زوال رنگ بتا-کاروتن به ترتیب برابر با $1/50 \pm$ و $62/60 \pm$ درصد، $71/82 \pm$ و $54/50 \pm$ درصد بود.

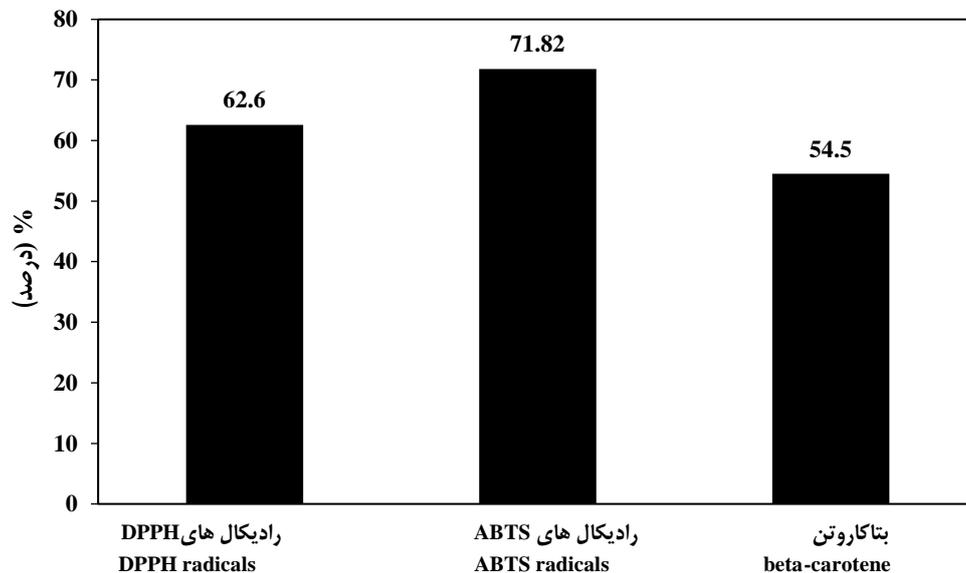
بررسی گردید. نتایج نشان داد که عصاره حاوی $1/30 \pm$ mg GAE/g فنول کل و $1/48 \pm$ mg QE/g فلاونوئید کل می‌باشد (شکل ۱).

علاوه بر این، عصاره اتانولی ریشه کهورک دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجهی بود (شکل ۲): بطوری‌که فعالیت



شکل ۱- محتوای فنول و فلاونوئید کل عصاره اتانولی ریشه کهورک

Fig. 1. Total phenol and flavonoid contents of ethanolic extract of *Prosopis farcta* root

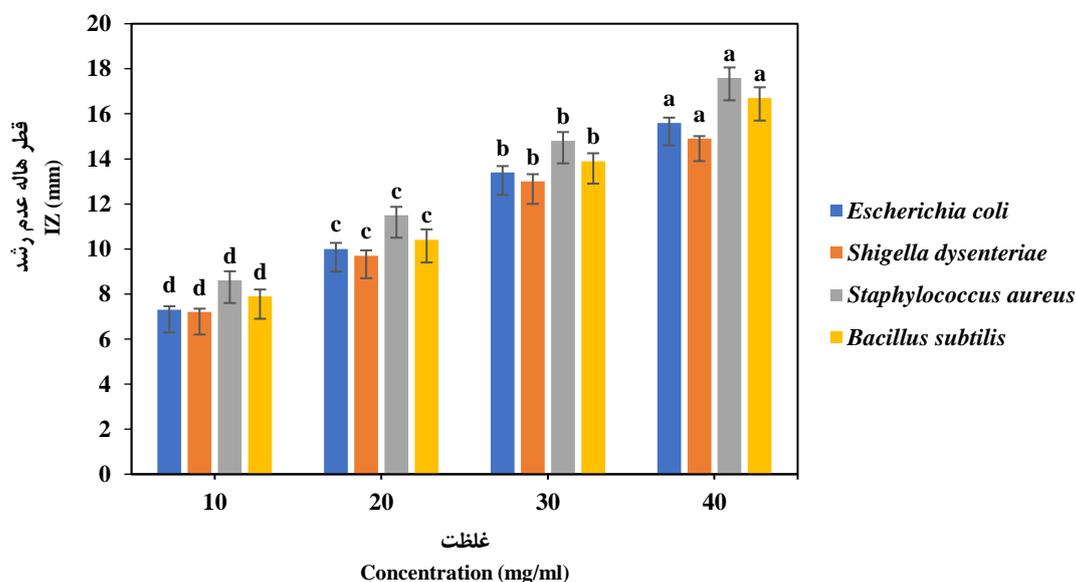


شکل ۲- فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی ریشه کهورک

Fig. 2. Antioxidant activity of ethanolic extract of *Prosopis farcta* root

مذکور به ترتیب ۱۴/۹۰ میلی‌متر و ۱۷/۶۰ میلی‌متر مشاهده گردید. بطور کلی، باکتری‌های *شیگلا دیسانتری* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب با کمترین و بیشترین قطر هاله عدم رشد، مقاوم‌ترین و حساس‌ترین سویه‌های باکتریایی نسبت به عصاره بودند. همچنین، قطر هاله عدم رشد در باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس*) در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی (*اشرشیا کلی* و *شیگلا دیسانتری*) بزرگ‌تر بود که حساسیت بیشتر این گروه از باکتری‌ها را بازگو می‌کند.

نتایج فعالیت ضد باکتریایی عصاره اتانولی ریشه کهورک در برابر باکتری‌های پاتوژن و عامل مسمومیت براساس روش دیسک دیفیوژن آگار در شکل ۳ گزارش شده است. مطابق نتایج، افزایش غلظت عصاره از ۱۰ به ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر سبب افزایش معنی‌دار قطر هاله عدم رشد برای تمامی باکتری‌های مورد مطالعه گردید. در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، قطر هاله عدم رشد از ۷/۲۰ میلی‌متر برای باکتری *شیگلا دیسانتری* تا ۸/۶۰ میلی‌متر برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* متغیر بود. در حالی که مقادیر قطر هاله عدم رشد در غلظت ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره برای باکتری‌های

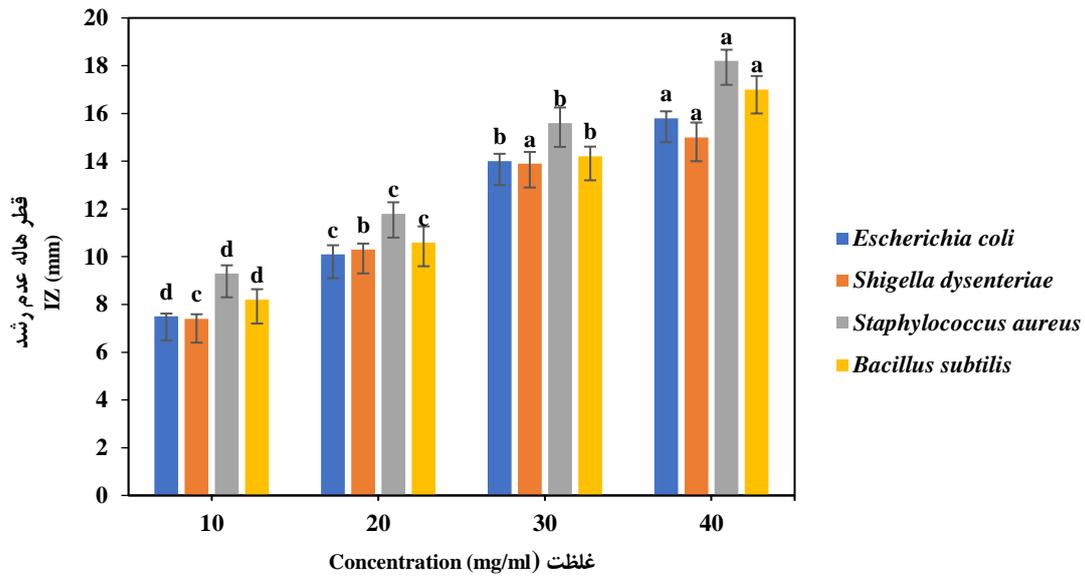


شکل ۳- فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی ریشه کهورک بر اساس روش دیسک دیفیوژن آگار

Fig. 3. Antimicrobial activity of ethanolic extract of *Prosopis farcta* root, based on disk diffusion agar method

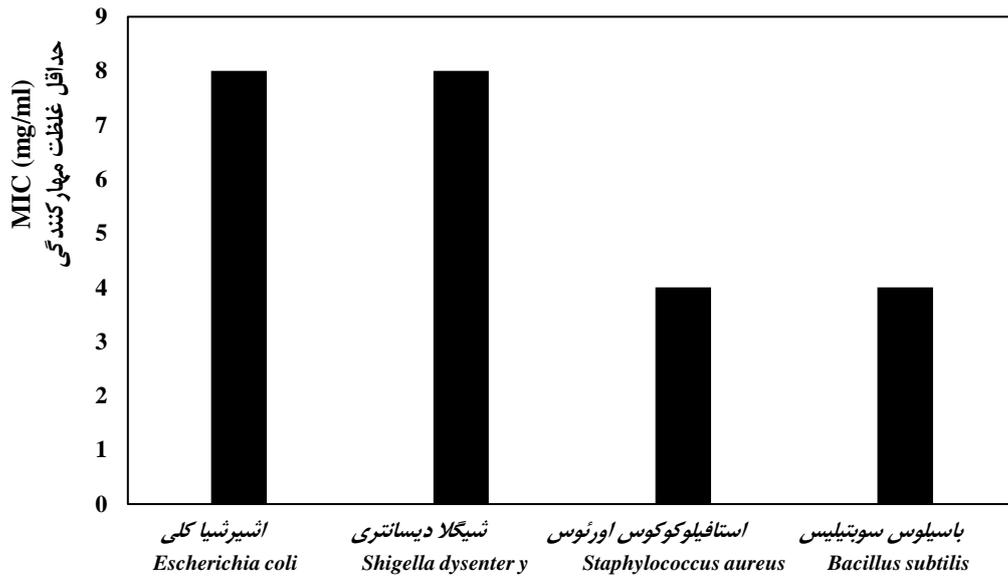
(شکل ۵) که حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی در برابر عصاره را نشان می‌دهد. شکل ۶ نتایج حداقل غلظت کشندگی عصاره در برابر باکتری‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد. مقادیر حداقل غلظت کشندگی برای باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *شیگلا دیسانتری*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* به ترتیب برابر با ۱۲۸، ۲۵۶، ۳۲ و ۶۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. مطابق نتایج، باکتری *شیگلا دیسانتری* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین سویه‌ها در برابر عصاره اتانولی ریشه کهورک بودند که در راستای نتایج سایر آزمون‌های ضد میکروبی می‌باشد.

نتایج آزمون چاهک آگار در راستای یافته‌های آزمون دیسک دیفیوژن آگار بود (شکل ۴). افزایش غلظت عصاره سبب افزایش معنی‌دار قطر هاله عدم رشد برای باکتری‌های مورد مطالعه گردید. در حضور غلظت ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، باکتری *شیگلا دیسانتری* با قطر هاله عدم رشد معادل ۱۵ میلی‌متر و باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* با قطر هاله عدم رشد معادل ۱۸/۲۰ میلی‌متر به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین سویه‌های باکتریایی نسبت به عصاره اتانولی ریشه کهورک بودند. علاوه بر این، شایان ذکر است که قطر هاله عدم رشد در آزمون چاهک آگار بزرگ‌تر از آزمون دیسک دیفیوژن آگار بود. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره اتانولی ریشه کهورک برای باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *شیگلا دیسانتری*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* به ترتیب ۸، ۸، ۴ و ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود.



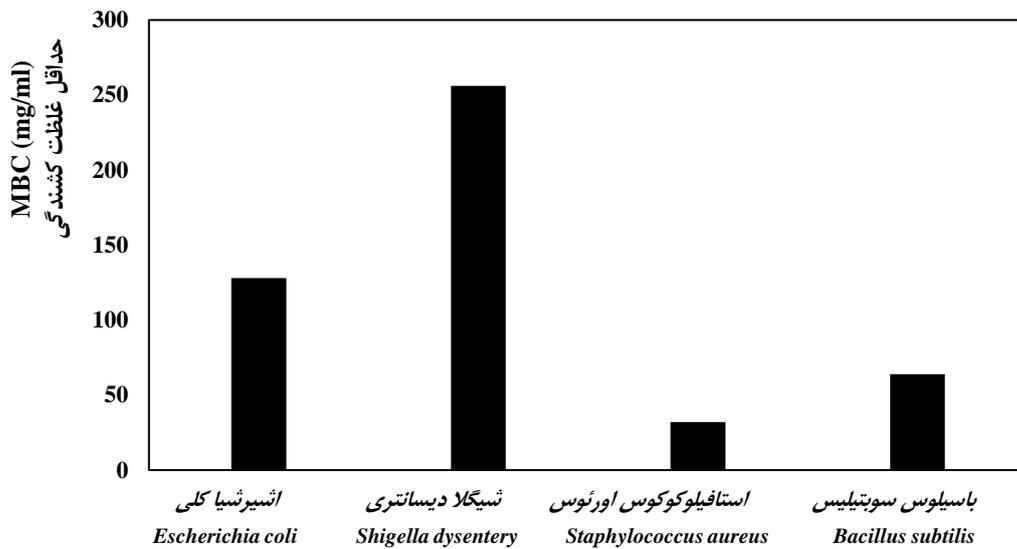
شکل ۴- فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی ریشه کهورک بر اساس روش چاهک آگار

Fig. 4. Antimicrobial activity of ethanolic extract of *Prosopis farcta* root, based on well diffusion agar method



شکل ۵- فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی ریشه کهورک بر اساس روش حداقل غلظت مهارکنندگی

Fig. 5. Antimicrobial activity of ethanolic extract of *Prosopis farcta* root, based on minimum inhibitory concentration method



شکل ۶- فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی ریشه کهورک بر اساس روش حداقل غلظت کشندگی

Fig. 6. Antimicrobial activity of ethanolic extract of *Prosopis farcta* root, based on minimum bactericidal concentration method

اورئوس مشاهده شد، درحالی که عصاره کمترین فعالیت ضد باکتریایی را در برابر شیگلا دیساتتری نشان داد. فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی ریشه کهورک وابسته به غلظت بود. فعالیت ضد باکتریایی مشاهده شده به حضور ترکیبات زیست فعال مانند فلاونوئیدها و سایر ترکیبات فنولی نسبت داده شده است (Aqeel et al., 1989).

در این مطالعه، قطر هاله عدم رشد در آزمون چاهک آگار بالاتر از روش دیسک دیفیوژن آگار بود. این حالت ممکن است به دلیل تماس مستقیم بین ماده ضد میکروب و میکروارگانیسم در روش چاهک آگار باشد. درحالی که انتشار عامل ضد میکروب از سطح دیسک به محیط، اثر ضد باکتریایی آن را در روش دیسک دیفیوژن آگار تعیین می کند (Alizadeh Behbahani et al., 2021).

همچنین می توان به این نکته توجه داشت که حساسیت بیشتر گونه های باکتریایی گرم مثبت به عصاره اتانولی ریشه کهورک تا حد زیادی به دلیل وجود یک لایه نازک و منفرد موکوپیتید در غشاء سلولی آنها است، درحالی که غشاء سلولی خارجی گونه های گرم منفی توسط یک لایه لیپوپلی ساکاریدی کمپلکس پوشانده شده و محافظت می شود که می تواند به عنوان مانعی در برابر انتشار عوامل ضد میکروبی آبگریز در سراسر سلول عمل کند (Tabatabaei Yazdi et al., 2014; Tanavar et al., 2020; Yazdi & Behbahani, 2013).

همانگ با یافته های این پژوهش، خواص مهار رادیکال و ضد میکروبی عصاره اتانولی میوه کهورک توسط فرودنیای جهرمی و همکاران (Farboodniay Jahromi et al., 2018) بررسی گردید.

چندین ترکیب فنولی مانند آپیزنین، لوتولین، چالکون و مشتقات اسید سینامیک از سایر گونه های *Prosopis* شناسایی شده اند (Almaraz-Abarca et al., 2007). ترکیبات فنولی به دلیل اثرات آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی و سایر اثرات درمانی خود به خوبی شناخته شده اند (Alizade Behbahani et al., 2014; Behbahani et al., 2017; Ebrahimi Hemmati Kaykha et al., 2020; Yeganegi et al., 2018). محتوای بالای ترکیبات فنولی به عنوان یک ویژگی قابل توجه عصاره اتانولی کهورک یافت شد، زیرا این گروه از ترکیبات برای نشان دادن فعالیت های آنتی اکسیدانی در سیستم های بیولوژیکی به خوبی شناخته شده اند (Alghooneh et al., 2015; Alizade Behbahani et al., 2019). مطالعات پیشین ارتباط بین فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوای فنولی عصاره های گیاهی را نشان داده است (Alizade Behbahani et al., 2014; Alizadeh Behbahani et al., 2021; Alizadeh Behbahani & Shahidi, 2019; Alizadeh Behbahani, Yazdi, et al., 2013). ترکیبات پلی فنولی قادر به اهدای هیدروژن به رادیکال های آزاد به منظور حذف الکترون های منفرد هستند و در نتیجه از واکنش های زنجیره ای رادیکال آزاد نامطلوب جلوگیری می کنند که ممکن است منجر به انواع مختلف بیماری ها گردند (Falah et al., 2021; Garavand et al., 2021; Nooshkam et al., 2019; Tanavar et al., 2020).

عصاره اتانولی ریشه کهورک فعالیت ضد میکروبی قابل توجهی در برابر باکتری های گرم مثبت و گرم منفی آزمایش شده نشان داد. قوی ترین فعالیت ضد باکتریایی عصاره در برابر استافیلوکوکوس

نتیجه تفاوت در قطبیت و توانایی پیوند هیدروژنی هر حلال باشد. همچنین بیشترین میزان ترکیبات فنولی با استخراج اکتانول در میوه (۶۵/۴۵ mg GAE/g) و دانه (۷۶/۶۸ mg GAE/g) بدست آمد. خواص ضد باکتریایی عصاره‌ها تنها توسط عصاره‌های متانولی و اتانولی غلاف‌های میوه ثبت شد که از رشد *استافیلوکوکوس* و *اشرشیا کلی* جلوگیری می‌کرد (Poudineh et al., 2015).

همان‌طور که نتایج این مطالعه نشان می‌دهد، عصاره اتانولی ریشه کهورک ویژگی‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی از خود نشان می‌دهد، بنابراین می‌تواند به‌عنوان منبعی از ترکیبات طبیعی زیست‌فعال در نظر گرفته شود. ترکیبات فنولی مانند فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک موجود در عصاره ممکن است به‌عنوان اجزای اصلی مسئول این فعالیت‌ها در نظر گرفته شوند.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، عصاره اتانولی به دست آمده از ریشه گیاه کهورک به‌عنوان منبع غنی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی شناسایی شد. عصاره اتانولی ریشه کهورک ویژگی‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی مؤثری را نشان داد. نتایج به وضوح اثر امیدوارکننده عصاره ریشه کهورک را در برابر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی نشان داد. از آنجایی که مقاومت میکروبی به‌طور مداوم در حال افزایش است، عصاره اتانولی ریشه کهورک می‌تواند به‌عنوان گزینه مکمل مناسبی برای غلبه بر این مشکل در نظر گرفته شود. علاوه بر این، نقش تک تک اجزای این عصاره یا ترکیب آنها با عوامل ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدان معمول می‌تواند موضوع تحقیقات آینده باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

عصاره میوه اتانولی کهورک محتوای فنول بالایی را نشان داد (mg GAE/g $0.07 \pm 61/55$) درحالی‌که محتوای کل فلاونوئید آن معادل $0.08 \pm 17/00$ mg QE/g بود. کارایی آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی میوه با استفاده از DPPH، قدرت کاهندگی آهن و ABTS به‌ترتیب برابر با ۶۲/۴۵ میکروگرم در میلی‌لیتر، ۱۲۱/۴۳ میکروگرم در میلی‌لیتر و ۵۳/۲۴ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. نتایج غربالگری ضد میکروبی نشان داد که حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره اتانولی میوه در برابر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلی* برابر با ۱۶ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. همچنین، فعالیت ضد کاندیدیایی قابل توجهی برای عصاره میوه اتانولی مشاهده شد (Farboodniy Jahromi et al., 2018).

فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره بخش‌های هوایی گیاه کهورک در مصر توسط سعد و همکاران (Saad et al., 2017) ارزیابی گردید. عصاره هگزان فعالیت ضد میکروبی متوسطی در برابر گونه‌های *شیگلا*، *اشرشیا کلی* و *پروتئوس ولگاریس* و عصاره متیلن کلراید در برابر *اروینیا*، *اشرشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* نشان داد. از سوی دیگر، عصاره اتیل استات فعالیت ضد میکروبی بالاتری را علیه گونه‌های *شیگلا*، *اشرشیا کلی* و *کاندیدا آلبیکنس* نشان داد. به همین ترتیب، عصاره بوتانول فعالیت بیشتری را در برابر گونه‌های *شیگلا*، گونه‌های *اروینیا*، *اشرشیا کلی*، *پروتئوس ولگاریس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *کاندیدا آلبیکنس* بروز داد. همچنین درصد مهار رادیکال ABTS به‌ترتیب ۸۳/۱، ۸۲/۰، ۸۷/۲ و ۸۷/۰ درصد برای عصاره‌های هگزان، متیلن کلراید، اتیل استات و بوتانول در مقایسه با اسید اسکوربیک (۸۹/۲ درصد) بود (Saad et al., 2017).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی عصاره‌های اتانول، متانول، اکتانول و n-هپتان قسمت‌های غلاف دانه و میوه کهورک توسط پودینه و همکاران (Poudineh et al., 2015) مورد بررسی قرار گرفت. در بین عصاره‌ها، عصاره اکتانول دانه بهترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۰/۹۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) را نشان داد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی در حلال‌های مختلف روندهای متفاوتی را نشان داد که ممکن است در

References

- Alghooneh, A., Behbahani, B.A., Noorbakhsh, H., & Yazdi, F.T. (2015). Application of intelligent modeling to predict the population dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* in Frankfurter sausage containing *Satureja bachtiarica* extracts. *Microbial Pathogenesis*, 85, 58-65. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.06.003>
- Alizade Behbahani, B., Noshad, M., & Falah, F. (2019). Investigation of antimicrobial activity of Fennel essential oil on some pathogenic microorganisms causing infection and food poisoning and its interaction with kanamycin antibiotic. *Food Science and Technology*, 16(91), 233-241.
- Alizade Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Heidari Sureshjani, M., Mortazavi, A., & Tabatabaei Yazdi, F. (2014). Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic *Satureja bachtiarica* extracts "in vitro". *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine*, 19(64), 13-19.
- Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Vasiee, A., & Tabatabaei Yazdi, F. (2021). Control of microbial growth and lipid oxidation in beef using a *Lepidium perfoliatum* seed mucilage edible coating incorporated with chicory essential oil. *Food Science & Nutrition*, 9(5), 2458-2467. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/fsn3.2186>

5. Alizadeh Behbahani, B., & Fooladi, A.A.I. (2018). Evaluation of phytochemical analysis and antimicrobial activities *Allium* essential oil against the growth of some microbial pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 114, 299-303. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.11.055>
6. Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M., & Falah, F. (2019). Study of chemical structure, antimicrobial, cytotoxic and mechanism of action of *Syzygium aromaticum* essential oil on foodborne pathogens. *Potravinarstvo*, 13(1), 875-883.
7. Alizadeh Behbahani, B., & Shahidi, F. (2019). Melissa officinalis essential oil: Chemical compositions, antioxidant potential, total phenolic content and antimicrobial activity. *Nutrition and Food Sciences Research*, 6(1), 17-25. <http://dx.doi.org/10.29252/nfsr.6.1.17>
8. Alizadeh Behbahani, B., Shahidi, F., Yazdi, F.T., & Mohebbi, M. (2013). Antifungal effect of aqueous and ethanolic mangrove plant extract on pathogenic fungus" in vitro". *International Journal of Agronomy and Plant Production*, 4(7), 1652-1658.
9. Alizadeh Behbahani, B., Yazdi, F.T., Mortazavi, A., Zendeboodi, F., & Gholian, M.M. (2013). Effect of aqueous and ethanolic extract of *Eucalyptus camaldulensis* L. on food infection and intoxication microorganisms "in vitro". *Archives of Advances in Biosciences*, 4(3), 89-99.
10. Almaraz-Abarca, N., da Graça Campos, M., Avila-Reyes, J.A., Naranjo-Jimenez, N., Corral, J.H., & Gonzalez-Valdez, L.S. (2007). Antioxidant activity of polyphenolic extract of monofloral honeybee-collected pollen from mesquite (*Prosopis juliflora*, Leguminosae). *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(2), 119-124. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.08.001>
11. Aqeel, A., Khursheed, A., Viqaruddin, A., & Sabiha, Q. (1989). Antimicrobial activity of julifloricine isolated from *Prosopis juliflora*. *Arzneimittel-forschung*, 39(6), 652-655.
12. Aziznia, H., Keramat, J., & Soleimani Zad, S. (2019). Antioxidant properties and antimicrobial activity of *Prosopis farcta* root extract on foodborne bacteria. *Food Hygiene*, 9(2 (34)), 47-59. <https://doi.org/10.30495/jfh.2019.665680>
13. Barzegar, H., Behbahani, B.A., & Mehrnia, M.A. (2020). Quality retention and shelf life extension of fresh beef using *Lepidium sativum* seed mucilage-based edible coating containing *Heracleum lasiopetalum* essential oil: an experimental and modeling study. *Food Science and Biotechnology*, 29(5), 717-728.
14. Behbahani, B.A., Shahidi, F., Yazdi, F.T., Mortazavi, S.A., & Mohebbi, M. (2017). Use of *Plantago major* seed mucilage as a novel edible coating incorporated with *Anethum graveolens* essential oil on shelf life extension of beef in refrigerated storage. *International Journal of Biological Macromolecules*, 94, 515-526. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomac.2016.10.055>
15. Duffy, C.F., & Power, R.F. (2001). Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 17(6), 527-529.
16. Ebrahimi Hemmati Kaykha, M., Jooyandeh, H., Alizadeh behbahani, B., & Noshad, M. (2020). Antimicrobial potential of *Cordia myxa* fruit on pathogenic bacteria: A study "in vitro" laboratory conditions. *Food Science and Technology*, 17(101), 71-80. <https://doi.org/10.52547/fsct.17.101.71>
17. Falah, F., Shirani, K., Vasiee, A., Yazdi, F.T., & Behbahani, B.A. (2021). In vitro screening of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activity of *Echinops setifer* extract. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 35, 102102. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102102>
18. Farboodniay Jahromi, M.A., Etemadfard, H., & Zebarjad, Z. (2018). Antimicrobial and antioxidant characteristics of volatile components and ethanolic fruit extract of *Prosopis farcta*. *Trends in Pharmaceutical Sciences*, 4(3), 177-186.
19. Garavand, F., Eghbal, N., Nooshkam, M., Miraballes, I., & Jafari, S.M. (2021). Salt, spices, and seasonings formulated with nano/microencapsulated ingredients. In *Application of Nano/Microencapsulated Ingredients in Food Products* (pp. 435-467). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815726-8.00010-6>
20. Khatami, M., Azizi, Z., Sh, P., & Najarian, O. (2016). Antibacterial effect of silver nanoparticles synthesized by green method against the standard strains *Escherichia coli* k12 and *Escherichia coli* 25922. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences*, 17(4), 119-124.
21. Morovati Sharifabad, M., & Salehi, E. (2017). The effect of feeding with *Prosopis farcta* aqueous extract in reduction of hyperlipidemia risk and liver enzymes level in hypercholesterolemic rats. *Veterinary Researches & Biological Products*, 30(2), 194-199. <https://doi.org/10.22034/vj.2017.109243>
22. Nooshkam, M., Varidi, M., & Bashash, M. (2019). The Maillard reaction products as food-born antioxidant and antibrowning agents in model and real food systems. *Food Chemistry*, 275, 644-660. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.083>
23. Ortega-Ramirez, L.A., Rodriguez-Garcia, I., Leyva, J. M., Cruz-Valenzuela, M.R., Silva-Espinoza, B.A., Gonzalez-Aguilar, G.A., Siddiqui, M.W., & Ayala-Zavala, J.F. (2014). Potential of medicinal plants as antimicrobial and antioxidant agents in food industry: a hypothesis. *Journal of Food Science*, 79(2), R129-R137. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12341>

24. Poudineh, Z., Amiri, R., Najafi, S., & Mir, N. (2015). Total phenolic content, antioxidant, and antibacterial activities of seed and pod of *Prosopis farcta* from Sistan region, Iran. *Azarian Journal of Agriculture*, 2(2), 51-56.
25. Rahmati-Joneidabad, M., & Alizadeh Behbahani, B. (2021). *Boswellia sacra* essential oil: Antioxidant activity and antifungal effect on some spoilage fungi causing strawberry rot. *Food Science and Technology*, 18(114), 25-34. <http://doi.org/10.52547/fsc.18.114.25>
26. Saad, A.M., Ghareeb, M.A., Abdel-Aziz, M.S., Madkour, H.M.F., Khalaf, O.M., El-Ziaty, A.K., & Abdel-Mogib, M. (2017). Chemical constituents and biological activities of different solvent extracts of *Prosopis farcta* growing in Egypt. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 9(5), 67-76. <https://doi.org/10.5897/JPP2017.0452>
27. Shahidi, F., Tabatabaei, Y.F., Roshanak, S., Alizadeh, B.B., Vasiee, A., & Norouzi, N. (2019). Antimicrobial activity of *Taraxacum pseudocalocephalum* leaves extract on pathogenic microorganisms and comparison with common therapeutic antibiotics in vitro. *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine*, 23(83), 37-46.
28. Tabatabaei Yazdi, F., Alizade Behbahani, B., & Heidari Sureshjani, M. (2014). The comparison of antimicrobial effects of Chevil (*Ferulago angulata*) extract with a variety of common therapeutic antibiotics in vitro. *Journal of Arak University of Medical Sciences*, 17(3), 35-46.
29. Tanavar, H., Barzegar, H., Alizade Behbahani, B., & Mehrnia, M. A. (2020). Evaluation of the antimicrobial activity of *Mentha pulegium* essential oil on some foodborne pathogens and its interaction with gentamicin and chloramphenicol in vitro. *Food Science and Technology*, 16(97), 77-87.
30. Yazdi, F.T., & Behbahani, B.A. (2013). Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic *Teucrium polium* L. extracts on gram positive and gram negative bacteria "in vitro". *Archives of Advances in Biosciences*, 4(4), 56-62.
31. Yeganegi, M., Yazdi, F.T., Mortazavi, S.A., Asili, J., Behbahani, B.A., & Beigbabaei, A. (2018). *Equisetum telmateia* extracts: Chemical compositions, antioxidant activity and antimicrobial effect on the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. *Microbial Pathogenesis*, 116, 62-67. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.01.014>

Evaluation of the Quantitative and Qualitative Characteristics of Gluten-free Chicken Nuggets Containing Quinoa Flour and Hydroxypropyl Methyl Cellulose (HPMC)

Gh. Shekari¹, E. Milani^{2*}, E. Azarpazhooh³

1- M.Sc. Graduate, Department of Food Science and Technology, ACECR Kashmar Higher Education Institute, Kashmar, Iran

2- Associate Professor, Food Research Institute, Iranian Academic Center for Education Culture and Research (ACECR), Central Jihad Organization of Khorasan Razavi University, Mashhad, Iran

(*- Corresponding Author Email: e.milani@jdm.ac.ir)

3- Associate Professor, Agricultural Engineering Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran

Received: 11.06.2022
Revised: 08.11.2022
Accepted: 05.12.2022
Available Online: 05.12.2022

How to cite this article:

Shekari, Gh., Milani, E., & Azarpazhooh, E. (2024). Evaluation of the quantitative and qualitative characteristics of gluten-free chicken nuggets containing quinoa flour and hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC). *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 20(1), 47-62. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.75369.1149>

Introduction

Celiac disease is one of the most common digestive disorder. Chicken nugget is one of the most popular instant and ready-to-eat foods, and wheat flour is one of its main coating ingredients, which contains approximately 60% gluten. Quinoa is a gluten-free grain, as a good source of dietary fiber, has various applications in the meat products processing system as a stabilizer, fat substitute, structural components, etc. The addition of hydrocolloids also helps to improve the rheological properties of gluten-free products. The purpose of this research was to evaluate the effect of quinoa-corn mixed flour in the preparation of nugget batter as a gluten-free combination as an alternative to wheat flour, and also to investigate the effect of adding HPMC hydrocolloid on the final product characteristics. In this research, a rotatable central composite design was used to investigate the effect of two independent variables including different proportions of quinoa-corn flour (0-100, 50-50, 100-0%) and different levels of hydrocolloid (0.5-1-1.5%) on the quality characteristics of nugget. With the increase of quinoa replacement level, moisture content (0.60), batter pick up (138) and redness level 5.5 (a*) increased, and oil content (11), hardness (7.5), brightness level 41(L*), yellowness level 20(b*) decreased. The increase of HPMC also caused an increase in moisture content (0.59), brightness level (L*) of 0.39, batter pick up (137) and decrease in oil content (10) and hardness (7). Optimum conditions for the production of gluten-free nugget were determined by considering the optimal amounts for the production of high quality and healthy products, contained 90% quinoa and HPMC at a level of about 1%.

Materials and Methods

Corn flour was purchased from the pilot of Ferdowsi University of Mashhad. The de-saponified quinoa was prepared from Kashmir and then ground. In order to make the grains more uniform, both flours were sieved using a 30 mesh. Hydrocolloid hydroxypropyl methylcellulose was also prepared from Kian Shimi Mashhad. Oyla frying oil was used for frying the samples.

The chicken nugget formulation was a mixture of 86% minced chicken, 10% onion, 1.5% garlic powder, 1% salt and 1.5% pepper. After complete mixing, these materials were poured into a freezer bag until a homogeneous and uniform mixture was obtained, and they were flatted until they reached the desired thickness (1 cm). Plastics containing chicken paste were stored in the freezer for 2 hours to facilitate cutting. Then molding was done with a circular mold with a



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.75369.1149>

diameter of 4 cm (Dehghan Nasiri et al., 2012). The batter formulation consisted of flour, water, baking powder, salt and hydrocolloids. In order to investigate the effect of quinoa and corn flours, and hydrocolloids, these substances were added to nugget water paste in different percentages (quinoa-corn ratio: 0-100, 50-50, 0-100 and hydrocolloids at the level of 1-1 / 5 -0.5%) and then mixed with water by mixer for 1 minute. The molded samples were first coated with flour and then immersed in the batter for 60 seconds and dripped for 30 seconds. Finally, deep frying was performed in the fryer at 170 ° C for 3.5 minutes. The fried samples were taken out of the fryer basket and the excess oil on the surface of the nuggets was removed with absorbent paper. The oil was changed after twice frying. After cooling the samples at room temperature, the tests such as moisture content, oil content, texture (hardness), color, batter pick up, peroxide and overall acceptance were performed.

In this study, Design Expert 10.0.7 software and a rotatable central composite design to investigate the effect of two independent variables including different ratios of quinoa-corn flour (0-100, 50-50, 0-100%) and hydrocolloid (0.5-1-1.5%), Was used on the quality characteristics of the nugget. Finally, different models were fitted to the data obtained from the experiments and the best model was selected according to the results of analysis of variance.

Results and Discussion

With increasing quinoa replacement level, moisture content, redness (a^*) and pH increased and oil content, batter pick up, texture (hardness), brightness (L^*), yellowness (b^*) and cooking loss decreased. Increasing the HPMC also increased the moisture content, brightness (L^*), cooking loss, batter pick up, and decreased oil content and hardness. Optimum condition for production of gluten-free chicken nuggets, considering the appropriate properties was found to be 90% quinoa flour and 1% HPMC.

Conclusion

In general, it can be concluded that the addition of quinoa and HPMC leads to the production of high quality products with high moisture and low oil content and high nutritional value.

Keywords: Celiac, Chicken nugget, Gluten free, HPMC, Quinoa



مقاله پژوهشی

جلد ۲۰، شماره ۱، فروردین - اردیبهشت ۱۴۰۳، ص. ۶۲-۴۷

ارزیابی ویژگی‌های کمی و کیفی ناگت مرغ بدون گلوتن حاوی آرد کینوا و هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC)

غزاله شکاری^۱ - الناز میلانی^{۲*} - الهام آذرپژوه^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۱۴

چکیده

بیماری سلیاک از شایع‌ترین بیماری‌های مرتبط با تغذیه می‌باشد. ناگت مرغ از غذاهای فوری و آماده مصرف بسیار پرطرفدار است که از اصلی‌ترین ترکیبات پوشش‌دهنده در فرمول آن، آرد گندم است که تقریباً ۶۰ درصد گلوتن دارد. کینوا شبه‌غله‌ای فاقد گلوتن است که به‌عنوان منبع خوبی از فیبر رژیمی، کاربردهای متنوعی در سیستم فرآوری فرآورده‌های گوشتی به‌عنوان تثبیت‌کننده، جایگزین چربی، اجزای ساختاری و غیره دارد. افزودن هیدروکلونیدها نیز به بهبود خصوصیات رئولوژیکی محصولات فاقد گلوتن کمک می‌کند. هدف از این تحقیق ارزیابی اثر آرد مخلوط کینوا-ذرت در تهیه خمیرآبه ناگت به‌عنوان ترکیبی فاقد گلوتن و جایگزین آرد گندم و همچنین بررسی اثر افزودن هیدروکلویید HPMC بر ویژگی نهایی فرآورده بود. در این پژوهش طرح مرکب مرکزی چرخش‌پذیر به‌منظور بررسی تأثیر ۲ متغیر مستقل شامل نسبت‌های مختلف آرد کینوا-ذرت (۰-۱۰۰، ۵۰-۵۰، ۱۰۰-۰ درصد) و سطوح مختلف هیدروکلویید (۰/۵-۱-۵ درصد) بر ویژگی‌های کیفی ناگت استفاده شد. با افزایش درصد جایگزینی کینوا، رطوبت (۰/۶۰)، جذب خمیرآبه (۱۳۸) و میزان قرمزی (۵/۵) (a*) افزایش، و میزان روغن (۱۱)، سفتی بافت (۷/۵)، میزان روشنایی (L*) ۴۱، میزان زردی (b*) ۲۰ کاهش یافت. افزایش HPMC نیز سبب افزایش محتوای رطوبت (۰/۵۹)، میزان روشنایی ۰/۳۹ (L*) و جذب خمیرآبه (۱۳۷) و کاهش میزان روغن (۱۰) و سفتی بافت (۷) شد. شرایط بهینه تولید ناگت فاقد گلوتن با در نظر گرفتن مقادیر مطلوب جهت تولید فرآورده‌ای با کیفیت بالا و سالم شامل ۹۰ درصد کینوا و HPMC در سطح حدوداً ۱ درصد تعیین گردید.

واژه‌های کلیدی: امولسیفایر، سلیاک، کینوا، ناگت، هیدروکلویید

مقدمه

یکی از این فرآورده‌ها ناگت‌ها هستند که رایج‌ترین آن‌ها ناگت مرغ می‌باشد. مرغ و به‌طور کلی گوشت سفید یکی از محبوب‌ترین محصولات در بسیاری از کشورها می‌باشد که دلیل عمده محبوبیت آن طعم بی‌نظیر و بافت منحصر به فرد آن است. از نظر تغذیه‌ای گوشت سفید منبع غنی از پروتئین، مواد معدنی، اسیدهای چرب غیراشباع خصوصاً اسیدهای چرب دارای باند سه‌گانه و ویتامین‌ها می‌باشد. با این

توسعه تکنولوژی و زندگی ماشینی، منجر به تغییرات زیادی در الگوهای غذایی مردم شده است که در این بین مصرف فرآورده‌های نیمه‌آماده سوخاری و خمیری خصوصاً ماهی، مرغ، فرآورده‌های دریایی و ماکیان در چند سال گذشته بسیار رایج شده است (Salvador et al., 2005).

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، مؤسسه آموزش عالی جهاد دانشگاهی کاشمر، کاشمر، ایران

۲- دانشیار، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران

(Email: e.milani@jdm.ac.ir)

*- نویسنده مسئول:

۳- دانشیار پژوهش بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج

کشاورزی، مشهد، ایران

در تحقیقی که توسط نصیری و همکاران (Nasiri et al., 2012) انجام شده در لایه خمیرآبه ناگت میگو درصدهای مختلفی از آرد سویا و ذرت، جایگزین آرد گندم گردید. نتایج نشان داد که آرد سویا بالاترین ویسکوزیته، بیشترین میزان حفظ رطوبت و کمترین جذب روغن را در طول سرخ کردن نشان می‌دهد و ۵ درصد آرد ذرت اضافه شده به خمیرآبه کمترین ویسکوزیته، کمترین میزان حفظ رطوبت و بالاترین جذب چربی را در میان تمام فرمولاسیون‌ها نشان داد.

سahین و همکاران (Sahin et al., 2005) اثر خمیرآبه‌های دارای هیدروکلویدهای مختلف را بر کیفیت ناگت مرغ ارزیابی کردند. آن‌ها از چهار نوع هیدروکلویید زانتان، گوار، صمغ عربی و هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC) استفاده کردند. نمونه‌ها در دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد در چهار زمان ۳، ۶، ۹ و ۱۲ دقیقه سرخ شدند. محققان مشاهده کردند که افزودن زانتان و HPMC کاهش قابل توجهی در میزان جذب روغن دارد و نمونه دارای صمغ عربی بیشترین جذب روغن را نشان داد. زمان سرخ کردن نیز بر کلیه پارامترها به جز حجم توده اثر قابل توجهی داشت.

آلتوناکار و همکاران (Altunakar et al., 2006) اثر پنج هیدروکلویید گوار، صمغ عربی، زانتان، هیدروکسی پروپیل متیل سلولز و متیل سلولز را بر ویسکوزیته ظاهری و کیفیت ناگت مرغ بررسی کردند. آن‌ها دریافتند که HPMC کمترین میزان جذب روغن را دارد و نرم‌ترین بافت ناگت سرخ شده مربوط به زانتان و HPMC بود.

باگداتلی (Bagdatli, 2018) از آرد کینوا (تا ۷/۵ درصد) در کوفته گوشت گاو بعنوان جایگزین آرد سوخاری استفاده کرد و دریافت که محتوای پروتئین افزایش یافته‌است (در مقایسه با گروه شاهد که از پودر سوخاری استفاده می‌کردند) و هیچ تأثیر منفی بر خواص حسی نداشت و آنها را به این نتیجه رساند که این آرد پتانسیل بالایی به‌عنوان یک ماده بدون گلوتن برای این نوع فرآورده‌های گوشتی دارد.

ورما، راجکومار و کومار (Verma et al., 2019) از آرد کینوا (تا ۳ درصد) (به‌عنوان جایگزینی برای آرد گندم تصفیه شده) در ناگت‌های گوشت بز استفاده کردند و دریافتند که خواص رئولوژیکی و بافتی خمیر گوشت تحت تأثیر قرار گرفته است و ترکیب آرد کینوا برای توسعه ناگت‌های گوشت بز با پذیرش بالا و غنی از رژیم غذایی بدون گلوتن امیدوار کننده است.

زامبرانو و همکاران (Zambrano et al., 2019) استفاده از آرد کینوا (تا ۵ درصد) را برای جایگزینی آرد سویا در مورتادلا، ارزیابی دماها و زمان‌های مختلف پخت برای انطباق فرآیند با شرایط بهینه ژلاتینه شدن آرد کینوا مورد مطالعه قرار داد. دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد، زمان ۲/۵ ساعت و جایگزینی ۸۶ درصد از آرد سویا با آرد کینوا، محصولی با کیفیتی قابل مقایسه با یک محصول تجاری به‌دست آورد. این سطح

حال انواع پروسه شده آن بسیار فسادپذیر و حاوی مقادیر بالای نمک است (Baixauli et al., 2003). بنابراین یافتن روش‌هایی در جهت کاهش ریسک ناشی از عوامل فوق و بکارگیری آن‌ها در جهت افزایش ماندگاری، ارزش تغذیه‌ای و مقبولیت نهایی مصرف‌کننده بسیار مفید و موثر خواهد بود (Chen et al., 2009). پوشش‌دهی ناگت مرغ با خمیرآبه موجب بهبود پذیرش کلی محصول، افزایش ارزش تغذیه‌ای، بهبود رنگ و ایجاد بافتی دلپذیر با پوسته‌ای ترد و مرکزی آبدار در محصولات سرخ‌کردنی می‌شود (Fiszman et al., 2003).

خمیرآبه از آب و آرد با سایر اجزاء جزئی (طعم دهنده‌ها، پروتئین‌ها و صمغ‌ها و مواد حجم دهنده) تشکیل شده است. آرد گندم نقش مهمی در فرآورده‌های خمیری و سیستم خمیر داشته که دلیل آن حضور پروتئین (گلوتن) قابل ملاحظه‌ای است که در تشکیل خصوصیات خمیری الاستیک و پلاستیک لازم است. مصرف گلوتن در برخی از افراد از جمله بیماران سلیاکی، سبب التهاب روده کوچک شده که در نتیجه موجب جذب ناقص مواد ضروری مانند آهن، کلسیم و ویتامین‌های محلول در چربی می‌شود (Korus et al., 2009). مهم‌ترین روش درمان سلیاک، استفاده از رژیم غذایی فاقد گلوتن می‌باشد. ضمن آن که باید مشتقات غلاتی نظیر گندم و جو از رژیم غذایی آن‌ها حذف و با غلاتی مانند ذرت، برنج و آرد سایر غلات فاقد گلوتن جایگزین گردد (Haboubi et al., 2006). کینوا شبه غله بدون گلوتن است و جایگزین جذابی برای افراد مبتلا به بیماری سلیاک و یا حساسیت به گلوتن می‌باشد. کیفیت پروتئین کینوا برابر با پروتئین شیر، کارزین است. در واقع پروتئین کینوا حاوی بیش از ۱۰ اسیدآمینو ضروری نظیر لایزین، ترئونین، متیونین است که از لحاظ تغذیه، تعادل مناسبی دارند. همچنین دارای لیپیدهای حاوی اسیدهای چرب اشباع‌نشده لینولئیک، لینولنیک می‌باشد (Angeli et al., 2020). کینوا حاوی ویتامین‌هایی نظیر B2 و E و مواد معدنی نظیر آهن، مس، منگنز، پتاسیم و دیگر فیتوشیمیایی نظیر استروئیدها، فنولیک اسید و فلاونوئید می‌باشد (Repo- Carrasco-Valencia et al., 2010). آرد ذرت نیز یکی از جایگزین‌های مناسب آرد گندم در تهیه محصولات پخت‌بوخته که از ارزش غذایی بالایی برخوردار است و به دلیل فقدان گلوتن، برای مبتلایان به سلیاک مناسب می‌باشد (Shukla, 2001). بدلیل تولید رنگ جذاب زرد و تعادل رنگ کینوا پس از سرخ کردن، و مقرون به صرفه بودن فرمولاسیون از آرد ذرت در این پژوهش استفاده شد.

دواتکال و همکاران (Devatkal et al., 2010) از آرد سورگوم به عنوان جایگزین بخشی از آرد گندم در ناگت مرغ بدون گلوتن استفاده و ویژگی‌های کیفی آن را بررسی کردند. نتایج نشان داد آرد سورگوم سبب افزایش میزان فیبر رژیمی و بهبود معنی‌دار بافت محصول نهایی شد.

تهیه ناگت

به‌منظور تولید ناگت، ابتدا مرغ منجمد به مدت یک شب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. گوشت مرغ پس از جداسازی از استخوان با چرخ گوشت، خرد شده و سایر ترکیبات به آن اضافه شد. فرمولاسیون ناگت مرغ مخلوطی از ۸۶ درصد گوشت مرغ چرخ شده، ۱۰ درصد پیاز، ۱/۵ درصد پودر سیر، ۱ درصد نمک و ۱/۵ درصد فلفل بود. این مواد پس از اختلاط کامل تا رسیدن به یک مخلوط همگن و یکنواخت در کیسه فریزر ریخته شد و تا رسیدن به ضخامت ۱ سانتی‌متر نازک گردید. به‌منظور سهولت در عمل برش زدن، پلاستیک‌های حاوی خمیر ناگت به مدت ۲ ساعت در فریزر نگهداری شد. سپس قالب‌زنی با قالب دایره‌ای شکل به قطر ۴ سانتی‌متر انجام شد (Altunakar et al., 2006).

فرمولاسیون خمیرآبه شامل آرد، آب، بیکنینگ پودر، نمک و هیدروکلورید بود. به‌منظور بررسی اثرآردهای کینوا و ذرت، و هیدروکلورید، این مواد در درصدهای متفاوت به خمیرآبه ناگت افزوده شده (نسبت کینوا-ذرت: ۱۰۰-۵۰، ۵۰-۵۰، ۱۰۰-۰ و هیدروکلورید در سطح ۱/۵-۱-۰/۵ درصد) و سپس با آب توسط همزن به مدت ۱ دقیقه مخلوط شدند. نمونه‌های قالب زده شده هر یک ابتدا آردزنی شده و سپس به مدت ۶۰ ثانیه در خمیرآبه غوطه‌ور گردید و به‌منظور حذف مواد اضافی به مدت ۳۰ ثانیه به حالت عمودی نگه داشته شدند (مرحله چکانیدن). در انتها عملیات سرخ کردن عمیق در سرخ‌کن، با دمای ۱۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳/۵ دقیقه انجام گرفت. نمونه‌های سرخ شده از سبد خارج و توسط کاغذ جاذب، روغن اضافی سطح ناگت‌ها گرفته شد (Altunakar et al., 2006). روغن، هرروز، پس از دو مرتبه سرخ کردن تعویض شد. بعد از خنک شدن نمونه‌ها در دمای اتاق، آزمون‌ها انجام گرفت.

روش آزمون

اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مواد اولیه

میزان رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر آرد گندم، آرد ذرت و آرد کینوا اندازه‌گیری شد (AOAC, 2000).

میزان رطوبت

میزان رطوبت ناگت سرخ شده مطابق (AOAC 2000) توسط آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت انجام شد.

میزان روغن

مقدار روغن ناگت پس از سرخ شدن با استفاده از استاندارد (AOAC 2000) توسط دستگاه سوکسله انجام شد.

بالای کینوا تأثیر نامطلوبی بر پذیرش آن توسط مصرف‌کنندگان بالقوه نداشت.

بلخکانلو و همکاران (Sabzi Belehkanlu et al., 2016) از آرد دانه آمارانت (تاج خروس) به‌عنوان جایگزین پروتئین سویا و آرد سوخاری در همبرگر معمولی استفاده کردند. آن‌ها نتیجه گرفتند که جایگزینی ۵۰ درصد آرد دانه آمارانت باعث افزایش معنی‌داری در میزان رطوبت، pH و کاهش افت وزنی شد. همچنین بیان کردند افزودن این آرد ضمن حفظ خواص ارگانولپتیک، سبب بهبود کیفیت پروتئین فرآورده می‌گردد.

برگرهای گوشت گاو نیز توسط اوزر و سچن (ÖZER & Secen, 2018) برای افزودن آرد کینوا (تا ۱۰ درصد) (به‌جای پودر سوخاری) انتخاب شدند. این نویسندگان پیشرفت‌های مشابهی را در کیفیت برگر و خواص پخت گزارش کردند، اما همچنین دریافتند که آرد کینوا از اکسیداسیون لیپیدها در طول ذخیره‌سازی منجمد در همبرگرهای خام و پخته جلوگیری می‌کند.

هدف از این تحقیق ارزیابی کاربرد آرد مخلوط کینوا-ذرت (با نسبت‌های ۱۰۰-۰، ۵۰-۵۰، ۱۰۰-۱۰ درصد) در تهیه خمیرآبه ناگت به‌عنوان ترکیبی فاقد گلوتن و جایگزین آرد گندم و همچنین بررسی اثر افزودن سطوح مختلف هیدروکلورید هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (۱/۵-۱-۰/۵ درصد) بر ویژگی نهایی فرآورده بود. پس از تهیه ناگت‌ها، آن‌ها را سرخ کرده و آزمون‌های رطوبت، روغن، رنگ، سفتی بافت و میزان جذب خمیرآبه روی نمونه‌ها انجام گرفت، سپس با توجه به نتایج نمونه بهینه تعیین گردید.

با توجه به بررسی منابع انجام شده، تاکنون هیچ پژوهش مدونی درخصوص استفاده از آرد کینوا، بصورت تک یا مخلوط، در تهیه ناگت مرغ بدون گلوتن مناسب برای بیماران سلیاکی صورت نگرفته است. نوآوری این پژوهش، شامل استفاده از مخلوط آرد کینوا، حذف کامل آرد گندم (در اکثر مقالات درصدی از آرد گندم جایگزین شده) و استفاده از هیدروکلورید همزمان با جایگزینی آرد جهت توسعه ویژگی‌های تکنولوژیکی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد اولیه

آرد ذرت کامل از پایلوت دانشگاه فردوسی مشهد خریداری شد. کینوا سفید ساپونین‌زدایی شده از کاشمر تهیه و توسط آسیاب معمولی و آسیاب سایشی، خرد و یکنواخت گردید. به‌منظور یکنواختی بیشتر دانه‌ها، هر دو آرد با استفاده از مش ۳۰ الک شدند. هیدروکلورید هیدروکسی پروپیل متیل سلولز نیز از کیان‌شیمی مشهد تهیه شد. برای سرخ کردن نمونه‌ها از روغن سرخ‌کردنی ویژه اویلا استفاده شد.

ارزیابی سفتی بافت ناگت مرغ (تست نفوذ)

سفتی عبارت است از حداکثر نیروی لازم برای فشردن نمونه. برای ارزیابی سفتی بافت ناگت مرغ سرخ شده توسط دستگاه بافت‌سنج TA Plus از هر تیمار ۲ نمونه به صورت کاملاً تصادفی انتخاب شد. پروب استوانه‌ای با قطر ۶ میلی‌متر و با سرعت ۱۰ میلی‌متر در دقیقه به ۳۰ درصد از ناگت مرغ سرخ شده نفوذ کرد. تمام اندازه‌گیری‌ها برای سه بار انجام شد. به محض رسیدن پروب به عمق مورد نظر، پروب از نمونه خارج و نمودار نیرو برای نفوذ پروب در فرآورده رسم گردید (Chayawat & Rumpagaporn, 2020).

اندازه‌گیری میزان جذب خمیرآبه (batter pick up)

میزان چسبندگی خمیرآبه به نمونه طی غوطه‌وری در پوشش قبل از سرخ کردن و توسط تعیین وزن پوشش جذب شده توسط یک ناگت (کاهش وزن سوسپانسیون خمیرآبه پس از پوشش یک تکه مرغ و ۳۰ ثانیه چکه کردن) به وزن ناگت بدون پوشش، محاسبه گردید (Altunakar et al., 2006).

رنگ ناگت مرغ

رنگ سطح نمونه ناگت با استفاده از دستگاه هانت‌رلب اندازه‌گیری شد (Tamsen et al., 2018). در این آزمون مقادیر L^* ، a^* و b^* تعیین گردید. مقادیر L^* که بین صفر (سیاه) تا ۱۰۰ (سفید) متغیر است، شاخص روشنی، مقادیر مثبت a^* شاخص قرمزی و مقادیر منفی آن شاخص سبزی محصول می‌باشد. همچنین مقادیر مثبت b^* شاخص زردی و مقادیر منفی آن شاخص میزان آبی بودن محصول است.

پراکسید

اندازه‌گیری پراکسید نمونه بهینه طبق روش ذکر (Shanthaand Decker, 1994) انجام شد.

پذیرش کلی

برای ارزیابی حسی نمونه‌های ناگت از ۱۰ ارزیاب استفاده شد. بدین منظور نمونه‌بهینه ناگت و نمونه شاهد (نمونه تهیه شده از آرد گندم، مشابه نمونه‌های تجاری) پس از پخت، در اختیار ارزیاب‌ها قرار گرفت. ارزیاب‌ها از بین دانشجویان انتخاب شدند. پس از کدگذاری نمونه‌ها در اختیار هر ارزیاب قرار گرفته و از آن‌ها خواسته شد که نظر خود را در مورد پذیرش کلی (شامل پارامترهای رنگ، ظاهر، عطر و طعم و بافت با ضریب اهمیت یکسان) بر اساس مقیاس‌های توصیفی هدونیک پنج نقطه‌ای بیان کنند (۱=خیلی بد، ۵=خیلی خوب).

طرح آماری و روش آنالیز داده‌ها

در این پژوهش طرح مرکب مرکزی چرخش پذیر به منظور بررسی تأثیر ۲ متغیر مستقل شامل نسبت‌های مختلف آرد کینوا-ذرت (۱۰۰-، ۵۰-۵۰، ۰-۱۰۰ درصد) و هیدروکلوئید (۱/۵-۱-۰/۵ درصد)، بر ویژگی‌های کیفی ناگت مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۱). در نهایت مدل‌های مختلفی بر داده‌های حاصل از آزمایش‌ها برازش داده شده و بهترین مدل با توجه به نتایج آنالیز واریانس انتخاب گردید. از نرم افزار Design Expert 10.0.7 جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات و رسم نمودارهای مربوط به روش سطح پاسخ استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از بررسی ترکیبات شیمیایی مواد اولیه در جدول ۲ آورده شده است: نتایج آنالیز واریانس برای تمامی آزمون‌ها در جدول ۳ و ۴ قابل مشاهده می‌باشد.

اثر کینوا و HPMC بر محتوای رطوبت ناگت

شکل ۱ نشان می‌دهد افزایش درصد کینوا در فرمولاسیون خمیرآبه، سبب افزایش میزان رطوبت ناگت شد. این نتایج مربوط به محتوای پروتئین و فیبر آرد کینوا، انعقاد پروتئین‌ها و توانایی فیبرها در نگهداری آب است. همچنین، ژلاتینه شدن نشاسته در ساختار آرد نیز عامل مهمی در این نتایج است.

جدول ۱- سطوح متغیرهای مستقل

Table 1- Levels of independent variables

Independent variables متغیرهای مستقل	Code کد	Sample level سطح نمونه‌ها		
		+1	0	-1
Quinoa-Corn (w/w) کینوا-ذرت	A	0-100	50-50	0-100
HPMC	B	1.5	1	0.5

جدول ۲- ترکیبات شیمیایی آرد کینوا، ذرت و گندم

Table 2- Chemical compounds of quinoa flour, corn and wheat

Title	Moisture %	Fat %	Protein %	Ash %	Fiber %
عنوان	رطوبت	چربی	پروتئین	خاکستر	فیبر
Quinoa کینوا	6.522	5.768	17.142	2.651	13.1
Corn ذرت	9.821	5.135	7	1.465	4.4
Wheat گندم نول	10.248	1.218	9.4	0.529	1.2

جدول ۳- نتایج آنالیز واریانس مدل سطح پاسخ برای آزمون‌ها

Table 3- Results of analysis of variance of response surface methodology for experiments

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F Value	p-value
منبع	مجموع میانگین	درجه آزادی	میانگین مربعات	F احتمال	P احتمال
محتوای رطوبت (Moisture content)					
مدل (Model)	8.203E-004	5	1.641E-004	10.13	<0.0042
A	2.40E-004	1	2.407E-004	14.86	<0.0063
B	2.282E-004	1	2.282E-004	14.09	<0.0071
A ²	2.667E-004	1	2.667E-004	16.47	<0.0048
B ²	2.077E-004	1	2.077E-004	12.82	
ضعف برازش (Lack of Fit)	5.058E-005	3	1.686E-005	1.07	0.4545 ^{ns}
خطای خالص (Pure Error)	6.280E-005	4	1.570E-005		
میزان روغن (Oil content)					
مدل (Model)	0.56	6	0.094	73.08	<0.0001
A	0.047	1	0.047	36.64	<0.0001
B	0.043	1	0.043	33.79	<0.0001
AB	0.22	1	0.22	174.83	<0.0001
ضعف برازش (Lack of Fit)	0.011	8	1.347E-003		4347 ^{ns} .0
خطای خالص (Pure Error)	5.670E-003	5	1.134E-003		
سفتیافت (Hardness)					
مدل (Model)	28.23	2	14.11	71.10	<0.0001
A	21.74	1	21.74	109.50	<0.0001
B	6.49	1	6.49	32.69	<0.0002
ضعف برازش (Lack of Fit)	0.89	6	0.15	0.54	0.7600 ^{ns}
خطای خالص (Pure Error)	1.09	4	0.27		
جذب خمیرآبه (Batter pick up)					
مدل (Model)	10792.93	5	2158.59	181.21	<0.0001
A	5520.67	1	5520.67	463.46	<0.0001
B	3952.67	1	3952.67	331.83	<0.0001
AB	72.25	1	72.25	6.07	<0.0001
A ²	1015.22	1	1015.22	85.23	<0.0001
ضعف برازش (Lack of Fit)	46.18	3	15.39	1.66	0.3120 ^{ns}
خطای خالص (Pure Error)	37.20	4	9.30		

ns به معنی عدم معنی‌داری است.
ns means not significant.

جدول ۴- نتایج آنالیز واریانس مدل سطح پاسخ برای شاخص‌های L*، a* و b*

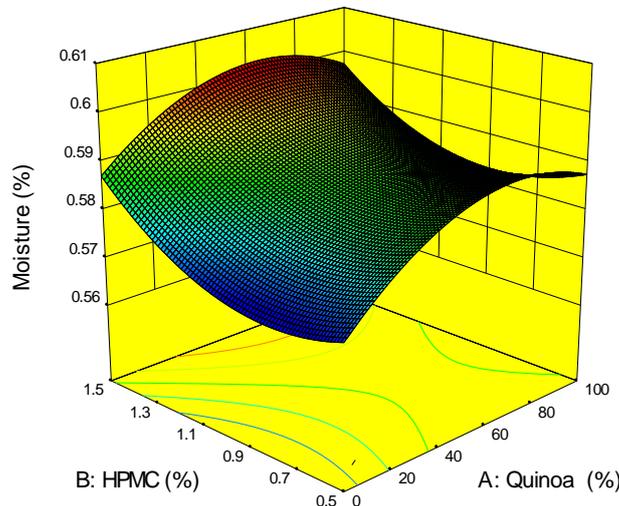
Table 4- Results of analysis of variance of response surface methodology for L*, a* and b*

Source منبع	p-value (L*) احتمال (L*) P	p-value (a*) احتمال (a*) P	p-value (b*) احتمال (b*) P
مدل Model	<0.0001	<0.0001	<0.0001
A	<0.0001	<0.0001	<0.0001
B	0.0280	<0.0001	0.0008
AB		0.0022	0.0015
A ²	<0.0001	<0.0001	0.0015
B ²		0.0422	
ضعف برازش Lack of Fit	0.7607 ^{ns}	0.0672 ^{ns}	0.0590 ^{ns}

ns به معنی عدم معنی‌داری است.
ns means not significant.

دهنده و جاذب آب در محصولات گوشتی گزارش نموده‌اند. همچنین سانزو همکاران (Sanz-Penella et al., 2013) میزان فیبرهای نامحلول بیشتر در آرد دانه آمارانت و نیز بزرگ بودن اندازه ذرات نشاسته دانه آمارانت و جذب بیشتر آب توسط فیبرهای نامحلول و نشاسته آمارانت را عامل افزایش درصد رطوبت گزارش دادند. شکری (Shokry, 2016) از آرد کینوا (تا ۱۵ درصد) (به‌عنوان جایگزین آرد سویا) در همبرگرهای گوشت گاو استفاده کرد، این محقق گزارش کرد که آرد کینوا رطوبت و محتوای چربی را در همبرگرهای خام و پخته بهبود بخشید.

علاوه بر این، در بسیاری از مطالعات تأکید شده است که حفظ رطوبت در نمونه‌های تهیه شده با آرد غلات و حبوبات مشهود است و این به دلیل ساختار قوی ناشی از برهمکنش پروتئین-پروتئین و ساختار قوی ایجاد شده توسط نشاسته ژلاتینه شده است (Alakali et al., 2010). بلخکانلو و همکاران (Sabzi Belehkanlu et al., 2016) گزارش کردند که جایگزینی آرد دانه آمارانت در فرمولاسیون همبرگر موجب افزایش درصد رطوبت شد. علت افزایش رطوبت را می‌توان به میزان جذب بیشتر آب توسط نشاسته و فیبر آرد دانه آمارانت موجود در فرمولاسیون همبرگر نسبت داد. علاوه بر این گاملو همکاران (Gamel et al., 2006) آرد آمارانت را به‌عنوان یک عامل اتصال



شکل ۱- تأثیرات کینوا و HPMC بر محتوای رطوبت
Fig. 1. Effects of quinoa and HPMC on moisture content

همچنین باعث افزایش ثبات پخت می‌شود، چسبندگی خمیرآبه را روی سطوح غذا تسهیل می‌کند و در نتیجه کیفیت کلی محصول سرخ شده

با افزایش درصد HPMC نیز محتوای رطوبت ناگه‌ها افزایش یافت. HPMC مقادیر ویسکوزیته خمیرآبه را افزایش می‌دهد و

نیز تعیین می‌شود (Dana & Saguy, 2006). بنابراین با توجه به میزان فیبر و پروتئین بالای کینوا که سبب حفظ بیشتر رطوبت شد، روغن کمتری نیز جذب شد و در نتیجه با افزایش کینوا محتوای روغن ناگت‌ها کاهش یافت. دنا تورا سیون حرارتی پروتئین‌ها در حین سرخ کردن سدی ایجاد می‌کند که جذب روغن را به تأخیر می‌اندازد (Kim *et al.*, 2015). از آرد کینوا (تا ۱۰ درصد) به عنوان جایگزین جزئی چربی در همبرگرهای گوشت گاو استفاده و گزارش شد که بدون اثر منفی بر ارزیابی حسی منجر به تولید همبرگرهای سالم‌تر (کم چربی‌تر و محتوای پروتئین و فیبر بیشتر) می‌شود (Baoumy *et al.*, 2021). پنا و همکاران (Pena *et al.*, 2015) نیز از آرد کینوا به عنوان جایگزین جزئی چربی در سوسیس‌های پخته شده استفاده کردند. آنها چندین ترکیب را با آرد کینوا و چربی گوشت خوک امتحان کردند و دریافتند که بهترین نتایج با استفاده از ۵ درصد کینوا + ۸ درصد چربی پستی خوک (۶۸ درصد کاهش چربی) به دست آمد.

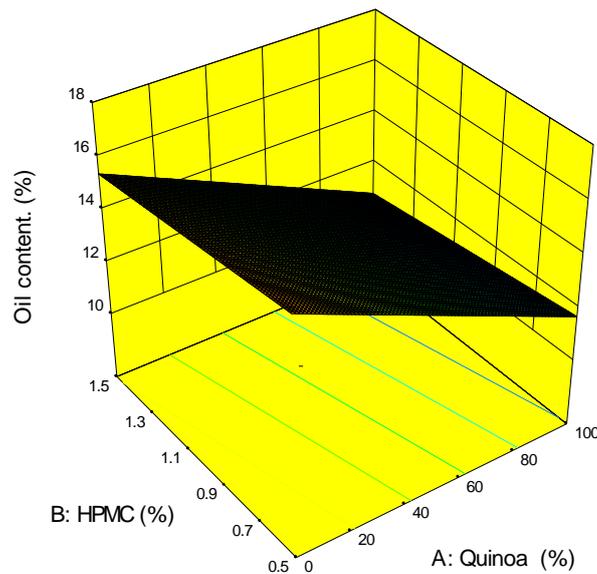
افزایش HPMC نیز سبب کاهش میزان روغن ناگت شد. افزودن HPMC می‌تواند خواص سد طبیعی پروتئین را از طریق تشکیل فیلم در دمای بالاتر از دمای ژل شدن اولیه آنها تسهیل کند (Mellema *et al.*, 2003). به این معنا که استفاده از صمغ یا مشتقات سلولز در فرمولاسیون با تشکیل یک لایه مانع روغن بر روی سطح محصول به طور فیزیکی از مهاجرت روغن به پوسته جلوگیری می‌کند، بنابراین جذب روغن در طول سرخ کردن کاهش می‌یابد (Shih *et al.*, 2005). عبارت دیگر سطوح هیدروفوبی بواسطه هیدروکلوئید افزایش می‌یابد. التوناکار و همکاران (Altunakar *et al.*, 2006) اثر هیدروکلوئیدهای مختلف را بر کیفیت ناگت مرغ بررسی کردند و گزارش کردند ناگت حاوی HPMC کمترین محتوای چربی را داشت. در پژوهشی اثر HPMC بر جذب روغن و بافت دونات سویای بدون گلوتن بررسی شد. نتایج نشان داد که در طی فرآیند سرخ کردن، دونات شاهد گندم دارای بالاترین میزان چربی (۳۵/۰۱ گرم چربی / ۱۰۰ گرم دونات) بود. همه دونات‌های سویا ۲۸-۱۶ درصد چربی کمتری نسبت به گندم داشتند (Kim *et al.*, 2015) که با مطالعه دیگری توسط محمد و همکاران مطابقت دارد (Mohamed *et al.*, 1995). اساساً مکانیسم‌هایی که تشکیل لایه‌های مانع روغن را امکان‌پذیر می‌کنند یا ظرفیت نگهداری آب را افزایش می‌دهند، ممکن است جذب روغن را کاهش دهند (Dana & Saguy, 2006).

را بهبود می‌دهد (Naruenartwongsakul *et al.*, 2008). از آنجا که ژل HPMC خاصیت ویسکوز و چسبناکی را ارائه می‌دهد، می‌تواند اتصال بین خمیرآبه و مواد غذایی را افزایش دهد (Sanz *et al.*, 2004). HPMC بدلیل داشتن خواص تشکیل فیلم و قابلیت ژل شدن حرارتی به عنوان یک مانع در برابر از دست دادن رطوبت عمل می‌کند و مولکول‌های تبخیر شده را حفظ می‌کند (Sahin *et al.*, 2005). چن و همکاران (Chen *et al.*, 2008) از هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC) به منظور بهبود تردی پوسته ناگت ماهی استفاده کردند. نتایج نشان داد که تردی پوسته در محصولات خمیری و سوخاری ارتباط نزدیکی با میزان آب باقیمانده پس از سرخ کردن دارد و HPMC مانند یک سد عمل کرده و سبب حفظ رطوبت، کاهش جذب روغن و بهبود تردی پوسته ناگت ماهی می‌شود. نتایج این آزمون با نتایج (Sahin *et al.*, 2005) نیز که تأثیر خمیرآبه دارای انواع صمغ را بر کیفیت ناگت مرغ بررسی کردند، تطابق داشت.

کیم و همکاران (Kim *et al.*, 2015) پس از استفاده از HPMC در ناگت سویا بدون گلوتن گزارش کردند که میزان رطوبت خمیر گندم پس از سرخ کردن حدود ۹ درصد کاهش یافت، اما افزودن HPMC به خمیرهای سویا، رطوبت را تنها ۴-۳ درصد پس از سرخ کردن کاهش داد. HPMC به دلیل خواص ژل‌سازی در دمای بالا و همچنین ظرفیت بالای نگهداری آب، عنصر کلیدی برای طراحی لایه‌های مانع است (Hamdy & White, 1969).

اثر کینوا و HPMC بر محتوای روغن

نتایج نشان داد با افزایش کینوا، میزان روغن روند کاهشی داشت (شکل ۲). حذف رطوبت و جذب روغن دو فرآیند اصلی انتقال جرم طی سرخ کردن عمیق مواد غذایی محسوب می‌شوند (Ngadi *et al.*, 2001). دمای بالای روغن منجر به تبخیر بخشی از آب موجود در ماده غذایی می‌شود که از ماده غذایی به سمت روغن اطراف حرکت می‌کند و مقدار مشخصی روغن نیز توسط ماده غذایی جذب می‌گردد (Moyano *et al.*, 2006) علاوه بر این، پریمو-مارتین و همکاران (Primo-Martin *et al.*, 2010) دریافتند که مکانیسم‌های دیگر، به غیر از جایگزینی آب، مسئول پدیده جذب روغن هستند. جذب روغن یک پدیده سطحی است و جذب و توزیع آن توسط ریزساختار پوسته



شکل ۲- تأثیرات کینوا و HPMC بر میزان روغن
Fig. 2. Effects of quinoa and HPMC on oil content

سفتی نمونه‌ها شد. افزایش HPMC نیز سبب کاهش سفتی شد. کیم و همکاران (Kim *et al.*, 2015) بیان کردند که افزودن HPMC در دونات سویا منجر به کاهش قابل توجهی در مقدار سفتی آن شد. نتایج مشابهی با افزودن HPMC در غذاها قبلاً گزارش شده است (Sabanis & Tzia, 2011; Shin *et al.*, 2013). مقادیر سفتی پایین‌تر می‌تواند مربوط به ظرفیت بالای اتصال آب HPMC باشد که منجر به رطوبت بالای محصول می‌شود (Sabanis & Tzia, 2011).

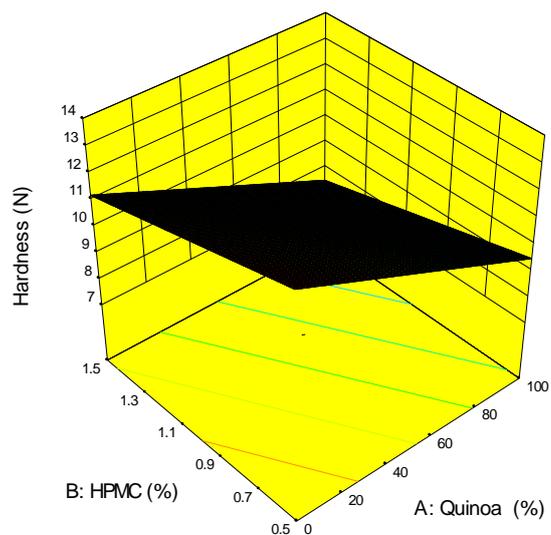
تأثیر متغیرهای مستقل بر رنگ

در شکل ۴، اثر متغیرهای مستقل بر رنگ مورد بررسی قرار گرفت. همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، با افزایش سطح کینوا شاخص L^* که مربوط به میزان روشنایی نمونه است، کاهش یافته است. همچنین افزایش سطح HPMC سبب افزایش روشنایی نمونه شده است. شاخص a^* که بیانگر قرمزی نمونه است، با افزایش کینوا، بطور کلی افزایش یافت. افزایش سطح HPMC سبب افزایش جزئی a^* شد که این اثر معنی‌دار نبود. شاخص b^* که نشان‌دهنده زردی نمونه است، با افزایش HPMC، کاهش یافت. کینوا اثر معنی‌داری بر این شاخص نداشت. رنگ یکی از شاخص‌های مهم کیفیت در محصولات سرخ شده می‌باشد. تغییر رنگ میزان واکنش‌های قهوه‌ای شدن مانند واکنش میلارد، کاراملیزه شده و درجه پخت و احتمالاً تخریب رنگ‌دانه که در طول عملیات حرارتی اتفاق می‌افتد، را نشان می‌دهد (Danbaba *et al.*, 2019).

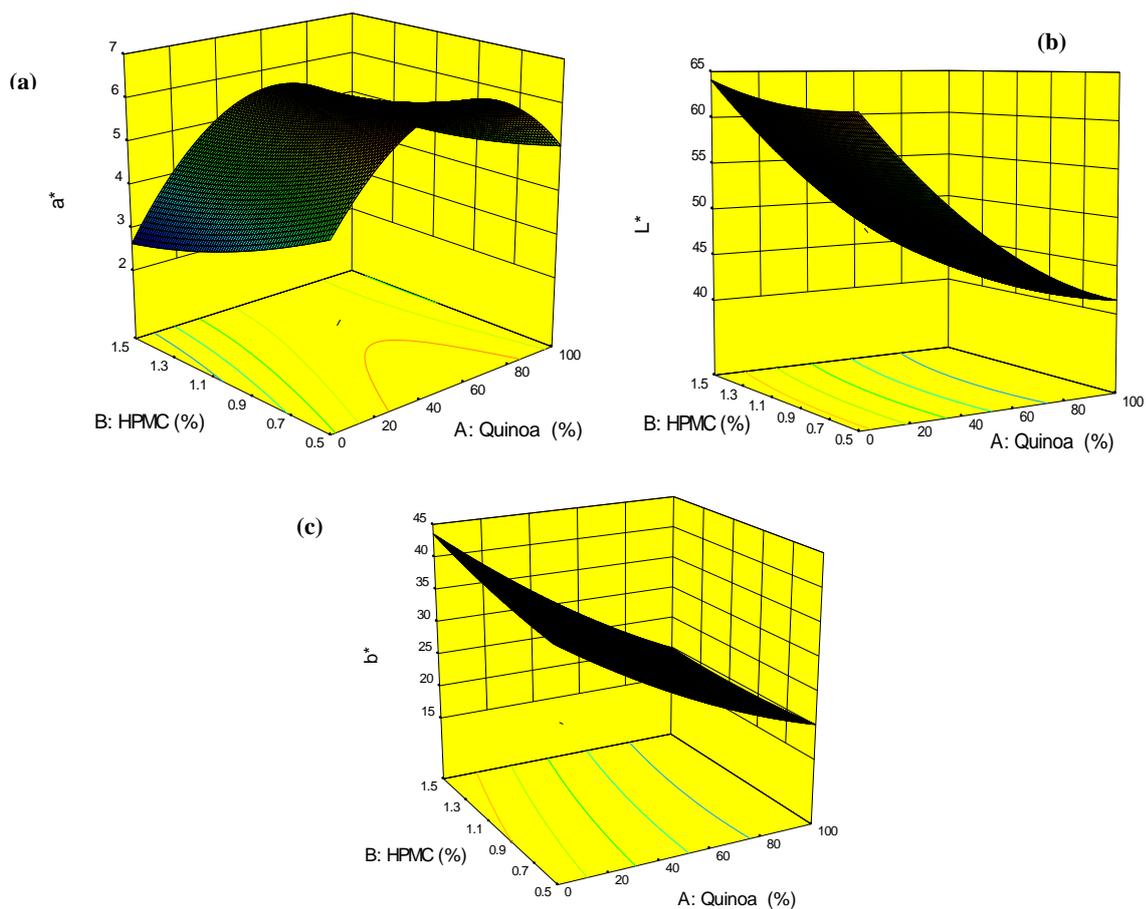
اثر کینوا و HPMC بر سفتی بافت

بافت غذا یکی از مهمترین عوامل تعیین کننده کیفیت غذا است، در حالیکه مورد قبول بودنیک محصول با ترکیب و خواص رئولوژیکی آن تعیین می‌شود (Boren & Waniska, 1992). اطلاعات مربوط به رئولوژی، عملکرد و ترکیب مواد تشکیل دهنده برای توسعه فرمولاسیون مواد غذایی از جمله محصولات گوشتی مهم است. این پارامترها به کنترل کیفیت، کنترل فرآیند و طراحی تجهیزات پردازش کمک می‌کند (Ofoli *et al.*, 1987).

نتایج آزمون سفتی (سختی) بافت نشان داد که با افزایش سطح کینوا، سفتی کاهش پیدا کرد (شکل ۳). تامسن و همکاران (Tamsen *et al.*, 2018) بیان کردند که حضور تاج خروس در خمیرآبه ناگت می‌تواند محصولی با رطوبت بیشتر تولید کند که این امر سبب آبدار بودن بیشتر و نرمی بافت محصول نهایی می‌شود. بهمنیار و همکاران (Bahmanyar *et al.*, 2021) گزارش کردند که بالا بودن سطح پروتئین در نمونه منجر به افزایش ظرفیت نگهداری آب و جذب بیشتر روغن طی فرآیند پخت می‌شود و در نهایت سفتی بافت همبرگر را کاهش می‌دهد. اکوتیو همکاران (Akwetey & Knipe, 2012) به مطالعه بررسی ویژگی‌های حسی و بافتی همبرگر حاوی Gari (که از فرآوری ریشه کازاوا به دست می‌آید و بیشتر در کشورهای غربی آفریقا کشت می‌شود) پرداخته و گزارش کردند که در نمونه‌های حاوی Gari کمترین میزان سفتی، انسجام، کشسانی، صمغی بودن و قابلیت جویدن مشاهده شد که می‌تواند به دلیل افزایش جذب رطوبت و ظرفیت نگهداری آب با افزایش درصد Gari باشد که در نتیجه سبب کاهش



شکل ۳- تأثیرات کینوا و HPMC بر سختی
Fig. 3. Effects of quinoa and HPMC on hardness



شکل ۴- تأثیرات کینوا و HPMC بر شاخص L^* (الف)، a^* (ب) و b^* (ج)
Fig. 4. Effects of quinoa and HPMC on L^* (a), a^* (b) and b^* (c)

منجر به کاهش آب آزاد در سیستم خمیر می‌شود. دوگان و همکاران (Dogan *et al.*, 2005) گزارش کردند که توسعه ویسکوزیته اجزای خشک به توانایی اتصال آب در فرمولاسیون خمیرآبه مربوط می‌شود. تاسباس و همکاران (Taşbaş *et al.*, 2016) بیان کردند که استفاده از پروتئین آب پنیر در فرمولاسیون باعث افزایش قابل توجه ($p < 0.05$) در جذب پوشش در مقایسه با آرد گندم بدون گلوتن شد. پروتئین‌های موجود در خمیرآبه ساختار و قوام خمیرآبه‌های خام را افزایش می‌دهند و این با افزایش ویسکوزیته، مقادیر جذب پوشش و بازده نهایی در محصولات سرخ شده منعکس می‌شود (Fizman & Salvador, 2012; Nasiri *et al.*, 2003). با توجه به تمامی این مطالب، می‌توان نتیجه گرفت که افزایش پروتئین در فرمولاسیون خمیرآبه سبب افزایش میزان جذب خمیرآبه می‌شود. مطابق انتظار با افزایش درصد کینوا، جذب خمیرآبه نیز افزایش یافت.

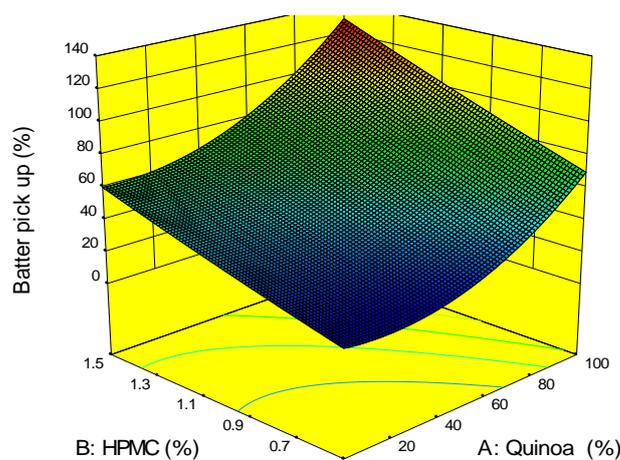
افزایش سطوح HPMC نیز سبب افزایش جذب خمیرآبه شد (شکل ۵). التوناکار و همکاران (Altunakar *et al.*, 2006) گزارش کردند که جذب پوشش همبستگی زیادی با قوام خمیرآبه دارد. زمانی که پروتئین‌های مختلف (Dogan *et al.*, 2005a) یا آردهای مختلف (Dogan *et al.*, 2005b) به فرمول خمیرآبه اضافه شد، جذب پوشش مستقیماً با ویسکوزیته خمیر متناسب بود. مطالعات قبلی گزارش کرده‌اند که افزودن متیل سلولوز، هیدروکسی پروپیل متیل سلولوز، صمغ، نشاسته اصلاح شده و پروتئین در سیستم‌های خمیری به‌طور موفقیت‌آمیزی باعث کاهش جذب روغن و افزایش جذب خمیرآبه در محصولات سرخ شده پوشش‌دار مانند قطعات مرغ، ماهی، سبزیجات، پنیر و محصولات غلات شده است (Fizman & Salvador 2003; Akdeniz *et al.*, 2006).

اسیدآمین‌ها لایزین و سایر آمینواسیدهایی که در ماده اولیه وجود دارند ممکن است با قندهای احیاکننده واکنش دهند و با وقوع واکنش میلارد سبب تیره‌تر شدن رنگ محصولات شوند (Hagenimana *et al.*, 2006). کالتر ولورنز (Coulter & Lorenz, 1991) دریافتند که به دلیل تیره بودن کینوا نسبت به ذرت می‌توان انتظار داشت که زمانی که کینوا به مخلوط اضافه می‌گردد محصول تیره‌تر شده و شاخص روشنایی آن کاهش یابد. در تحقیقی که توسط بهمنیار و همکاران (Bahmanyar *et al.*, 2021) صورت گرفت، مشاهده شد در نمونه‌های همبرگر پخته‌شده میزان a^* نمونه‌ها افزایش و L^* ، b^* نمونه‌ها کاهش یافت.

ورما و همکاران (Verma *et al.*, 2019) اثر کینوا و تاج خروس را بر ناگت گوشت بز بررسی کردند و دریافتند میزان قرمزی تیمار QI (۱/۵ درصد کینوا) به‌طور معنی‌داری کمتر از تیمار QII (۳ درصد کینوا) بود. میزان قرمزی تحت تأثیر محتوای میوگلوبین گوشت و همچنین مواد غیر گوشتی است. تغییرات مشاهده شده در مقدار قرمزی ممکن است به آرد آمارانت و کینوا اضافه شده نسبت داده شود، زیرا مقدار محتوا و فرمولاسیون گوشت/میوگلوبین در تیمارها ثابت بود.

تأثیر متغیرهای مستقل بر جذب خمیرآبه

جذب خمیرآبه یک شاخص مهم در صنایع غذایی است، زیرا می‌تواند بر کیفیت نهایی غذا و بازده فرآیند تأثیر بگذارد (Hsia *et al.*, 1992). جذب پوشش، ظرفیت نگهداری آب و جذب روغن به‌طور مستقیم با ویسکوزیته خمیرآبه مرتبط است (Taşbaş *et al.*, 2016). قبلاً نیز گزارش شده بود که با افزایش ویسکوزیته، خمیر بیشتری روی نمونه باقی می‌ماند (Nasiri *et al.*, 2012). این امر را می‌توان به توانایی گلوتن گندم در جذب آب و ساختمان ویسکوزیته نسبت داد که



شکل ۵- تأثیرات کینوا و HPMC بر جذب خمیرآبه

Fig. 5. Effects of quinoa and HPMC on batter pick up

جدول ۵- مقایسه میانگین‌های نمونه شاهد و نمونه بهینه
Table 5- Comparison of control sample and optimal sample averages

تیمار Treatment	رطوبت Moisture	روغن Oil	جذب خمیرآبه Batter pick up	پراکسید Proxide	L*	a*	b*	پذیرش کلی Overall acceptance
Optimal بهینه	0.605 ^a	10.78 ^a	25 ^b	10.4 ^a	47 ^b /43	95 ^a /6	25.60 ^a	4/2 ^a
Control شاهد	0.495 ^b	9.65 ^b	55 ^a	10.7 ^a	15 ^a /64	26 ^b /0	24.86 ^a	3/2 ^b

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است ($p < 0.05$)
Different letters in each column indicate a significant difference ($p < 0.05$)

بهینه‌یابی

شرایط عملیاتی بهینه با استفاده از تکنیک بهینه‌سازی عددی^۱ جستجو شد. این بهینه‌سازی به منظور رسیدن به محصولی با ویژگی‌های مطلوب برای کاربرد در فرآورده غذایی می‌باشد که پس از انجام تمامی آزمون‌ها و با توجه به نتایج، فرمولاسیون نمونه بهینه توسط نرم‌افزار تعیین گردید. با توجه به فرمولاسیون تعیین شده، نمونه بهینه تولید شد و آزمون‌های ذکر شده در **جدول ۵** روی آن انجام شد. ویژگی‌هایی که در شرایط بهینه مورد توجه قرار گرفت، شامل بیشینه محتوای رطوبت، کمینه میزان روغن و سفتی بافت بودند. نمونه بهینه شامل ۹۰ درصد آرد کینوا و ۱/۱ درصد HPMC تحت این شرایط تولید شده و مورد آزمون قرار گرفت و نتایج آزمون‌های آن با نمونه شاهد که با آرد گندم نول تولید شده بود، توسط نرم‌افزار Minitab 16 به روش ANOVA1-Tukey مقایسه گردید. نتایج در **جدول ۵** آورده شده است.

نتایج نشان داد که رطوبت نمونه بهینه و نمونه شاهد، تفاوت معنی‌دار داشتند (بدلیل محتوای پایین رطوبت آرد گندم)، اما نمونه بهینه به علت بالا بودن میزان چربی کینوا نسبت به گندم (**جدول ۲**) روغن بیشتری داشت. جذب خمیرآبه در نمونه شاهد بیشتر از نمونه بهینه بود. نمونه شاهد بیشترین میزان روشنایی را داشت. از نظر شاخص قرمزی نمونه بهینه با نمونه شاهد تفاوت معنی‌دار داشت، اما در شاخص زردی تفاوتی نداشتند. در میزان پراکسید نیز دو نمونه با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند. بطور کلی در ارزیابی حسی نمونه بهینه پذیرش بیشتری توسط مصرف‌کنندگان داشت و تفاوتش با نمونه شاهد معنی‌دار بود.

نتیجه‌گیری

بیماری سلیاک در جهان روند رو به افزایشی را نشان می‌دهد. امروزه تنها راه حل برای این بیماری، رژیم سخت و دائمی بدون گلوتن است. علاوه بر این، نه تنها بیماران سلیاک، بلکه کسانی که مایل به

مصرف محصولات بدون گلوتن هستند نیز این رژیم را ترجیح می‌دهند. با توجه به تنوع کم محصولات گوشتی بدون گلوتن در بازار، توسعه استراتژی‌های جدید در این فرآورده‌ها برای مصرف‌کنندگان با حساسیت به گلوتن برای افزایش مصرف این محصولات در رژیم غذایی این افراد مهم است. در این پژوهش از آرد کینوا و ذرت به‌عنوان جایگزین آرد گندم در ناگت مرغ استفاده شد. هم‌چنین هیدروکلوئید HPMC با هدف بهبود کیفیت و خواص رئولوژیکی فرآورده در سه سطح بکار گرفته شد. نتایج نشان داد با افزایش کینوا، رطوبت، جذب خمیرآبه و میزان قرمزی (a^*) افزایش و میزان روغن، سفتی بافت، میزان روشنایی (L^*) و میزان زردی (b^*) کاهش یافت. افزایش HPMC نیز سبب افزایش محتوای رطوبت، میزان روشنایی (L^*) و جذب خمیرآبه و کاهش میزان روغن و سفتی بافت شد. میزان پراکسید نمونه بهینه و نمونه شاهد با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشت و از نظر پذیرش کلی، نمونه بهینه امتیاز بالاتری نسبت به نمونه شاهد گرفت. بطور کلی می‌توان نتیجه گرفت که افزودن کینوا و HPMC سبب تولید فرآورده‌ای با کیفیت مانند رطوبت زیاد و محتوای روغن کم (ویژگی‌های مهم در محصولات سرخ کردنی) و دارای پذیرش بالا برای مصرف‌کنندگان می‌شود.

References

1. Akdeniz, N., Sahin, S., & Sumnu, G. (2006). Functionality of batters containing different gums for deep-fat frying of carrot slices. *Journal of Food Engineering*, 75(4), 522-526. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.04.035>
2. Akwetey, W.Y., & Knipe, C.L. (2012). Sensory attributes and texture profile of beef burgers with gari. *Meat Science*, 92(4), 745-748. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.06.032>
3. Alakali, J.S., Irtwange, S.V., & Mzer, M.T. (2010). Quality evaluation of beef patties formulated with bambara groundnut (*Vigna subterranean* L.) seed flour. *Meat Science*, 85(2), 215-223. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.12.027>
4. Altunakar, B., Sahin, S., & Sumnu, G. (2004). Functionality of batters containing different starch types for deep-fat frying of chicken nuggets. *European Food Research and Technology*, 218(4), 318-322. <https://doi.org/10.1007/s00217-003-0854-5>
5. Altunakar, B., Sahin, S., & Sumnu, G. (2006). Effects of hydrocolloids on apparent viscosity of batters and quality of chicken nuggets. *Chemical Engineering Communications*, 193(6), 675-682. <https://doi.org/10.1080/00986440500194069>
6. Angeli, V., Miguel Silva, P., Crispim Massuela, D., Khan, M.W., Hamar, A., Khajehei, F., & Piatti, C. (2020). Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): An overview of the potentials of the “Golden Grain” and socio-economic and environmental aspects of its cultivation and marketization. *Foods*, 9(2), 216. <https://doi.org/10.3390/foods9020216>
7. AOAC, (2000). Official Methods of Analysis "Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC".
8. Bagdatli, A. (2018). The influence of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) flour on the physicochemical, textural and sensorial properties of beef meatball. *Italian Journal of Food Science*, 30, 280-288. <https://doi.org/10.14674/IJFS-945>
9. Bahmanyar, F., Hosseini, S. M., Mirmoghtadaie, L., & Shojaee-Aliabadi, S. (2021). Effects of replacing soy protein and bread crumb with quinoa and buckwheat flour in functional beef burger formulation. *Meat Science*, 172, 108305. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108305>
10. Baioumy, A. A., Bobreneva, I. V., Tvorogova, A. A., & Abdelmaksoud, T. G. (2021). Effect of quinoa seed and tiger nut mixture on quality characteristics of low-fat beef patties. *International Food Research Journal*, 28(5).
11. Baixauli, R., Sanz, T., Salvador, A., & Fiszman, S.M. (2003). Effect of the addition of dextrin of dried egg on the rheological and texture properties of batters for fried foods. *Food Hydrocolloids*, 17, 305-310. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(02\)00091-7](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(02)00091-7)
12. Baliga, B.R., & Madaiah, N. (1970). Quality of sausage emulsion prepared from mutton. *Journal of Food Science*, 35(4), 383-385. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1970.tb00937.x>
13. Boren, B., & Waniska, R.D. (1992). Sorghum seed color as an indicator of tannin content. *Journal of Applied Poultry Research*, 1(1), 117-121. <https://doi.org/10.1093/japr/1.1.117>
14. Chayawat, J., & Rumpagaporn, P. (2020). Reducing chicken nugget oil content with fortified defatted rice bran in batter. *Food Science and Biotechnology*, 29(10), 1355-1363. <https://doi.org/10.1007/s10068-020-00782-y>
15. Chen, C.L., Li, P.Y., Hu, W.H., Lan, M.H., Chen, M.J., & Chen, H.H. (2008). Using HPMC to improve crust crispness in microwave-reheated battered mackerel nuggets: Water barrier effect of HPMC. *Food Hydrocolloids*, 22(7), 1337-1344. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.07.003>
16. Chen, S.D., Chen, H.H., Chao, Y.C., & Lin, R.S. (2009). Effect of batter formula on qualities of deep-fat and microwave fried fish nuggets. *Journal of Food Engineering*, 95(2), 359-364. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.05.016>
17. Coulter, L.A., & Lorenz, K. (1991). Extruded corn grits—quinoa blends: II. Physical characteristics of extruded products. *Journal of Food Processing and Preservation*, 15(4), 243-259. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.1991.tb00170.x>
18. Dana, D., & Saguy, I.S. (2006). Mechanism of oil uptake during deep-fat frying and the surfactant effect-theory and myth. *Advances in Colloid and Interface Science*, 128, 267-272. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2006.11.013>
19. Danbaba, N., Nkama, I., Badau, M. H., & Idakwo, P.Y. (2019). Influence of extrusion conditions on nutritional composition of rice-bambara groundnut complementary foods. *Arid Zone Journal of Engineering, Technology*, 559-582.
20. Devatkal, S.K., Kadam, D.M., Naik, P.K., & Sahoo, J. (2011). Quality characteristics of gluten-free chicken nuggets extended with sorghum flour. *Journal of Food Quality*, 34(2), 88-92. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2010.00367.x>
21. Dogan, S.F., Sahin, S., & Sumnu, G. (2005). Effects of batters containing different protein types on the quality of deep-fat-fried chicken nuggets. *European Food Research and Technology*, 220(5), 502-508. (a) <https://doi.org/10.1007/s00217-004-1099-7>

22. Dogan, S.F., Sahin, S., & Sumnu, G. (2005). Effects of soy and rice flour addition on batter rheology and quality of deep-fat fried chicken nuggets. *Journal of Food Engineering*, 71(1), 127-132. (b) <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.10.028>
23. Fernández-López, J., Jiménez, S., Sayas-Barberá, E., Sendra, E., & Pérez-Alvarez, J.A. (2006). Quality characteristics of ostrich (*Struthio camelus*) burgers. *Meat Science*, 73(2), 295-303. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.12.011>
24. Fiszman, S.M., & Salvador, A. (2003). Recent developments in coating batters. *Trends in Food Science & Technology*, 14(10), 399-407. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(03\)00153-5](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(03)00153-5)
25. Gamel, T.H., Linssen, J.P., Mesallam, A.S., Damir, A.A., & Shekib, L.A. (2006). Seed treatments affect functional and antinutritional properties of amaranth flours. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(7), 1095-1102. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2463>
26. Haboubi, N.Y., Taylor, S., & Jones, S. (2006). Coeliac disease and oats: a systematic review. *Postgraduate Medical Journal*, 82(972), 672-678. <https://doi.org/10.1136/pgmj.2006.045443>
27. Hagenimana, A., Ding, X., & Fang, T. (2006). Evaluation of rice flour modified by extrusion cooking. *Journal of Cereal Science*, 43(1), 38-46. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2005.09.003>
28. Hamdy, M., & White, H. (1969). Edible coating composition.
29. Hsia, H., Smith, D., & Steffe, J. (1992). Rheological properties and adhesion characteristics of flour-based batters for chicken Nuggets as affected by three Hydrocolloids. *Journal Food Science*, 57, 16-18. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1992.tb05414.x>
30. Kim, J., Choi, I., Shin, W.K., & Kim, Y. (2015). Effects of HPMC (Hydroxypropyl methylcellulose) on oil uptake and texture of gluten-free soy donut. *LWT-food Science and Technology*, 62(1), 620-627. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.039>
31. Korus, J., Witczak, M., Ziobro, R., & Juszczak, L. (2009). The impact of resistant starch on characteristics of gluten-free dough and bread. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 988-995. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.07.010>
32. Mellema, M. (2003). Mechanism and reduction of fat uptake in deep-fat fried foods. *Trends in Food Science & Technology*, 14(9), 364-373. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(03\)00050-5](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(03)00050-5)
33. Mohamed, S., Lajis, S.M.M., & Hamid, N.A. (1995). Effects of protein from different sources on the characteristics of sponge cakes, rice cakes (apam), doughnuts and frying batters. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 68(3), 271-277. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740680303>
34. Moyano, P.C., & Pedreschi, F. (2006). Kinetics of oil uptake during frying of potato slices:: Effect of pre-treatments. *LWT-Food Science and Technology*, 39(3), 285-291. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.01.010>
35. Naruenartwongsakul, S., Chinnan, M.S., Bhumiratana, S., & Yoovidhya, T. (2008). Effect of cellulose ethers on the microstructure of fried wheat flour-based batters. *LWT-Food Science and Technology*, 41(1), 109-118. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.02.004>
36. Nasiri, F.D., Mohebbi, M., Yazdi, F.T., & Khodaparast, M.H.H. (2012). Effects of soy and corn flour addition on batter rheology and quality of deep fat-fried shrimp nuggets. *Food and Bioprocess Technology*, 5(4), 1238-1245. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0423-4>
37. Ngadi, M.O., Kassama, L.S., & Raghavan, G.S.V. (2001). Porosity and pore size distribution in cooked meat patties containing soy protein. *Canadian Biosystems Engineering*, 43, 3-17.
38. Ofoli, R.Y., Morgan, R.G., & Steffe, J.F. (1987). A generalized rheological model for inelastic fluid foods 1. *Journal of Texture Studies*, 18(3), 213-230. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.1987.tb00899.x>
39. ÖZER, C.O., & Secen, S.M. (2018). Effects of quinoa flour on lipid and protein oxidation in raw and cooked beef burger during long term frozen storage. *Food Science and Technology*, 38, 221-227. <https://doi.org/10.1590/fst.36417>
40. Peña, M., Méndez, B., Guerra, M., & Peña, S. (2015). Development of functional meat products: use of quinoa flour. *Alimentos, Ciencia e Investigación*, 23, 21-36
41. Primo-Martín, C., Sanz, T., Steringa, D.W., Salvador, A., Fiszman, S. M., & Van Vliet, T. (2010). Performance of cellulose derivatives in deep-fried battered snacks: Oil barrier and crispy properties. *Food Hydrocolloids*, 24(8), 702-708. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.04.013>
42. Repo-Carrasco-Valencia, R., Hellström, J. K., Pihlava, J. M., & Mattila, P. H. (2010). Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Food Chemistry*, 120(1), 128-133. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.087>
43. Sabanis, D., & Tzia, C. (2011). Selected structural characteristics of HPMC-containing gluten free bread: A response surface methodology study for optimizing quality. *International Journal of Food Properties*, 14(2), 417-431. <https://doi.org/10.1080/10942910903221604>
44. Sabzi Belekhanlu, A., Mirmoghtadai, L., Hosseini, H., Hosseini, M., Ferdosi, R., & Shojaee Aliabadi, S. (2016). Effect of Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) seed flour as a Soya protein and bread crumbs on

- physicochemical and sensory properties of a typical meat hamburger. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 11(3), 115-122.
45. Sahin, S., Sumnu, G., & Altunakar, B. (2005). Effects of batters containing different gum types on the quality of deep-fat fried chicken nuggets. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(14), 2375-2379. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2258>
 46. Salvador, A., Sanz, T., & Fiszman, S.M. (2005). Effect of the addition of different ingredients on the characteristics of a batter coating for fried seafood prepared without a pre-frying step. *Food Hydrocolloids*, 19, 703-708. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2004.07.003>
 47. Sanz, T., Salvador, A., & Fiszman, S.M. (2004). Effect of concentration and temperature on properties of methylcellulose-added batters application to battered, fried seafood. *Food Hydrocolloids*, 18(1), 127-131. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(03\)00050-X](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(03)00050-X)
 48. Sanz-Penella, J.M., Wronkowska, M., Soral-Smietana, M., & Haros, M. (2013). Effect of whole amaranth flour on bread properties and nutritive value. *LWT-Food Science and Technology*, 50(2), 679-685. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.07.031>
 49. Shantha, N.C., & Decker, E.A. (1994). Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *Journal of AOAC International*, 77(2), 421-424. <https://doi.org/10.1093/jaoac/77.2.421>
 50. Shih, F.F., Bett-Garber, K.L., Daigle, K.W., & Ingram, D. (2005). Effects of rice batter on oil uptake and sensory quality of coated fried okra. *Journal of Food Science*, 70(1), S18-S21. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb09058.x>
 51. Shin, D. J., Kim, W., & Kim, Y. (2013). Physicochemical and sensory properties of soy bread made with germinated, steamed, and roasted soy flour. *Food Chemistry*, 141(1), 517-523. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.005>
 52. Shokry, A.M. (2016). The usage of quinoa flour as a potential ingredient in production of meat burger with functional properties. *Middle East Journal Applied Science*, 6, 1128-1137.
 53. Shukla, R., & Cheryan, M. (2001). Zein: the industrial protein from corn. *Industrial Crops and Products*, 13(3), 171-192. [https://doi.org/10.1016/S0926-6690\(00\)00064-9](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(00)00064-9)
 54. Tamsen, M., Shekarchizadeh, H., & Soltanizadeh, N. (2018). Evaluation of wheat flour substitution with amaranth flour on chicken nugget properties. *LWT*, 91, 580-587. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.001>
 55. Taşbaş, H., Osanmaz, E., Özer, C.O., & Kiliç, B. (2016). Quality characteristics and storage stability of gluten-free coated chicken nuggets. *Carpathian Journal of Food Science & Technology*, 8(4).
 56. Verma, A. K., Rajkumar, V., & Kumar, S. (2019). Effect of amaranth and quinoa seed flour on rheological and physicochemical properties of goat meat nuggets. *Journal of Food Science and Technology*, 56(11), 5027-5035. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03975-4>
 57. Zambrano, P.V., González, G.R., & Viera, L.C. (2019). Quinoa as gelling agent in a mortadella formulation. *International Food Research Journal*, 26(3), 1069-1077.



Evaluation of Bubbling Process in Reducing Ultrafiltration Membrane Fouling and Its Efficiency During Refining of Raw Beet Juice

M. Soleymani¹, V. Hakimzadeh^{2*}, M. Shahidi Noghabi³, A. Arianfar²

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

(* - Corresponding Author Email: v.hakimzadeh@iauq.ac.ir)

3 -Associate Professor, Department of Food Chemistry, Research Institute of Food Science and Technology (RIFST), Mashhad, Iran

Received: 10.07.2022
Revised: 24.09.2022
Accepted: 08.10.2022
Available Online: 22.11.2023

How to cite this article:

Soleymani, M., Hakimzadeh, V., Shahidi Noghabi, M., & Arianfar, A. (2024). Evaluation of bubbling process in reducing ultrafiltration membrane fouling and its efficiency during refining of raw beet Juice. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 20(1), 63-74. (In Persian with English abstract).
<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.77642.1190>

Introduction

Appropriate and effective decolorization of raw and thin juice in sugar refineries is considered as an important process to obtain premium quality sugar, which due to the problems of its conventional process, membrane processes as effective and environmentally friendly processes can be used in parts of sugar industries. Among the disadvantages of the usual methods to remove membrane fouling, it can be mentioned the destruction of the membrane, environmental pollution, the remaining detergents in the membrane and the product, especially in the pharmaceutical and food industries, and the increase in production costs. Therefore, it seems that physical methods such as pre-filtration of the incoming feed, using turbulent and pulse currents to prevent excessive compression of the gel layer formed on the membrane surface are more effective and have fewer disadvantages. One of the ways to change the flow of feed entering the membrane surface is bubbling, which causes mixing the flow and increases the tangential shear stress. In fact, the hydrodynamic force that creates bubbles causes both the dragging force and the lifting force and leads to the removal of fouling and reducing the phenomenon of concentration polarization.

Materials and Methods

In this research, an ultrafiltration membrane (MWCO=10 KDa) pilot with a flat module (effective surface 40 square centimeters) was used to purify raw beet juice (which had passed a stage of pre-treatment with microfiltration) at the temperature of about 30 degrees Celsius and a trans membrane pressure of 3.5 bar during the process. Nitrogen gas in the amount of 0.5, 1 and 1.5 liters per minute was used in two continuous and interrupted modes for bubbling. In this way, in the interrupted mode, after every 3 minutes of filtration, the filtration process was carried out with gas for one minute. The factors such as flux, fouling and membrane resistance as membrane efficiency's factors and parameters like color, purity and turbidity as purification factors was investigated in the form of a completely random design and compared with control filtration conditions (without bubble generation). The results of this research were statistically analyzed using SAS (version 1.9) and Microsoft Office Excel 2019 software. The average data of each test in three repetitions was compared with the least significant difference (LSD) test at the 95% level.

Results and Discussion

Increasing the amount of gas during the bubbling process improved the flow rate. Also, the results showed that the decreasing trend of the permeate flux at the gassing rate of 1.5 L/min was less than other treatments and more stable



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.77642.1190>

conditions were seen in the sap flux during the process. Also, the amount of flux in the interrupted form of bubbling showed that after the application of bubbling, although the amount of flux increased, but after that, during the ultra-refining process, the flux decreased again and did not remain constant at that level. But in general, despite the fact that the average flux was higher in the continuous process compared to the interrupted state, there was no significant difference between them. The results related to the amount of membrane fouling after applying the process showed that by applying bubble generation in both continuous and interrupted mods, the fouling was significantly reduced compared to the usual state of ultrafiltration. Also, as the amount of gas entering the feed stream increased, the membrane fouling decreased, which was slightly higher in the continuous state than in the interrupted mod. The overall hydrodynamic resistance of the membrane in different filtration modes showed that the difference between the overall resistance of the membrane in the ultrafiltration and the ultrafiltration process with gasification is quite significant. However, although the overall resistance of the membrane in the interrupted gassing state is higher than its continuous state due to more clogging, there is no significant difference between them ($P < 0.05$). Since the flux changes and the amount of gel layer formation affect the properties of the purified syrup, the properties of the syrup were also investigated in the best flux created in two continuous and interrupted modes. The results showed that the continuous flow of gasification caused a small defect in the purification properties such as purity, color and turbidity due to the improvement of the permeate flow flux, which of course can be ignored in the sugar industry due to the improvement of the permeate flow flux.

Conclusion

Therefore, in general, it can be said that the discontinuous method, due to less gas consumption during bubbling and no significant difference in the amount of flux compared to the continuous mode, can be considered as the optimal mode of gasification during the experiments conducted in this research be placed.

Keywords: Bubbling, Concentration polarization, Purity, Raw juice, Ultrafiltration

مقاله پژوهشی

جلد ۲۰، شماره ۱، فروردین - اردیبهشت ۱۴۰۳، ص. ۷۴-۶۳

ارزایی فرآیند حباب‌زایی در کاهش گرفتگی غشاء فرآپالایش و کارایی آن طی تصفیه شربت خام چغندر

مصطفی سلیمانی^۱ - وحید حکیم‌زاده^{۲*} - مصطفی شهیدی نوقابی^۳ - اکرم آریان فر^۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۱۶

چکیده

حذف مطلوب ناخالصی‌ها و رنگبری مناسب شربت خام و رقیق در کارخانجات قند به‌عنوان فرآیندهای مهم و اساسی برای حصول به شکر با کیفیت ممتاز تلقی می‌شود. فرآیندهای دوستدار محیط‌زیست همچون فرآیندهای غشایی، پتانسیل جایگزینی کامل یا جزئی با برخی فرآیندهای قدیمی صنعت قند را داراست. اما با این حال گرفتگی غشاء و کاهش شار از چالش‌های پیش روی این فرآیند می‌باشد. یکی از روش‌های کاهش گرفتگی و بهبود شار حباب‌زایی در جریان ورودی غشاء به‌منظور ایجاد جریان متلاطم و در نتیجه کاهش پدیده‌ی پلاریزاسیون غلظت است. در این تحقیق از تزریق گاز نیتروژن به‌منظور حباب‌زایی در جریان ورودی شربت خام طی تصفیه آن با فرآیند فرآپالایش استفاده شد و کارایی غشاء مانند بهبود شار جریان تراوه، میزان گرفتگی غشاء، مقاومت غشاء و همچنین خصوصیات شربت تصفیه شده مورد بررسی قرار گرفت. طی فرآیند حباب‌زایی و با افزایش مقدار گاز نیتروژن از ۰/۵ تا ۱/۵ لیتر بر دقیقه شار جریان تراوه بهبود و در کل گرفتگی غشاء کاهش پیدا کرد. این کاهش در جریان مداوم گازدهی نسبت به روش منقطع مشهود بود. همچنین نتایج نشان داد که جریان مداوم گازدهی به سبب بهبود شار جریان تراوه تاحدودی در خصوصیات تصفیه مانند خلوص، رنگ و کدورت خلل ایجاد کرد.

واژه‌های کلیدی: پلاریزاسیون غلظت، حباب‌زایی، خلوص، شربت خام، فرآپالایش

مقدمه

قسمت‌های مختلف صنعت قند به صورت جایگزینی کامل یا به شکل ترکیبی مورد استفاده قرار گرفته است (Hakimzadeh et al., 2006; Noghabi et al., 2011; Harun & Zimmerman, 2018). علی‌رغم کسب نتایج مطلوب در کاهش انرژی، تصفیه ناخالصی‌ها و حذف ترکیبات رنگی به کمک فرآیند غشایی، مهمترین دغدغه و چالش پیش رو برای استفاده از این تکنولوژی پدیده‌ی گرفتگی^۴ غشاء و در نتیجه کاهش شار تراوه عنوان شده است (Zhang et al., 2021; Gul & Harasek, 2012). عمده‌ترین دلیل گرفتگی و کاهش شار در انواع غشاء، پدیده‌ی پلاریزاسیون غلظت^۵ است که به دلیل ایجاد گرادیان

حذف مطلوب ناخالصی‌ها و رنگبری از شربت خام و رقیق در کارخانجات قند به‌عنوان فرآیندهای مهم و اساسی برای حصول به شکر با کیفیت ممتاز تلقی می‌شود. فرآیندهای مرسوم مانند آهک زنی - کربناسیون، فیلترهای خلاء و دکانتور و استفاده از ترکیبات شیمیایی کمک صافی و رنگبر علاوه بر صرف انرژی بالا و آلودگی محیط‌زیست، مستلزم هزینه‌ی بالا و کنترل مصرف دقیق آن‌هاست (Hakimzadeh et al., 2017). از این رو پتانسیل فرآیندهای نوینی همچون فرآیندهای غشایی که دوستدار محیط‌زیست نیز می‌باشد، در

۱ و ۲ - به ترتیب دانشجوی مقطع دکتری و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران
(* - نویسنده مسئول: Email: v.hakimzadeh@yahoo.com)

۳ - دانشیار، گروه شیمی مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

که در آنها مؤثر بودن این روش در کاهش گرفتگی و بهبود شار جریان تراوه به اثبات رسیده است.

در این تحقیق از جریان حباب زایی طی تصفیه شربت خام چغندر با فراپالایش استفاده شد و در آن کارایی غشاء مانند بهبود شار جریان تراوه، میزان گرفتگی غشاء، مقاومت غشاء و همچنین خصوصیات شربت تصفیه شده با فرآیند شاهد (بدون حباب زایی) مقایسه گردید.

مواد و روش‌ها

پایلوت غشایی

در این تحقیق از یک پایلوت غشایی ساخت شرکت پیشتاز نانوفاور توس (ساخت ایران)، با مادل مسطح (قاب و صفحه)، سطح مؤثر ۴۰ سانتی‌متر مربع، حجم تانک خوراک یک لیتر و مجهز به مبدل حرارتی صفحه‌ای برای تثبیت دما در حدود دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد حین فرآیند استفاده شد. در این آزمایشات از غشاء اولترافیلتر از جنس پلی‌اتر سولفون (سپرو، آمریکا) با MWCO=۱۰KDa استفاده شد. فشار در عرض غشاء مورد نظر در این آزمایشات حدود ۳/۵ بار در نظر گرفته شد که از طریق میانگین فشار ورودی خوراک و فشار خروجی ناتراوه از غشاء محاسبه می‌شد. جریان تراوه و ناتراوه به تانک خوراک برگشت داده می‌شد تا شار پایداری ایجاد گردد. شربت خام چغندر مورد استفاده از شرکت قند شیروان تهیه گردید که در ابتدا یک مرحله پیش تصفیه را (به منظور حذف ذرات درشت سوسپانسیونی) با فرآیند ریزپالایش پشت سر گذاشت. خصوصیات شربت خام چغندر ریزپالایش شده (خوراک فرآیند فراپالایش) توسط غشاء مورد استفاده در جدول ۱ دیده می‌شود.

فرآیند حباب‌زایی

به‌منظور بررسی اثر حباب‌زایی بر میزان گرفتگی و کارایی غشاء حین فرآیند فراپالایش از گاز نیتروژن به‌طور مستقیم در مسیر خوراک ورودی و با استفاده از یک نازل با قطر منفذ حدود ۱۰۰ میکرون و مقادیر ۰/۵، ۱ و ۱/۵ لیتر بر دقیقه استفاده شد. فرآیند حباب‌زایی به دو صورت پیوسته و منقطع صورت گرفت. به این شکل که در حالت منقطع پس از هر ۳ دقیقه فیلتراسیون، به مدت یک دقیقه فرآیند فیلتراسیون با گازدهی صورت می‌گرفت.

آزمون‌های کارایی غشاء

اندازه‌گیری شار جریان تراوه

غلظت در ترکیبات خوراک و تراوه در سطح غشاء اتفاق می‌افتد (گرفتگی برگشت‌پذیر). به مرور با افزایش ضخامت لایه‌ی ایجاد شده در سطح غشاء، ترکیبات به داخل حفرات غشاء نیز رسوب می‌کنند که به‌عنوان گرفتگی برگشت‌ناپذیر تلقی می‌شود (Baker, 2004; Casani & Bagger, 2000). از روش‌های معمول برای رفع گرفتگی در غشاء می‌توان به شستشوی مستقیم^۱، شستشوی معکوس^۲، استفاده از شوینده‌های شیمیایی و یا آزمیمی اشاره کرد که هر کدام دارای معایبی از جمله تخریب زود هنگام غشاء، آلودگی‌های زیست‌محیطی، باقیماندن مواد شوینده در غشاء و محصول به‌ویژه در صنایع داروئی و غذایی و افزایش هزینه‌های تولید هستند (Maskooki et al., 2010; Shahraki et al., 2016). از طرفی تکنیک‌های به‌روزتری همچون استفاده از میدان پالس الکتریکی می‌تواند منجر به الکترولیز و تولید گاز و یا تغییر pH و خوردگی در مدول شود (Li et al., 2002). حکیم‌زاده و همکاران (Hakimzadeh et al., 2017) نیز از تکنیک فراپالایش ارتقاء یافته با مواد فعال سطحی (MEUF)^۳ برای بهبود شار تراوه غشاء فراپالایش برای تصفیه شکر خام نیشکر استفاده کردند که علی‌رغم حصول نتایج مناسب می‌توان به محدودیت‌هایی همچون استفاده از مواد فعال سطحی^۴ در آن روش اشاره کرد. بنابراین به‌نظر می‌رسد روش‌های فیزیکی همچون پیش‌فیلتراسیون خوراک ورودی، استفاده از جریان‌های مغشوش و پالسی برای جلوگیری از فشردگی بیش از حد لایه ژلی تشکیل شده بر سطح غشاء مؤثرتر و دارای معایب کمتری باشد. یکی از روش‌های تغییر نحوه‌ی جریان خوراک ورودی به سطح غشاء، حباب‌زایی^۵ است که سبب ایجاد اختلاط در جریان و افزایش تنش برشی مماسی^۶ می‌شود. در واقع نیروی هیدرودینامیکی که حباب ایجاد می‌کنند هم سبب نیروی کشش^۷ و هم نیروی بالابرد^۸ شده و منجر به حذف گرفتگی‌ها می‌شود (Eliseus & Bilad, 2017; Fouladitajar et al., 2013). طی تحقیقات متعدد انجام شده بر روی انواع غشاء، نصب سیستم‌های حباب‌زا می‌تواند نفوذپذیری غشاء را تا ۳۰-۲۰ درصد افزایش دهد (Jankhah & Berube, 2014). دو عامل مهم مؤثر بر کاهش گرفتگی غشاء طی فرآیند حباب‌زایی اندازه حباب و توزیع آن در مدول غشایی است (Radaei et al., 2018). مطالعات مختلفی همچون کاهش گرفتگی غشاءهای صفحه‌ای غوطه‌ور شده در معرض حباب‌زایی در بیوراکتورها (Ndimisa & Fane, 2006)، بهبود جریان تراوه در فراپالایش کنستانتره گیلاس (Shahraki et al., 2017) و بهبود گرفتگی غشاء گرفته شده با آب دریا توسط حباب زایی با نوسان سیال (Harun & Zimmerma, 2018) صورت گرفته

- 5- Bubbling
- 6- Tangential Shear Stress
- 7- Drag Force
- 8- Lift Force

- 1- Forward Flushing
- 2- Back Flushing
- 3- Micelle Enhanced Ultra Filtration
- 4- Surfactant

اندازه‌گیری مقاومت کلی غشاء

مقاومت هیدرواستاتیکی غشاء بر اساس قانون دارسی از رابطه ۲ محاسبه می‌شود:

$$R_H = R_m + R_f = \frac{\Delta P}{\mu J} \quad (۲)$$

برای این منظور از یک ترازوی دیجیتالی استفاده شد که از طریق آن وزن جریان تراوه در بازه‌ی زمانی یک دقیقه‌ای اندازه‌گیری و سپس با رابطه (۱) میزان شار تعیین گردید (Mirzaei & Mohammadi, 2012).

$$J = \frac{\text{Permeate Weight}_t - \text{Permeate Weight}_{t-1}}{\text{Surface membrane} \times \text{time intervals}} \quad (۱)$$

جدول ۱- خصوصیات شربت خام چغندر میکروفیلتر شده

Table 1- Properties of micro-filtrated raw beet juice

خصوصیات Properties	رنگ Color (ICUMSA)	کدورت Turbidity (IU)	خلوص Purity (%)
مقدار Value	3250	18.36	88

برای اندازه‌گیری رنگ جریان تراوه ابتدا pH آن به 7 ± 0.1 رسانده شد. بعد از آن محلول با کاغذ صافی (با اندازه منافذ 0.45 میکرومتر) صاف شد و جذب آن در طول موج 420 نانومتر اندازه‌گیری گردید. همچنین با محاسبه‌ی میزان مواد جامد فراکتومتری^۱ و رابطه‌ی تجربی^۵ دانسیته محلول نیز تعیین و نهایتاً رنگ شربت براساس واحد ایکومزا از طریق رابطه‌ی ۶ محاسبه گردید (Hakimzadeh et al., 2017):

$$\rho = (0.0055 \times RDS) + 0.9714 \quad (۵)$$

$$\text{Color} = \frac{10^5 \times A}{b \times RDS \times [(0.0055 \times RDS) + 0.9714]} \quad (۶)$$

که A میزان جذب نور محلول در طول موج 420 نانومتر، b طول سل، ρ دانسیته محلول و RDS درصد ماده جامد فراکتومتری یا همان بریکس شربت می‌باشد.

کدورت

کدورت جریان تراوه براساس واحد NTU مستقیماً با دستگاه کدورت‌سنج (Lotron®, Taiwan) اندازه‌گیری شد (Hakimzadeh et al., 2017).

تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق اثر سه مقدار از جریان گاز نیتروژن در دو حالت منقطع و مداوم حین فرابالایش شربت خام چغندر قند بر کارایی غشاء و خصوصیات شربت تصفیه شده در قالب طرح کاملاً تصادفی بررسی شد و با شرایط فیلتراسیون شاهد (بدون حباب‌زایی) مورد مقایسه قرار گرفت (جدول ۲). نتایج حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزارهای SAS

که در این رابطه R_m مقاومت غشاء و R_f مقاومت کیک و مقاومت گرفتگی (مقاومت برگشت‌پذیر و برگشت ناپذیر)، ΔP فشار در عرض غشاء، μ ویسکوزیته‌ی پرمیت و J شار جریان تراوه می‌باشد. مقاومت غشاء (R_m) مربوط به میزان شار آب دیونیزه طی فرآیند با غشاء جدید قبل از فرآیند و مقاومت گرفتگی مربوط به اختلاف گرفتگی قبل و بعد از پاک کردن لایه کیک از روی غشاء می‌باشد (Shahraki et al., 2017; Ceron et al., 2012).

اندازه‌گیری میزان گرفتگی غشاء

میزان گرفتگی غشاء با محاسبه شار آب خالص قبل (J_{wp}) و بعد (J_p) از فرآیند در دما و فشار یکسان و از طریق رابطه ۳ محاسبه می‌شود (Shaharki et al., 2016).

$$\text{Fouling Percentage} = (1 - \frac{J_{wp}}{J_p}) \times 100 \quad (۳)$$

آزمون‌های کیفیت شربت تصفیه شده

خلوص

خلوص جریان تراوه با توجه به میزان قند موجود در جریان تراوه (pol) نسبت به کل مواد جامد (Brix) جریان تراوه که با دستگاه ساکاریمتر (مدل NIR W2، آلمان) بدست آمد از رابطه ۴ اندازه‌گیری گردید (Shahidi & Razavi, 2014).

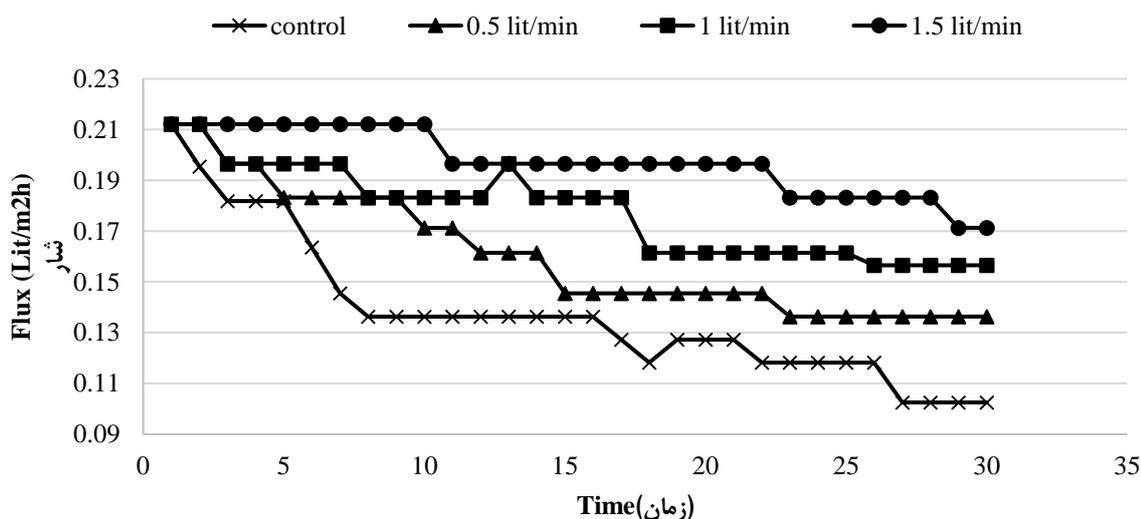
$$\text{Purity}(\%) = (\frac{\text{Pol}}{\text{Brix}}) \times 100 \quad (۴)$$

رنگ

نسخه ۹.۱) و Microsoft Office Excel نسخه ۲۰۱۹ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. میانگین داده‌های هر آزمون در سه تکرار با آزمون حداقل اختلاف معنی‌داری (LSD) در سطح ۹۵ درصد انجام مقایسه شد.

جدول ۲- متغیرهای به کاررفته در طرح کاملاً تصادفی
Table 2- The variables used in the completely randomized design

تیمارها Treatments	متغیرها Variables	
	مقدار گاز ورودی The amount of incoming gas (Lit/min)	نحوه‌ی اعمال Type of Process Application
	T1 (تیمار ۱)	0.5
T2 (تیمار ۲)	1	Interrupted (منقطع)
T3 (تیمار ۳)	1.5	Continues (مداوم)
T4 (تیمار ۴)	0.5	Interrupted (منقطع)
T5 (تیمار ۵)	1	Continues (مداوم)
T6 (تیمار ۶)	1.5	Interrupted (مداوم)
Control (شاهد)	Without application (بدون کاربرد)	Without application (بدون کاربرد)



شکل ۱- شار جریان تراوه در مقادیر مختلف گاز نیتروژن طی حباب زایی در حالت پیوسته
Fig. 1. Permeation flux in different amounts of nitrogen gas during bubbling in continuous mode

دقیقه از سایر تیمارها کمتر بوده و شرایط پایدارتری در شار جریان تراوه طی زمان فرآیند دیده شد.

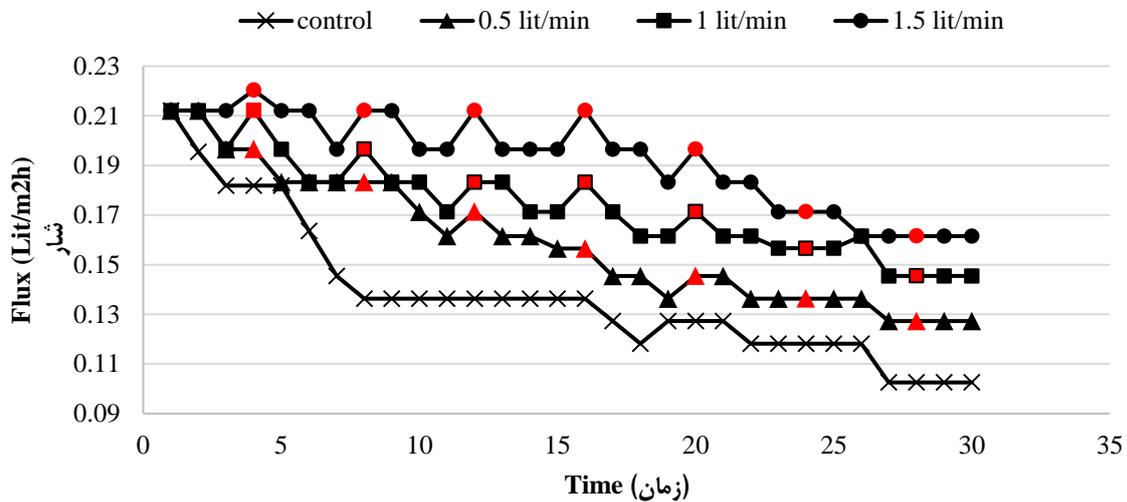
نتایج میزان شار در حالت حباب‌زایی به شکل منقطع نشان داد (شکل ۲) که پس از اعمال حباب‌زایی با وجود اینکه مقدار شار افزایش می‌یافت اما پس از آن و طی فرآیند فرآپالایش مجدداً شار کاهش پیدا می‌کرد و در آن حد ثابت نمی‌ماند. به عبارت دیگر اعمال مقطعی حباب زایی نتوانست به‌طور پایداری شار را افزایش دهد. همچنین نتایج نشان

نتایج و بحث کارایی غشاء

همانطور که در شکل ۱ دیده می‌شود، افزایش میزان گاز طی فرآیند حباب‌زایی سبب بهبود شار جریان تراوه شد. همچنین نتایج نشان داد که روند کاهش میزان شار تراوه در میزان گازدهی ۱/۵ لیتر بر

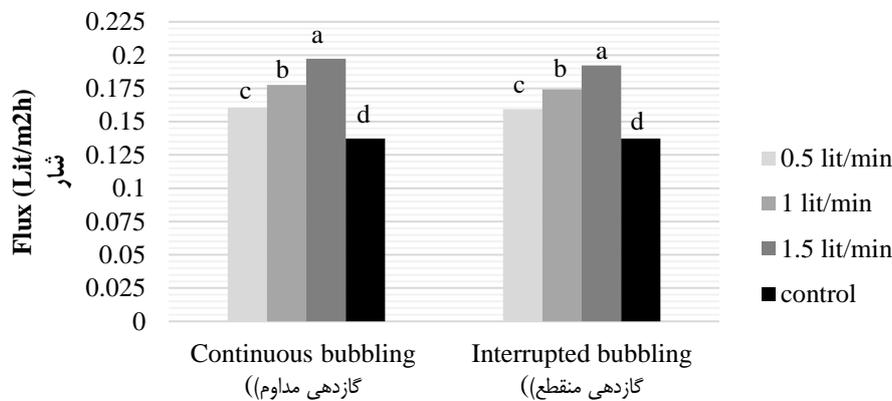
اما در کل با وجود بالاتر بودن میانگین شار در فرآیند مداوم نسبت به حالت منقطع تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها وجود نداشت (شکل ۳).

داد هر چه به انتهای فرآیند نزدیک می‌شدیم، اعمال مقطعی حباب‌زایی نمی‌توانست شار را افزایش دهد. احتمالاً در انتهای فرآیند به دلیل فشرده شدن لایه زلی، اعمال گازدهی در بهبود شار مؤثر نبوده است.



شکل ۲- شار جریان تراوه در مقادیر مختلف گاز نیتروژن طی حباب‌زایی در حالت منقطع (نقاط قرمز بیانگر زمان اعمال گازدهی می‌باشد)

Fig. 2. Permeation flux in different amounts of nitrogen gas during bubbling in the interrupted state



شکل ۳- مقایسه میانگین شار جریان تراوه در مقادیر مختلف گاز نیتروژن طی حباب‌زایی در حالت منقطع و مداوم

Fig. 3. Comparison of the average permeate flux in different amounts of nitrogen gas during bubbling in interrupted and continuous mode

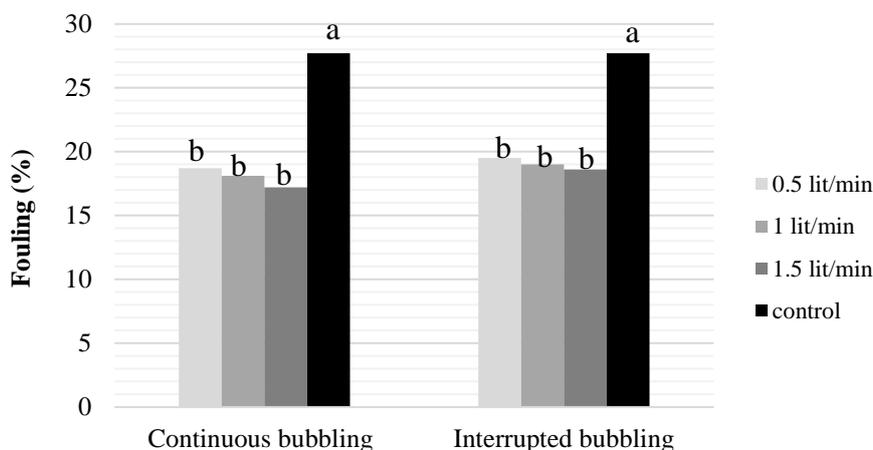
کاهش یافت که این مقدار کاهش در حالت مداوم نسبت به حالت منقطع کمی بیشتر بود (شکل ۴).

هرگونه اختلال در تشکیل لایه مرزی در نزدیک سطح غشاء می‌تواند منجر به بهبود شار در فرآیند غشایی شود. یکی از این موارد افزایش سرعت جریان عرضی غشاء و متعاقب آن ایجاد جریان آشفته

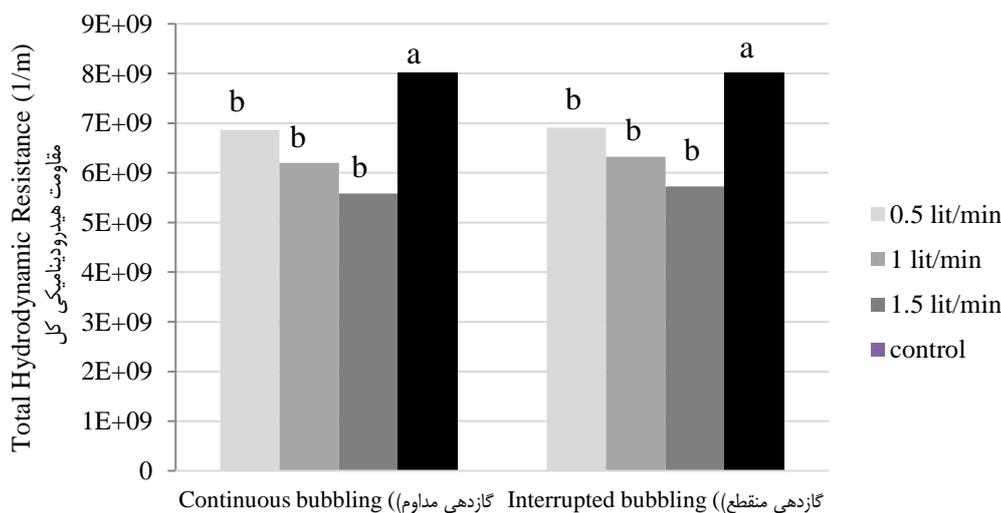
نتایج مربوط به میزان گرفتگی غشاء بعد از اعمال فرآیند نشان داد که با اعمال حباب‌زایی به هر دو روش مداوم و منقطع، گرفتگی به‌طور معنی‌داری نسبت به حالت معمول فرابالایش کاهش پیدا کرد. همچنین هرچه میزان گاز ورودی به جریان خوراک بیشتر شد گرفتگی غشاء نیز

کاهش شار می‌شود (Qaisrani & Samhaber, 2011). هارون و زیرمن (Harun & Zimmerman, 2019) حذف لایه‌ی تشکیل شده بر سطح غشاء طی فرآیند حباب‌زایی را آزاد شدن انرژی محبوس در حباب‌ها طی ترکیب‌شان در سطح غشاء عنوان کردند. قدیمخانی و همکاران (Ghadimkhani et al., 2016) نیز بیان داشتند که رادیکال های آزاد OH که در اثر ترکیب حباب‌های ریز و پرانرژی ایجاد می‌شود می‌تواند با ترکیبات آلی در غشاء گرفته پیوند برقرار سازد و سبب شکستن ساختار آن‌ها گردد.

است که با افزایش میزان گازدهی بیشتر می‌شود. از طرفی ایجاد جریان مغشوش طی حباب‌زایی سبب کاهش پدیده‌ی پلاریزاسیون غلظت می‌شود. تنش سطحی ایجاد شده در اثر حباب‌زایی در جدا شدن رسوبات از سطح غشاء بسیار مفید ظاهر می‌شوند (Shahraki et al., 2016; Li et al., 2014). وقتی سرعت جریان گازدهی افزایش پیدا می‌کند اندازه حباب‌ها افزایش می‌یابد. حباب‌های بزرگ‌تر در جریان خوراک موجب ایجاد اغتشاش بیشتر شده و شار افزایش می‌یابد. اگر چه حباب های بسیار بزرگ نیز می‌تواند به‌عنوان یک بالشتک بر روی منافذ غشاء قرار بگیرد و مانع رسیدن محلول به سطح غشاء شوند که خود سبب



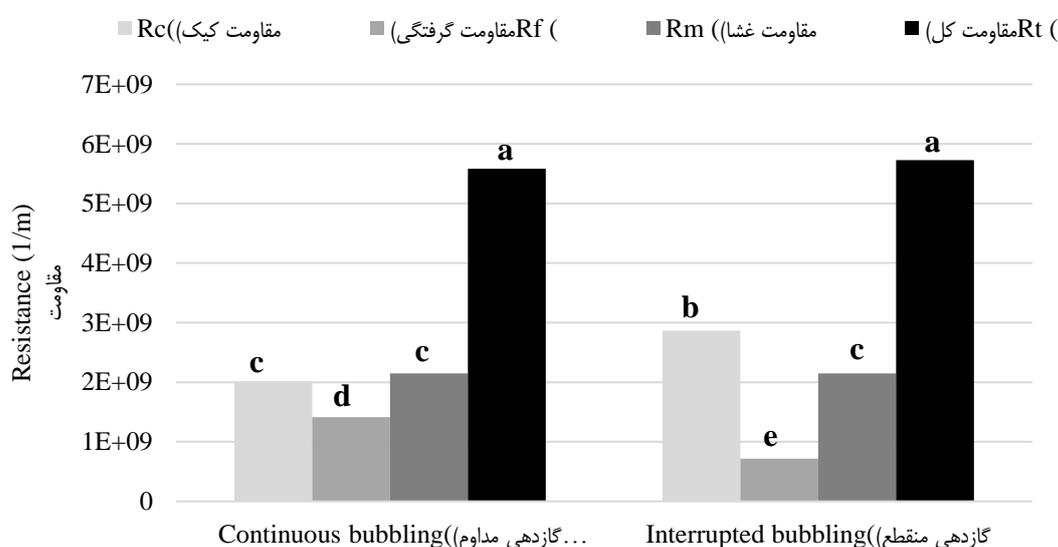
شکل ۴- مقایسه میزان گرفتگی غشاء پس از فرآیند فراپالایش همراه با مقادیر مختلف گازدهی با حالت بدون گازدهی
 Fig. 4. Comparison of the amount of membrane fouling after the ultrafiltration process with different amounts of gassing with no gassing



شکل ۵- مقایسه میزان هیدرودینامیکی کل غشاء طی فرآیند فراپالایش همراه با مقادیر مختلف گازدهی در دو حالت گازدهی مداوم و منقطع
 Fig. 5. Comparison of the hydrodynamic resistance of the entire membrane during the ultrafiltration process with different amounts of gassing in two continuous and interrupted gassing modes

با بررسی میزان مقاومت لایه کیک و گرفتگی مطابق شکل ۶ می‌توان نتیجه گرفت که در حالت منقطع گسترش لایه کیک بیشتر بوده است اما در حالت مداوم به دلیل ادامه‌دار بودن فرآیند گازدهی که سبب عدم اجازه‌ی تشکیل لایه کیک بر روی سطح غشاء بوده است، گرفتگی بیشتر مربوط به قرار گرفتن ذرات داخل حفرات غشاء بوده است. در واقع در حالت گازدهی منقطع چون فرصت تشکیل لایه کیک داده شده است، این لایه همانند یک غشاء ثانویه عمل کرده و اجازه رسوب ذرات ریزتر بر سطح داخلی حفرات را نداده است.

مقاومت کلی هیدرودینامیکی غشاء در حالت‌های مختلف فیلتراسیون نشان داد (شکل ۵) که اختلاف بین مقاومت کلی غشاء در حالت فرآپالایش به تنهایی با فرآیند فرآپالایش همراه با حباب‌زایی کاملاً معنی‌دار است. همچنین با افزایش میزان گاز طی حباب‌زایی به سبب بهبود کارایی غشاء و افزایش شار طبق رابطه‌ی داری میزان مقاومت کلی هیدرودینامیکی نیز کم می‌شود. با این حال هرچند میزان مقاومت کلی غشاء در حالت گازدهی منقطع از حالت مداوم آن به دلیل گرفتگی بیشتر، بالاتر است اما اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها وجود ندارد ($P < 0.05$).



شکل ۶- مقایسه میزان مقاومت گرفتگی، غشاء و لایه کیک در دو حالت گازدهی مداوم و منقطع

Fig. 6. Comparison of fouling resistance, membrane and cake layer in two continuous and interrupted gassing modes

(Briao *et al.*, 2017). از طرفی با بهبود میزان شار تراوه ضریب نفوذ در غشاء افزایش یافته و دفع مواد غیرساکارزی افزایش می‌یابد (Hakimzadeh *et al.*, 2017). نتایج مربوط به درجه‌ی خلوص طی فرآیند فرآپالایش به همراه فرآیند حباب‌زایی منقطع نیز نشان داد که در مقایسه با حباب‌زایی مداوم تفاوت معنی‌داری نداشته و در بیشترین مقدار گازدهی یعنی ۱/۵ لیتر بر دقیقه خلوص به ۸۹/۳ رسید (جدول ۳). در حالت حباب‌دهی منقطع اگر چه وقفه‌ای کوتاه در فرآیند گازدهی سبب گسترش کمی بیشتر در تشکیل لایه پلاریزاسیون و کاهش شار شد اما در میزان خلوص شربت تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد. احتمالاً وقفه‌ی یک دقیقه‌ای در گازدهی آنقدر در تشکیل لایه ژلی که بتواند همانند غشاء عمل کند مؤثر نبوده است.

خصوصیات تصفیه شربت خام

خصوصیات شربت تصفیه شده یا همان جریان تراوه حاصل از فرآیند فرآپالایش پس از ۳۰ دقیقه فرآیند مورد بررسی قرار گرفت. طی فرآیند فرآپالایش خلوص شربت نسبت به خوراک ورودی که همان شربت خام ریزپالیده بود حدود ۱/۹ درصد افزایش پیدا کرد و به حدود ۸۹/۹ درصد رسید. بهبود خلوص شربت وقتی در فرآیند فرآپالایش به همراه حباب‌زایی مداوم بررسی شد نشان داد که با افزایش میزان گازدهی خلوص شربت کمتر بوده بطوری‌که در بیشترین مقدار گاز طی حباب‌زایی به حدود ۸۹/۲ رسید که این امر به دلیل سرعت پایین تشکیل لایه ژلی بر روی سطح غشاء بر اثر فرآیند حباب‌زایی است. تشکیل لایه ژلی یا پلاریزاسیون غلظت می‌تواند به‌عنوان یک غشاء ثانویه عمل کند و درصد دفع ترکیبات درشت و نامحلول را افزایش دهد

شربت خام میکروفیلتر شده، همراه شدن فرآیند حباب‌زایی با فرآیلایش در بیشترین مقدار گاز ورودی، به سبب کاهش تشکیل لایه ژلی و کمی بهبود در میزان شار، حذف کدورت را به ترتیب در حالت مداوم و منقطع به $10/2$ و $8/7$ واحد رساند. همچنین حکیم زاده و همکاران (Hakimzadeh *et al.*, 2017) نیز طی تصفیه شکرخام به روش فرآیلایش بهبود یافته با مواد فعال سطحی، افزایش کدورت را ناشی از افزایش شار جریان تراوه به دلیل افزایش فشار یا دما طی فرآیند دانستند.

کدورت یکی از فاکتورهای مهم در تعیین ویژگی‌های تصفیه شربت در کارخانجات قند است. معمولاً افزایش کدورت سبب کاهش کریستالیسیزاسیون می‌شود. عمده کدورت ناشی از ترکیباتی با سایز کمتر از ۱ میکرومتر است که بیشتر از اگزالات، کلسیم باقی مانده از فرآیند تصفیه، مخمرها و پکتین ناشی می‌شود (Abdel-Rahman & Feloeter, 2016; Kuljanin *et al.*, 2018). با توجه به سایز ذرات ایجاد کننده کدورت تشکیل لایه ژلی در سطح غشاء در حذف آن از شربت بسیار موثر است. بنابراین همان‌طور که نتایج بدست آمده نیز نشان داد با وجود کاهش کدورت از $18/36$ واحد به $9/5$ طی فرآیلایش

جدول ۳- مقایسه خصوصیات شربت تصفیه شده به روش فرآیلایش و گازدهی-فرآیلایش با شربت اولیه و شربت تصفیه شده به روش مرسوم آهک زنی - کربناتاسیون

Table 3- Comparison of the properties of syrup filtered by ultrafiltration and gassing-ultrafiltration method with primary syrup and syrup filtered by conventional liming-carbonation method

نوع تیمار/شربت Treatments/Juice	خصوصیات تصفیه Refining Properties		
	کدورت	رنگ (ایکومزا)	خلوص (%)
	Turbidity (IU)	Color (ICUMSA)	Purity (%)
شربت خام ورودی (میکروفیلتر شده) Feed	18.36	3250	88
تراوه‌ی فرآیلایش بدون اعمال حباب‌زایی Permeate of UF without bubbling	9.5	1458	89.9
تراوه‌ی فرآیلایش با گازدهی مداوم Permeate of UF (continues mode)	10.2	1495	89.2
تراوه‌ی فرآیلایش با گازدهی منقطع permeate of UF (interrupted mode)	8.7	1471	89.3
شربت تصفیه شده به روش مرسوم Refined Juice in Traditional Mode	12.6	2120	90.3

که مربوط به ممانعت از ایجاد لایه ژلی مستحکم بر اثر تلاطم و ایجاد جریان مغشوش جریان خوراک بر سطح غشاء می‌باشد.

نتیجه‌گیری

هدف از این تحقیق بررسی تأثیر حباب‌زایی جریان خوراک ورودی بر کارایی غشاء فرآیلایش طی تصفیه شربت خام چغندر قند بود. طی فرآیند حباب‌زایی و با افزایش مقدار گاز نیتروژن از $0/5$ تا $1/5$ لیتر بر دقیقه به سبب ایجاد جریان متلاطم در جریان خوراک شار جریان تراوه بهبود و در کل گرفتگی غشاء کاهش پیدا کرد که یکی از دغدغه‌های مهم در بکارگیری این فرآیند نوین در صنعت قند است. از آنجایی که تغییرات شار و میزان تشکیل لایه ژلی بر خصوصیات شربت تصفیه شده تأثیرگذار است خصوصیات تصفیه شربت نیز در بهترین شار تراوه ی ایجاد شده در دو حالت مداوم و منقطع مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که جریان مداوم گازدهی به سبب بهبود شار جریان تراوه کمی در خصوصیات تصفیه مانند خلوص، رنگ و کدورت خلل

عمده‌ترین ترکیبات رنگی موجود در شربت خام چغندر ملانین‌ها هستند که محصول واکنش‌های قهوه‌ای شدن آنزیمی طی خلال کردن چغندر بوده و وزن ملکولی آن‌ها در حدود ۲ تا ۵ کیلودالتن است. این ترکیبات در آب نامحلول هستند. کاتکول آمین‌ها نیز از ترکیبات پیش‌ساز مهم رنگ در شربت خام چغندر هستند. بیشتر این ترکیبات بوسیله جذب سطحی از شربت جداسازی می‌شوند (Bahrami & Honarvar, 2017). با توجه به وزن ملکولی این ترکیبات و اندازه حفرات غشاء به کار رفته کاملاً بدیهی است که امکان جذب و جداسازی این ترکیبات به‌طور کامل در فرآیند فرآیلایش وجود ندارد و تنها گسترش لایه ژلی و پلاریزاسیون قطبی می‌تواند در حذف و جذب آن بین سایر ترکیبات رسوب کرده بر سطح غشاء مؤثر باشد. همان‌طور که در نتایج موجود در جدول ۳ نیز می‌توان به وضوح مشاهده کرد فرآیند فرآیلایش در پایان ۳۰ دقیقه فرآیند رنگ را به 432 واحد ایکومزا کاهش داد اما فرآیند فرآیلایش توام با گازدهی و حباب‌زایی نرخ کاهش رنگ کمتری را در شربت خام ورودی به فرآیند ایجاد نمود

ایجاد نمود که البته باتوجه به بهبود شار جریان تراوه می‌تواند در صنعت قند قابل چشم‌پوشی باشد. بنابراین به‌طور کلی می‌توان گفت روش منقطع به دلیل مصرف کمتر گاز طی حباب‌دهی و نداشتن اختلاف معنی‌داری در میزان شار نسبت به حالت مداوم می‌تواند به‌عنوان حالت پهنه‌ی گازدهی طی آزمایشات صورت گرفته در این تحقیق، مدنظر قرار گیرد.

References

1. Abdel-Rahman, E.S., & Floeter, E. (2016). Physico-chemical characterization of turbidity-causing particles in beet sugar solutions. *International Journal of Food Engineering*, 12(2), 127-137. <https://doi.org/10.1515/ijfe-2015-0129>
2. Bahrami, M.E., & Honarvar, M. (2017). Identification of colored components produced in sugar beet processing using gel-permeation chromatography (GPC) with UV and RI detection. *Journal of Food Biosciences and Technology*, 7(2), 19-26.
3. Baker, R.W. (2004). *Membrane Technology and Applications*. 2ndEd. Book. 545pp. Membrane Technology Research. Inc. John Wiley & Sons, Ltd.
4. Brião, V.B., Seguenka, B., Zanon, C.D., & Milani, A. (2017). Cake formation and the decreased performance of whey ultrafiltration. *Acta Scientiarum. Technology*, 39, 517-524. <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v39i5.27585>
5. Casani, S.D., & Bagger-Jørgensen, R. (2000). Cross-flow filtration of Fruit Juice. *Danish Environmental Protection Agency*.
6. Cerón-Vivas, A., Morgan-Sagastume, J.M., & Noyola, A. (2012). Intermittent filtration and gas bubbling for fouling reduction in anaerobic membrane bioreactors. *Journal of Membrane Science*, 423, 136-142. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2012.08.008>
7. Eliseus, A., & Bilad, M.R. (2017). Improving membrane fouling control by maximizing the impact of air bubbles shear in a submerged plate-and-frame membrane module. *In AIP Conference Proceedings*, (1891)1, 020039. <http://doi.org/10.1063/1.5005372>
8. Fouladitajar, A., Ashtiani, F.Z., Rezaei, H., Haghmoradi, A., & Kargari, A. (2014). Gas sparging to enhance permeate flux and reduce fouling resistances in cross flow microfiltration. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 20(2), 624-632. <http://doi.org/10.1016/j.jiec.2013.05.025>
9. Ghadimkhani, A., Zhang, W., & Marhaba, T. (2016). Ceramic membrane defouling (cleaning) by air Nano Bubbles. *Chemosphere*, 146, 379-384. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.12.023>
10. Gul, S., & Harasek, M. (2012). Energy saving in sugar manufacturing through the integration of environmental friendly new membrane processes for thin juice pre-concentration. *Applied Thermal Engineering*, 43, 128-133. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2011.12.024>
11. Hakimzadeh, V., Mousavi, S.M., Elahi, M., & Razavi, S.M.A. (2017). Purification of raw cane sugar by micellar-enhanced ultrafiltration process using linear alkylbenzene sulphonate. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(3), e12953. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12953>
12. Hakimzadeh, V., Razavi, S.M., Piroozifard, M.K., & Shahidi, M. (2006). The potential of microfiltration and ultrafiltration process in purification of raw sugar beet juice. *Desalination*, 200(1-3), 520-522. <http://doi.org/10.1016/j.desal.2006.03.420>
13. Harun, M.H.C., & Zimmerman, W.B. (2019). Membrane defouling using microbubbles generated by fluidic oscillation. *Water Supply*, 19(1), 97-106. <http://doi.org/10.2166/ws.2018.056>
14. Jankhah, S., & Bérubé, P.R. (2014). Pulse bubble sparging for fouling control. *Separation and Purification Technology*, 134, 58-65. <http://doi.org/10.1016/j.seppur.2014.07.023>
15. Kuljanin, T., Lončar, B., Filipović, V., Nićetin, M., & Knežević, V. (2018). Pectin separation from sugar beet juice as affected by the pH, amount of Al₂(SO₄)₃ and use of zeta potential/residual turbidity measurement. *Journal on Processing and Energy in Agriculture*, 22(2), 65-68. <http://doi.org/10.5937/JPEA1802065K>
16. Li, J., Sanderson, R.D., & Jacobs, E.P. (2002). Ultrasonic cleaning of nylon microfiltration membranes fouled by Kraft paper mill effluent. *Journal of Membrane Science*, 205(1-2), 247-257. [http://doi.org/10.1016/S0376-7388\(02\)00121-7](http://doi.org/10.1016/S0376-7388(02)00121-7)

17. Li, L., Wray, H.E., Andrews, R.C., & Bérubé, P.R. (2014). Ultrafiltration fouling: Impact of backwash frequency and air sparging. *Separation Science and Technology*, 49(18), 2814-2823 <https://doi.org/10.1080/01496395.2014.948964>
18. Maskooki, A., Mortazavi, S.A., & Maskooki, A. (2010). Cleaning of spiralwound ultrafiltration membranes using ultrasound and alkaline solution of EDTA. *Desalination*, 264(1-2), 63-69. <http://doi.org/10.1016/j.desal.2010.07.005>
19. Mirzaie, A., & Mohammadi, T. (2012). Effect of ultrasonic waves on flux enhancement in microfiltration of milk. *Journal of Food Engineering*, 108(1), 77-86. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.07.026>
20. Ndinisa, N.V., Fane, A.G., Wiley, D.E., & Fletcher, D.F. (2006). Fouling control in a submerged flat sheet membrane system: Part II—Two-phase flow characterization and CFD simulations. *Separation Science and Technology*, 41(7), 1411-1445. <https://doi.org/10.1080/01496390600633915>
21. Noghabi, M.S., Razavi, S.M.A., Mousavi, S.M., Elahi, M., & Niazmand, R. (2011). Effect of operating parameters on performance of nanofiltration of sugar beet press water. *Procedia Food Science*, 1, 160-164. <http://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.025>
22. Qaisrani, T.M., & Samhaber, W.M. (2011). Impact of gas bubbling and backflushing on fouling control and membrane cleaning. *Desalination*, 266(1-3), 154-161. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2010.08.019>
23. Radaei, E., Liu, X., Tng, K.H., Wang, Y., Trujillo, F.J., & Leslie, G. (2018). Insights on pulsed bubble control of membrane fouling: Effect of bubble size and frequency. *Journal of Membrane Science*, 554, 59-70. <http://dx.doi.org/10.1016/j.memsci.2018.02.058>
24. Shahidi Noghabi, M., Razavi, S. M. A., & Shahidi Noghabi, M. (2014). Modeling of milk ultrafiltration permeate flux under various operating conditions and physicochemical properties using Nero-Fuzzy method. *Research and Innovation in Food Science and Technology*, 3(3), 283-296.
25. Shahraki, M.H., Maskooki, A., & Faezian, A. (2017). Ultrafiltration of cherry concentrate under ultrasound with carbonated feed as a new fouling control method. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(2), e12795. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12795>
26. Shahraki, M.H., Maskooki, A., Faezian, A., & Rafe, A. (2016). Flux improvement of ultrafiltration membranes using ultrasound and gas bubbling. *Desalination and Water Treatment*, 57(51), 24278-24287. <http://doi.org/10.1080/19443994.2016.1141377>
27. Zhang, H., Luo, J., Liu, L., Chen, X., & Wan, Y. (2021). Green production of sugar by membrane technology: How far is it from industrialization? *Green Chemical Engineering*, 2(1), 27-43. <https://doi.org/10.1016/j.gce.2020.11.006>



Evaluation of Chemical and Sensory Properties of Low-fat German Sausages Produced by Maltodextrin

M. Khosravani¹, S.M. Nazari^{2*}, GH. Asadi³

1 and 3- M.S in Food Science and Technology and Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Science and Research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, respectively.

2- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Science, Hamadan Branch, Islamic Azad University, Hamadan, Iran

(*- Corresponding Author Email: seyyedmoeinnzr525@gmail.com)

Received: 12.07.2022
Revised: 02.07.2023
Accepted: 04.07.2023
Available Online: 04.07.2023

How to cite this article:

Khosravani, M., Nazari, S.M., & Asadi, GH. (2024). Evaluation of chemical and sensory properties of low-fat German sausages produced by maltodextrin. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 20(1), 75-83. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.76773.1172>

Introduction

In recent years, increasing consumer awareness of the dangers of consuming high-fat products, sensitivity to proper nutritional patterns and the impact of health factors has increased consumer demand for low-fat or free-fat foods. Scientific researchers have provided a great quantity of evidence between the consumption of high-fat products and the development of diseases such as obesity, hardening of the arteries, chronic hypertension, etc. Fat removal is not an easy task because fat, in addition to nutritional aspects, affect rheological and sensory properties such as mouth feel and texture properties of the final product. Using alternative materials that can be completely or partially replaced fat in the formulation of low-fat products by imitating the properties of fat is great important. Unlike fat, which its high consumption causes many problems; fiber can play a vital role in many of the nutritional, functional, and sensory properties of food products, Some types of fiber act as fat substitutes, while producing less energy, provide a large effect of fat function properties. Increasing consumption of easy-cook meat products such as sausages induced replacement the fat content in the formulation of these products, by fat substitutes such as maltodextrin. The aim of this study was to evaluate the chemical and sensory properties of low fat German sausages produced by maltodextrin.

Materials and Methods

In this study, 0, 6, 12, and 18% of fat was replaced by maltodextrin in the formulation of German sausage. The chemical and sensory properties were then investigated. Chemical properties including moisture, protein, ash, and fat were accomplished according to the ISIRI standard. Evaluation of sensory properties was done by 5-point hedonic method according to Click *et al.* (2006). Data analysis was performed using SPSS software in a completely randomized design with a 95% confidence level.

Results and Discussion

The results showed that with increasing the level of maltodextrin, the amount of moisture, ash, and starch of sausage samples increased significantly. As the concentration of maltodextrin increased, the protein content of the samples decreased. The highest protein content observed in the control sample and the sample contained 6% maltodextrin and in contrary, the lowest protein content was in the sample containing 18% maltodextrin and there was no statistically significant difference between the test samples ($p>0.05$). Changes in maltodextrin concentrations had a significant effect on the fat content of sausage samples so that with increasing the concentration of maltodextrin in the sausage formulation, the fat content of the samples decreased ($p\leq 0.05$). Also, with increasing the percentage of maltodextrin replacement in German sausage samples, the cooking yield decreased significantly ($p\leq 0.05$). In the evaluation of sensory properties, it



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.76773.1172>

was found that the use of maltodextrin reduced the score in all parameters studied so that the lowest score in terms of color, texture, flavor, and total acceptance of sausage samples was related to sample with 18% maltodextrin replacement.

Conclusion

The vital role of the effect of dietary fiber on improving and managing the health has been proven by researchers for many years. Due to the need to reduce fat in products such as sausages, which considered as a popular meat product and based on the results observed in the present study, it is recommended to use maltodextrin fiber at the level of 6% as a fat substitute in the formulation of German sausages.

Keywords: Fat replacer, Low fat, Maltodextrin, Sausage



مقاله کوتاه پژوهشی

جلد ۲۰، شماره ۱، فروردین-اردیبهشت ۱۴۰۳، ص. ۸۳-۷۵

ارزیابی خواص شیمیایی و حسی سوسیس آلمانی کم چرب تولید شده توسط مالتودکسترین

مریم خسروانی^۱ - سید معین نظری^{۲*} - غلامحسین اسدی^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۱۳

چکیده

استفاده از جایگزین‌های چربی در محصولات غذایی، از جمله فرآورده‌های گوشتی، رشد روز افزونی دارد، لذا مالتودکسترین برای کاهش میزان چربی در فرمولاسیون سوسیس آلمانی در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور از سطوح ۰، ۶، ۱۲ و ۱۸ درصد جایگزینی مالتودکسترین با چربی در فرمولاسیون سوسیس آلمانی استفاده شد و خواص شیمیایی و خواص حسی آن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش سطح جایگزینی مالتودکسترین با چربی، میزان رطوبت، خاکستر و نشاسته نمونه‌های سوسیس، افزایش معنی‌دار یافت ($p < 0.05$). تغییر قابل توجهی در میزان پروتئین مشاهده نشد و میزان چربی نمونه‌های سوسیس با افزایش درصد جایگزینی، کاهش معنی‌دار داشت ($p < 0.05$). در بررسی خواص حسی مشاهده شد که کمترین امتیاز پذیرش کل را تیمارهای حاوی ۱۲ و ۱۸ درصد مالتودکسترین داشتند؛ لذا با توجه به نتایج به‌دست آمده، استفاده از مالتودکسترین به‌عنوان جایگزین چربی در نمونه‌های سوسیس در سطح ۶٪ پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: جایگزین چربی، سوسیس، کم چرب، مالتودکسترین

مقدمه

سوسیس‌ها، به‌عنوان فرآورده‌های گوشتی بسیار رایج، از گوشت تعدیل‌یافته کم‌ارزش تولید می‌شوند. افزودنی‌های غذایی برای تکمیل عملکردهای خاص مثل رنگ دادن، ضد میکروبی بودن، ضد اکسایش بودن، حفظ مواد مغذی، بهبود دهنده امولسیون و تغییر طعم استفاده می‌شوند (Neville et al., 2017). مطالعات اپیدمیولوژی نشان داده است که میان نوع رژیم غذایی و خطر بروز برخی بیماری‌ها نظیر چاقی و بیماری‌های قلبی و عروقی رابطه مستقیم وجود دارد. از این رو نگرانی‌های روزافزون پیرامون خطرات بالقوه مرتبط با مصرف غذاهایی با چربی زیاد سبب شده است تا صنعت غذا به توسعه فرمولاسیون‌های جدید و اصلاح محصولات غذایی سنتی به فرآورده‌هایی با محتوی

چربی کمتر روی آورد (Alesón-Carbonell et al., 2005). با توجه به این که چربی فواید حسی و فیزیکی متعددی دارد و در طعم، احساس دهانی و بافت فرآورده مؤثر است، کاهش آن موجب کاهش کیفیت فرآورده کم‌چرب در مقایسه با فرآورده اولیه می‌گردد (de Souza Paglarini et al., 2020)، اما می‌توان با انتخاب جایگزین‌های چربی^۴ مناسب در مقادیر معین، فرآورده‌ای با ارزش تغذیه‌ای بالا و بافت و طعم مناسب همانند فرآورده^۵ با چربی کامل تولید نمود. جایگزین‌های چربی بسیار متنوع هستند و شامل جایگزین‌های بر پایه پروتئین، چربی و کربوهیدرات می‌باشند (Lima et al., 2021).

۱ و ۳- به‌ترتیب کارشناس ارشد علوم و صنایع غذایی و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران
(*- نویسنده مسئول: seyyedmoeinnzr525@gmail.com)

برای تولید سوسیس‌ها، باتوجه به اینکه در بیشتر تحقیقات از محلول‌های ۱۵ تا ۵۰٪ مالتودکسترین استفاده شده است (Hadnadev *et al.*, 2011; Udomrati *et al.*, 2011; Nazari *et al.*, 2019)، ابتدا محلول ۲۵٪ آبی مالتودکسترین تهیه شد. بدین ترتیب ۳ قسمت آب و ۱ قسمت مالتودکسترین با هم مخلوط و همگن شدند. نمونه‌های سوسیس مطابق فرمولاسیون استاندارد (از نظر میزان گوشت، یخ و تنوع ادویه‌ها) مورد استفاده در کارخانه فرآورده‌های گوشتی گلچین مطابق جدول ۱، تهیه شدند. همه نمونه‌ها با استفاده از سطوح مختلف مالتودکسترین در جایگزینی با چربی تهیه شدند. نمونه‌های آزمون به صورت ۶ درصد، ۱۲ درصد و ۱۸ درصد جایگزینی مالتودکسترین با چربی شدند و به‌اندازه کاهش وزنی چربی در هر تیمار، محلول ۲۵٪ درصد آبی مالتودکسترین جایگزین شد.

آزمون‌های شیمیایی

میزان رطوبت به روش خشک‌کردن و با استناد به AOAC (۱۹۹۱) انجام شد. برای اندازه‌گیری میزان پروتئین، از دستگاه ماکروکلدال استفاده شد، پس از محاسبه میزان نیتروژن، ضرب این مقدار در ضریب تبدیل مربوطه، میزان پروتئین محاسبه گردید. (AOAC, 1983). محتوای خاکستر باتوجه به پژوهش AOAC (۱۹۹۶) ارزیابی شد. برای بررسی میزان چربی از دستگاه سوکسله و حلال اتر دوپترول استفاده شد (AOAC, 1995).

ارزیابی حسی

ویژگی‌های حسی، از لحاظ رنگ (صورتی روشن)، بافت (سفتی و نرمی)، عطر و طعم و پذیرش کلی، از طریق آزمون هدونیک ۵ نقطه‌ای به روش ککسوی و همکاران (Koksoy *et al.*, 2006) ارزیابی شد. برای اجرای این آزمون از ۱۰ نفر از دانشجویان رشته صنایع غذایی دانشگاه آزاد واحد علوم تحقیقات تهران در رده سنی ۲۵-۳۵ سال استفاده شد. ارزیاب‌ها پیش از انجام آزمون در مورد نحوه ارزیابی هرکدام از فاکتورها آموزش‌های لازم را مطالعه کردند. به نمونه تهیه شده از هر تیمار یک کد سه‌رقمی به‌صورت تصادفی اختصاص یافت و نمونه‌ها به همراه فرم نظرخواهی جهت ارزیابی خواص حسی به افراد ارزیاب داده شد. پس از بررسی نمونه توسط ارزیاب امتیاز ۸ به نمونه‌ای که از نظر ارزیاب عالی بود اختصاص یافت و اعداد ۰، ۲، ۴، ۶ به ترتیب به کیفیت‌های خیلی بد، بد، متوسط و خوب تعلق گرفت (Alaei *et al.*, 2018).

مالتودکسترین فرآورده هیدرولیزی نشاسته با معادل دکستروز (DE) کمتر از ۲۰ می‌باشد که از هیدرولیز اسیدی یا آنزیمی نشاسته به‌ویژه نشاسته ذرت تولید می‌شود. یعنی هیدرولیزی که تا به‌دست‌آوردن معادل دکستروزی مطلوب ادامه می‌یابد و سپس محصول با استفاده از تصفیه کردن، تبادل یون و رنگ‌بری با کربن فعال تصفیه شده و محصول نهایی برای رسیدن به رطوبت حداکثر ۶ تا ۱۰ درصد به روش پاششی خشک می‌شود. مالتودکسترین در حقیقت مخلوطی از ساکاریدهای با وزن مولکولی بین پلی‌ساکارید و اولیگوساکارید است (Shahidi *et al.*, 2004).

در زمینه کاربرد مالتودکسترین در فرآورده‌های گوشتی کم‌چرب در دنیا تحقیقات محدودی به‌ویژه در مورد برگرها انجام شده است. در ایران نیز پژوهشی درباره استفاده از مالتودکسترین جهت جایگزینی چربی در سوسیس آلمانی، به‌عنوان پرمصرف‌ترین فرآورده گوشتی، صورت نگرفته است. در تحقیقاتی Carvalho و همکاران (Carvalho *et al.*, 2017) از مالتودکسترین، پروتئین سویا و کلاژن جهت بهبود خواص فیزیکی‌شیمیایی و حسی برگر گاو استفاده کردند. مالتودکسترین سبب افزایش راندمان، کاهش از دست دادن رطوبت و کاهش جمع شدگی برگر پس از پخت شد. حسن و همکاران (Hassan *et al.*, 2014) خواص فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی برگر گوشت گاو کم‌چرب با مالتودکسترین را بررسی نمودند. با جایگزینی بخشی از چربی با مالتودکسترین، جمع‌شدگی برگر کاهش یافت. همچنین مقدار کلسترول لیپوپروتئین با چگالی کم و تری‌گلیسرید در برگر کم‌چرب حاوی مالتودکسترین کمتر شد.

در این پژوهش با استفاده از نسبت‌های مختلف جایگزینی چربی سوسیس آلمانی با مالتودکسترین، فرآورده گوشتی کم‌چرب تولید شد و خواص فیزیکی‌شیمیایی و حسی آن را مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد

گوشت و مواد مورد نیاز مندرج در جدول ۱ برای آماده‌سازی سوسیس از مراکز تجاری معتبر در سطح شهر تهران خریداری شد. پودر مالتودکسترین با DE=16 از شرکت سورپرایز چین و پلی فسفات سدیم، نیترات سدیم، کازئین و کاراگینان از شرکت شیمی پل تهیه شد. سایر مواد شیمیایی مربوط به شرکت مرک آلمان بود.

آماده‌سازی نمونه‌های سوسیس

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

آنالیز واریانس در سطح اطمینان ۹۵٪ و آزمون مقایسه میانگین دانکن انجام گردید. برای رسم جداول و اشکال از نرم افزار Excel نسخه ۲۰۱۹ استفاده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و سه تکرار انجام گرفت.

جدول ۱- فرمولاسیون تهیه نمونه سوسیس آلمانی حاوی ۴۰ درصد گوشت گاو
Table 1- Formulation of German sausage sample containing 40% of beef

مواد مورد استفاده Materials used	مقدار Amount (kg in terms of 1 kg of dough)
گوشت سردست گوساله (Beef head meat)	0.4
آب و یخ (Water and ice)	0.2673
روغن مایع (Oil)	0.18
آرد گندم (Wheat flour)	0.03
پیاز تازه (Fresh onion)	0.03
سیر تازه (Fresh garlic)	0.012
ادویه (مرزه، آویشن و فلفل قرمز) Spices (savory, thyme and red pepper)	0.0075
نمک طعام (Salt)	0.015
پلی فسفات سدیم (Sodium polyphosphate)	0.004
نیتريت سدیم (Sodium nitrite)	0.0012
سویا (Soy)	0.01
کازئین (Casein)	0.01
کاراگینان (Carrageenan)	0.003
نشاسته گندم (Wheat starch)	0.06

نتایج و بحث

بررسی نتایج خواص شیمیایی

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس نشان داد که تغییر در سطح جایگزینی مالتودکسترین در تیمارهای مختلف تأثیر معنی دار در سطح اطمینان ۹۵٪ در میزان رطوبت، چربی، نشاسته و خاکستر داشت، ولی میزان پروتئین نمونه‌ها، به جز تیمار حاوی ۱۸٪ مالتودکسترین تحت تأثیر سطح جایگزینی مالتودکسترین قرار نگرفت. در واقع، علی‌رغم معنی دار نبودن، در تیمارهای حاوی ۶ و ۱۲٪ مالتودکسترین، با افزایش جایگزینی مالتودکسترین با چربی، میزان پروتئین نمونه‌ها کاهش یافت. کاهش پروتئین در تیمار حاوی ۱۸ درصد مالتودکسترین معنی دار بود. البته میزان پروتئین تیمارهای حاوی ۶ و ۱۲٪ مالتودکسترین، مطابق

استاندارد ملی شماره ۲۳۰۳ ایران (تجدید نظر ۱۴۰۰) بود و تیمار حاوی ۱۸ درصد مالتودکسترین نزدیک به این استاندارد بود. بیشترین میزان پروتئین مربوط به نمونه شاهد و نمونه حاوی ۶ درصد مالتودکسترین بود و کمترین میزان پروتئین را نمونه حاوی ۱۸ درصد مالتودکسترین داشت. نتایج با تحقیق انجام شده توسط کاروالهو و همکاران (Carvalho *et al.*, 2017) روی برگ‌های حاوی مالتودکسترین مطابقت داشت. نتایج نشان داد تغییرات میزان مالتودکسترین جایگزین شده بر میزان چربی نمونه‌های سوسیس تأثیر معنی دار داشت، به گونه‌ای که با افزایش میزان مالتودکسترین در فرمولاسیون سوسیس میزان چربی نمونه‌ها کاهش یافت، که این کاهش در تمام نمونه‌ها معنی دار بود ($p \leq 0.05$). اوزتورک و همکاران

راغب و همکاران (Ragheb *et al.*, 2020) علاوه بر عوامل ذکر شده، وجود فیبر خام را نیز به عنوان عامل جذب آب مؤثر می‌دانند. نکته قابل توجه دیگر وجود چربی در نمونه است به طوری که با افزایش میزان چربی در نمونه، جذب آب و در نهایت میان رطوبت نمونه، کاهش می‌یابد، زیرا وجود چربی باعث پوشاندن سایت‌های قابل اتصال با آب می‌شود. حسن و همکاران (Hassan *et al.*, 2014) نیز نشان دادند که استفاده از مالتودکسترین در فرمولاسیون برگر گوشت گاو موجب افزایش ظرفیت نگهداری آب و میزان رطوبت نمونه‌ها شده است که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارد.

با افزایش جایگزینی روغن فرمولاسیون با مالتودکسترین، میزان چربی نمونه‌ها کاهش یافت که در جدول ۲ به این نتایج اشاره شده است و نتایج گزارش شده دور از انتظار نیز نبوده است. میزان تغییرات نشاسته تحت تأثیر سطوح جایگزینی مالتودکسترین قرار گرفت و با افزایش میزان مالتودکسترین، میزان نشاسته نمونه‌های سوسیس افزایش یافت (جدول ۲). در تیمارهای مورد مطالعه، علی‌رغم افزایش نشاسته، به دلیل کاهش چربی و نیز استفاده از محلول آبی ۲۵٪ مالتودکسترین به جای مالتودکسترین پودری، کالری تیمارها کاهش قابل ملاحظه‌ای پیدا می‌کرد. باتوجه به ساختار دکستروزی مالتودکسترین، افزایش میزان نشاسته با افزایش سطح جایگزینی مالتودکسترین کاملاً هم‌خوانی دارد. البته در تیمار حاوی ۶٪ مالتودکسترین این روند متفاوت بود، که احتمالاً به بافت منسجم سوسیس در این تیمار و از طرفی کاهش انسجام در تیمارهای حاوی ۱۸ و ۱۲٪ مالتودکسترین مربوط باشد. حسن و همکاران (Hassan *et al.*, 2014) گزارش دادند که استفاده از مالتودکسترین در تولید همبرگر با گوشت گاو موجب افزایش میزان رطوبت، کاهش میزان چربی و افزایش میزان کربوهیدرات و فیبر خوراکی شده است، که این نتایج با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد.

(Ozturk *et al.*, 2022). در پژوهشی به بررسی استفاده از پروتئین آب پنیر، در سطوح مختلف به عنوان جایگزین چربی در فرمولاسیون امولسیون سوسیس گاو، پرداختند و به این نتیجه رسیدند که استفاده از پروتئین آب پنیر، باعث کاهش مقدار چربی سوسیس و افزایش محتوای پروتئین می‌شود. دی سوزا و همکاران (de Souza *et al.*, 2020). طی پژوهشی نشان دادند، استفاده از ترکیب امولسیون حاوی اینولین و ایزوله پروتئین سویا به عنوان جایگزین چربی موجب کاهش ۱۱ تا ۳۴ درصدی محتوای چربی در نمونه‌های سوسیس بولونیا حاوی گوشت مرغ و خوک شد که با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد. با افزایش سطح جایگزینی مالتودکسترین، میزان نشاسته نمونه‌های سوسیس افزایش یافت، بیشترین مقدار نشاسته را نمونه‌های سوسیس با ۱۸٪ مالتودکسترین داشت ($p \leq 0.05$). تغییر در سطح جایگزینی مالتودکسترین موجب ایجاد تأثیر معنی‌دار بر میزان خاکستر نمونه‌های سوسیس شد و همچنین استفاده از مالتودکسترین، موجب افزایش میزان خاکستر نمونه‌های سوسیس شد ($p \leq 0.05$). همان‌گونه که در جدول ۲ مشخص است، با افزایش غلظت مالتودکسترین در فرمولاسیون سوسیس، میزان رطوبت نمونه‌ها افزایش یافت. این تفاوت‌ها به این دلیل بود که کاهش چربی در فرمولاسیون همراه با افزودن محلول مالتودکسترین ۲۵٪ آبی است، یعنی همراه با کاهش مقدار چربی، قابلیت جذب آب و رطوبت فرمول افزایش یافته است. از سوی دیگر وجود باندهای هیدروژنی و اتصال هیدروژنی بین صمغ‌های هیدروکلوئیدی و پروتئین‌های گوشت در برابر انتقال آب در حین پخت، مقاومت نشان می‌دهند (McArdle *et al.*, 2011). ظرفیت جذب آب و میزان رطوبت در مواد غذایی مختلف به ترکیب اسیدهای آمینه، آرایش فضایی پروتئین، میزان آب‌دوستی و آب‌گریزی پروتئین و همچنین حضور کربوهیدرات‌های آب‌دوست بستگی دارد (Bowker, 2017).

جدول ۲- مقایسه میانگین خواص شیمیایی سوسیس‌های تیمار شده با سطوح مختلف مالتودکسترین

	رطوبت Moisture (%)	پروتئین Protein (%)	چربی Fat (%)	نشاسته Starch (%)	خاکستر Ash (%)
نمونه شاهد Control	61.71 ^d ± 0.12	10.38 ^a ± 0.34	15.14 ^a ± 0.04	6.52 ^c ± 0.19	2.59 ^b ± 0.01
نمونه حاوی ۶٪ مالتودکسترین Treatment containing 6% maltodextrin	63.03 ^c ± 0.55	11.01 ^a ± 0.03	12.05 ^b ± 0.42	6.90 ^b ± 0.23	2.82 ^a ± 0.01
نمونه حاوی ۱۲٪ مالتودکسترین Treatment containing 12% maltodextrin	64.05 ^b ± 0.04	9.57 ^a ± 0.32	10.80 ^c ± 0.29	6.70 ^c ± 0.17	2.92 ^a ± 0.04
نمونه حاوی ۱۸٪ مالتودکسترین Treatment containing 18% maltodextrin	65.40 ^a ± 0.24	8.51 ^b ± 0.26	7.97 ^d ± 0.07	7.59 ^a ± 0.15	2.93 ^a ± 0.06

*مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف استاندارد می‌باشد.

*تفاوت در حروف انگلیسی بیانگر تفاوت در سطح اطمینان ۹۵٪ است.

The data shown are the standard deviation ± mean.*

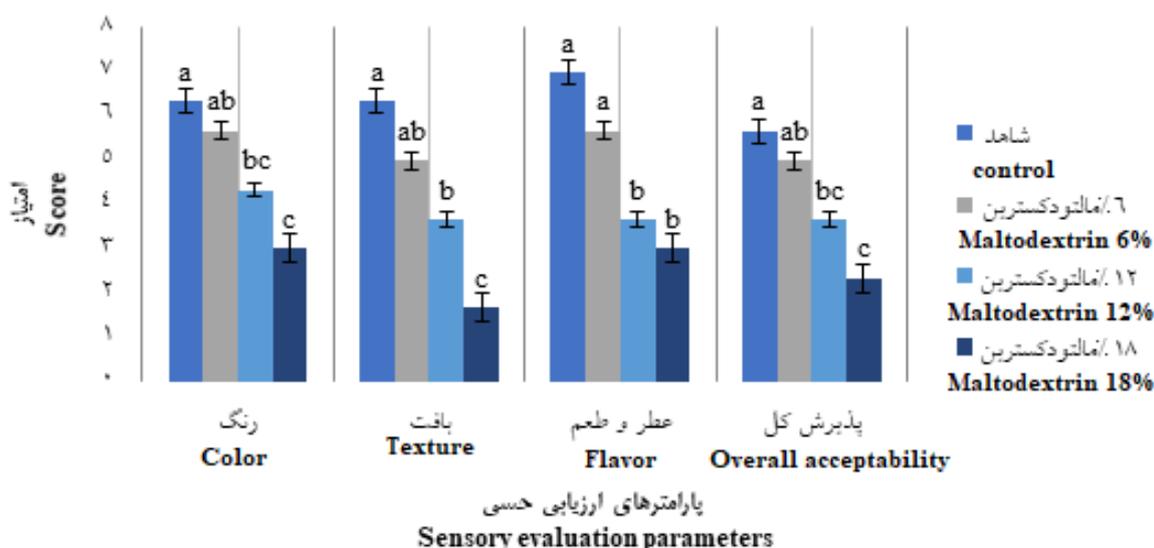
The difference in English letters indicates a difference in the 95% confidence level.*

ارزیابی حسی فاکتور رنگ نشان داد که بیشترین امتیاز را نمونه شاهد کسب کرده است و کمترین امتیاز رنگ مربوط به نمونه حاوی ۱۸ درصد مالتودکسترین بود. در مورد پارامتر بافت نیز نتایج مشابهی یافت شد، بیشترین و کمترین امتیاز به ترتیب مربوط به نمونه‌های شاهد و نمونه سوسیس دارای ۱۸ درصد مالتودکسترین بود ($p \leq 0.05$). در مورد عطر و طعم، بیشترین امتیازات به ترتیب مربوط به نمونه شاهد و نمونه ۶ درصد مالتودکسترین بود که فاقد اختلاف آماری معنی‌دار با هم بوده‌اند ($p > 0.05$) و نمونه‌های ۱۸ درصد مالتودکسترین و تیمار ۱۲ درصد مالتودکسترین نیز کمترین امتیازات را کسب کرده‌اند که با هم تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداده‌اند ($p > 0.05$). بیشترین پذیرش کل را نمونه شاهد داشت و با افزایش سطح مالتودکسترین از پذیرش کل کاسته شد به گونه‌ای که نمونه سوسیس حاوی ۱۸٪ مالتودکسترین کمترین پذیرش را از نظر ارزیاب‌ها داشته است ($p \leq 0.05$). میزان رطوبت بالا، کاهش میزان چربی و تشکیل امولسیون نامناسب، از دلایل تأثیرگذار بر کاهش امتیازات کسب شده است.

استفاده از مالتودکسترین موجب افزایش میزان خاکستر شد. مقادیر خاکستر به مواد معدنی و پروتئینی، پلی‌ساکاریدها و نمک بستگی دارد و همچنین مقدار خاکستر گوشت بیشتر از همه تحت تأثیر مقدار پروتئین گوشت و نمک افزوده شده، است (Shahidi et al., 2004). مقادیر مختلف ترکیبات هیدروکلوئیدی به دلیل وجود پلی‌ساکارید، میزان خاکستر بیشتری را نسبت به نمونه شاهد نشان داده است.

خواص حسی

پارامترهای رنگ، بافت، عطر و طعم و پذیرش کل توسط ارزیاب‌های نیمه آموزش دیده مورد مطالعه قرار گرفت. با توجه به شکل ۱، بجز تیمار ۶ استفاده از سطوح مختلف مالتودکسترین بر امتیازات کسب شده برای تمام پارامترهای حسی تأثیر معنی‌دار داشت ($p \leq 0.05$). در تمام خواص مورد ارزیابی، نمونه شاهد بالاترین امتیاز را کسب کرد و با افزایش میزان مالتودکسترین از امتیاز داده شده نیز کاسته شد. نتایج



شکل ۱- بررسی خواص حسی نمونه‌های سوسیس آلمانی کم چرب
Fig. 1. Investigation of sensory properties of low-fat German sausage samples
 تفاوت در حروف انگلیسی بیانگر تفاوت در سطح اطمینان ۹۵٪ است.
 The difference in English letters indicates a difference in the 95% confidence level.

مالتودکسترین مشاهده نشد. با افزایش استفاده از مالتودکسترین در فرمولاسیون سوسیس آلمانی میزان چربی نمونه‌های سوسیس کاهش معنی‌دار داشت که با توجه به هدف جایگزینی چربی با مالتودکسترین این نتیجه دور از انتظار نبود. استفاده از مالتودکسترین در نمونه‌های سوسیس موجب افزایش میزان نشاسته شد، که با توجه به ماهیت مالتودکسترین، با افزایش سطوح مالتودکسترین میزان نشاسته نیز

نتیجه‌گیری

استفاده از مالتودکسترین در سطوح ۶، ۱۲ و ۱۸٪ به صورت جایگزین با روغن، موجب افزایش میزان رطوبت نمونه‌های سوسیس شده است که این افزایش رطوبت با افزایش درصد جایگزینی ارتباط مستقیم داشت. تأثیر مالتودکسترین بر میزان پروتئین نمونه‌های سوسیس معنی‌دار نبود و تفاوتی بین نمونه شاهد و نمونه‌های دارای

کاهش معنی‌دار داشت. باتوجه‌به نتایج این تحقیق، ارزیابی جنبه اقتصادی (قیمت تمام شده پایین‌تر تیمارها نسبت به نمونه شاهد) و درنظر گرفتن جنبه رژیمی (کم کالری بودن تیمارها نسبت به نمونه شاهد) می‌توان گفت، نمونه تیمار ۶ می‌تواند با نمونه شاهد قابل رقابت می‌باشد و به‌عنوان جایگزین مناسب پیشنهاد می‌گردد.

افزایش یافت. میزان خاکستر نمونه‌های سوسیس آلمانی با افزایش سطح مالتودکسترین افزایش معنی‌دار یافت. ارزیابی حسی نمونه‌ها نیز نشان داد که نمونه شاهد، به همراه تیمار ۶، بیشترین امتیاز را از نظر مصرف‌کننده در پارامترهای رنگ، بافت، عطر و طعم و پذیرش کل کسب کرده‌اند و با افزایش استفاده از مالتودکسترین امتیازات کسب شده

منابع

- Alaei, F., Hojjatoleslami, M., & Hashemi Dehkordi, S.M. (2018). The effect of inulin as a fat substitute on the physicochemical and sensory properties of chicken sausages. *Food Science & Nutrition*, 6(2), 512-519. <https://doi.org/10.1002/fsn3.585>
- Alesón-Carbonell, L., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J.A., & Kuri, V. (2005). Characteristics of beef burger as influenced by various types of lemon albedo. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(2), 247-255. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2005.01.002>
- AOAC. (1983). Official method of analysis of AOAC International. *Association of Official Analytical Chemists*. Washington, DC, Unites States.
- AOAC. (1991). Official method of analysis of AOAC International. *Association of Official Analytical Chemists*. Washington, DC, Unites States.
- AOAC. (1995). Official method of analysis of AOAC International, 16th edition. *Association of Official Analytical Chemists*. Washington, DC, Unites States.
- Bowker, B. (2017). *Developments in our understanding of water-holding capacity*. In Poultry quality evaluation (pp. 77-113). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100763-1.00004-0>
- Carvalho, G., Milani, T., & Trinca, N. (2017). Textured soy protein, collagen and maltodextrin as extenders to improve the physicochemical and sensory properties of beef burger. *Food Science and Technology*, 37(1), 10-17. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.31916>
- de Souza Paglarini, C., Vidal, V.A.S., Dos Santos, M., Coimbra, L.O., Esmerino, E.A., Cruz, A.G., & Pollonio, M.A.R. (2020). Using dynamic sensory techniques to determine drivers of liking in sodium and fat-reduced *Bologna sausage* containing functional emulsion gels. *Food Research International*, 132, 109066. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109066>
- de Souza Paglarini, C., Vidal, V.A., Ribeiro, W., Badan Ribeiro, A.P., Bernardinelli, O.D., Herrero, A.M., Ruiz-Capillas, C., Sabadini, E., & Rodrigues Pollonio, M.A. (2021). Using inulin-based emulsion gels as fat substitute in salt reduced Bologna sausage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(2), 505-517. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10659>
- Hadnadev, M., Hadnadev, T.D., Torbica, A., Dokic, L., Pajin, B., & Krstonosic, V. (2011). Rheological properties of maltodextrin based fat – reduced confectionery spread systems. *Procedia Food Science*, 1, 62–67. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.011>
- Hassan, A., Mona, M., Khalil, M., Rania, E., El Gammal, & El Sherbini, Y.I. (2014). Chemical, physical and biological characteristics of low fat beef burger with maltodextrin. *Food and Dairy Sciences, Mansoura University*, 5(11), 795–811. <https://doi.org/10.21608/JFDS.2014.53229>
- Iranian national standard. (2303). Sausages – Specifications and test methods. Reference method.
- Koksoy, A., & Kilic, M. (2004). Use of hydrocolloids in textural stabilization of a yoghurt drink, ayran. *Food Hydrocolloids*, 18(4), 593-600. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2003.10.002>
- Lima, T.L.S., da Costa, G.F., da Silva Araújo, Í.B., da Cruz, G.R.B., Ribeiro, N.L., Filho, E.M.B., Dominguez, R., & Lorenzo, J.M. (2021). Pre-emulsified linseed oil as animal fat replacement in sheep meat sausages: Microstructure and physicochemical properties. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(1), e15051. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15051>
- McArdle, R., & Hamill, R. (2011). *Utilisation of hydrocolloids in processed meat systems*. In Processed meats (pp. 243-269). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9780857092946.2.243>
- Nazari, S. M., Mortazavi, A., Hesari, J., & Tabatabaei Yazdi, F. (2019). Proteolysis and textural properties of low-fat ultrafiltered Feta cheese as influenced by maltodextrin. *International Journal of Dairy Technology*, 73(1), 244-254. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12642>
- Nazari, S. M., Mortazavi, A., Hesari, J., & Tabatabai Yazdi, F. (2016). The effect of maltodextrin from corn starch on the chemical, sensory and microstructure properties of low-fat refined white cheese, *Innovative Food Technologies*, 3(11), 85-97. (In Persian)

18. Neville, M., Tarrega, A., Hewson, L., & Foster, T. (2017). Consumer-orientated development of hybrid beef burger and sausage analogues. *Food Science & Nutrition*, 5(4), 852-864. <https://doi.org/10.1002/fsn3.466>
19. Ozturk-Kerimoglu, B., Uргу-Ozturk, M., Serdaroglu, M., & Koca, N. (2022). Chemical, technological, instrumental, microstructural, oxidative and sensory properties of emulsified sausages formulated with microparticulated whey protein to substitute animal fat. *Meat Science*, 184, 108672. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108672>
20. Ragheb, R., & Nobbmann, U. (2020). Multiple scattering effects on intercept, size, polydispersity index, and intensity for parallel (VV) and perpendicular (VH) polarization detection in photon correlation spectroscopy. *Scientific Reports*, 10(1), 21768. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78872-4>
21. Shahidi, F., Kuchaki, A., & Baghae, H. (2004). Determination of chemical combinations and physical properties local Iranian seed of water melon, pumpkin, cantaloupe & evaluation of their chemical characteristics oils. *Journal of Food Science and Industry Ferdowsi of Mashhad*, 20(85).
22. Udomrat, S., Ikeda, S., & Gohtani, S. (2011). The effect of tapioca maltodextrins on the stability of oil-in-water emulsions. *Starch/Starke*, 63, 347-353. <https://doi.org/10.1002/star.201000165>



Heat Transfer Modeling of Malt Syrup in Semi-rigid Aluminum Based Packaging

S. Hamidi¹, N. Zamindar^{2*}, N. Gholipour Shahraki³

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

(*- Corresponding Author Email: n.zamindar@khuif.ac.ir)

3- Ph.D. Student, Department of Food Science and Technology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

Received: 14.09.2022
Revised: 23.01.2023
Accepted: 06.03.2023
Available Online: 07.03.2023

How to cite this article:

Hamidi, S., Zamindar, N., & Gholipour Shahraki, N. (2024). Heat transfer modeling of malt syrup in semi-rigid aluminum based packaging. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 20(1), 85-99. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.78801.1205>

Introduction

Thermal processing is an important method of canned food production (Farid & Abdul Ghani, 2004). Estimation of the heat transfer rates is essential to obtain optimum processing conditions and to improve product quality. In addition, a better understanding of the mechanism of the heating process will lead to an improved performance in the process and to some energy savings (Abdul Ghani *et al.*, 1999). Computational fluid dynamics (CFD) is an efficient way to study flow behavior and temperature distribution of thermal processing in the food technology (Ghani *et al.*, 2003). As the semi-rigid aluminum packaging market recently has been introduced, there is limited information about the temperature distribution during the heating process of such containers. In this paper the temperature distribution was predicted and location of cold zone was determined. The effect of headspace (air and water vapor) in heat transfer mechanism was investigated.

Materials and Methods

Physical properties

Malt extract properties such as density, specific heat, thermal conductivity and viscosity values are necessary for the equations solution. Viscosity and density of the sample was measured as a function of temperature (Vatankhah *et al.*, 2015). Specific heat and thermal conductivity of sample were estimated using the mass fraction of its constituents. For simulation, the experimental results were applied by piecewise-linear method in the material part of the software to describe viscosity, thermal conductivity and specific heat.

Experimental methodology

For the experimental, a thermocouple probe was located at point (0, 0, -2.76) in a semi rigid aluminum based packaging to measure the temperature distribution inside the container. Then the package was filled with malt extract (°Brix ~ 60) and then the package was sealed at 280 °C using Alcan machine. Another thermocouple was placed near the containers, in the water cascading Barriquand steriflow retort. The thermocouples were attached to Ellab data logger by PT100 cables. The data logger was connected to a personal computer and E-val 2.1 software was used to export time temperature profile of each thermocouple in 1 min intervals.



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.78801.1205>

Geometry and meshing

Gambit 2.3.30 was used to develop geometry and set of grid (0.2 cm, and 0.1 cm mesh size) was performed. Then software of fluent 6.3.26 with 3-D, double precision, pressure-based solver, implicit formulation, unsteady time, laminar flow was applied to solve the system of the governing equations (Vatankhah et al., 2015).

Boundary conditions and initial values

Unsteady temperature function was imposed to all faces of the geometry in 1 min time intervals. No-slip boundary condition was supposed for velocity components relative to boundaries. The boundary conditions used at top surface, bottom surface and side walls included: $T = T_w$, $V_x = 0$, $V_y = 0$ and $V_z = 0$. The initial temperature was assumed as the first temperature which was measured by the thermocouple at the starting time of processing.

Solution methodology

Fluent software was used to solve the Navier-Stokes and energy equations simultaneously. A preset convergence limit of 10^{-3} for continuity and momentum equations and 10^{-8} for the energy equation were used, in order to achieve an appropriate convergence. The under-relaxation factors were adjusted smaller than 1 to obtain a good convergence of the numerical solution. SIMPLEC algorithm was used for pressure-velocity coupling.

Results and Discussion

There was no significant difference between predicted and experimental temperatures for point (0, 0, -2.76) in models with and without head space using t-test ($p < 0.01$). Temperature contours of predicted models (with headspace) were similar to model without headspace at the different stages of the process. Simulation result showed slowest heating zone located in ($0.02 < X < 0.8$, $-1 < Y < 0.3$ and $-3.27 < Z < 3.27$) for model of malt extract with headspace and in ($-3.58 < X < 3.76$, $-3.44 < Y < 0.48$ and $-3.46 < Z < -3.05$) for model of malt extract without headspace.

Conclusion

The heating process of malt extract in semi rigid aluminum container during thermal processing was simulated successfully using CFD. The CFD based model showed that the position of SHZ was located in the third end of the container.

Keywords: Computational fluid dynamics, Malt extract, Semi rigid aluminum container, Slowest heating zone

مقاله پژوهشی

جلد ۲۰، شماره ۱، فروردین-اردیبهشت ۱۴۰۳، ص. ۹۹-۸۵

مدل‌سازی انتقال حرارت در کنسرو حاوی عصاره مالت در بسته‌بندی نیمه‌سخت بر پایه آلومینیوم

سعیده حمیدی^۱ - نفیسه زمین‌دار^{۲*} - نیره قلی‌پور شهرکی^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۱۵

چکیده

در این پژوهش مدل عددی انتقال حرارت در کنسرو عصاره مالت با بریکس ۶۰ در بسته‌بندی آلومینیومی نیمه‌سخت با نرم‌افزار فلونتت توسعه داده شد. شکل هندسی کنسرو حاوی نمونه، توسط نرم‌افزار گمبیت رسم و شبکه‌بندی مناسب با فاصله گره‌های ۰/۱cm و ۰/۲cm اعمال شد. سپس انتقال حرارت درون کنسرو در طول فرآیند حرارتی با استفاده از نرم‌افزار فلونتت شبیه‌سازی شد. پروفیل‌های دمایی فرآیند حرارتی، شکل و محل ناحیه کند حرارتی در کنسرو نمونه بررسی شد. همچنین تأثیر وجود سرفضا (فضای خالی بالای ظرف) بر انتقال حرارت مورد بررسی قرار گرفت. شبکه‌بندی مناسب برای شبیه‌سازی، شبکه با فاصله گره‌های ۰/۲cm بود. نتایج شبیه‌سازی نشان داد که محل ناحیه کند حرارتی در کنسرو عصاره مالت دارای سرفضا در پایان مرحله حرارت‌دهی در محدوده ۳/۲۷cm - ۳/۳۷cm < Z < ۰/۳cm، ۱ < Y < ۰/۸cm و ۰/۰۲ < X < ۰/۰۲ - و در مدل فاقد سرفضا در پایان مرحله حرارت‌دهی در محدوده ۳/۴۴cm < Y < ۳/۷۶cm، ۳/۵۸ < X < ۳/۷۶cm است. بین دماهای پیش‌بینی شده و دماهای حاصل از تکرارهای آزمایشگاهی در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. پروفیل‌های دمایی حاصل از شبیه‌سازی در حالت‌های دارا و فاقد سرفضا در مراحل مختلف فرآیند حرارتی دارای مشابهت قابل قبولی بودند.

واژه‌های کلیدی: بسته‌بندی آلومینیومی نیمه انعطاف‌پذیر، دینامیک سیالات محاسباتی، عصاره مالت، ناحیه کند حرارتی

مقدمه

بردن اسپورهای بیماری‌زا در محصول غذایی است. در صنعت کنسرو، این فرآیند معمولاً با استفاده از بخار برای گرم کردن غذا تا یک دمای مشخص و سپس نگهداری غذا در آن دما برای یک بازه زمانی کافی، به‌منظور نابودی میکروارگانیسم‌ها انجام می‌شود. در استریلیزاسیون حرارتی، معمولاً دو روش اعمال می‌شود، ناپلشت کردن^۴ که در آن محصول غذایی قبل از بسته‌بندی استریل می‌شود و روش دیگر قوطی کردن^۵ است که در آن محصول در درون ظرف، بسته‌بندی شده و سپس

اغلب عملیات‌های فرآوری مواد غذایی جهت افزایش عمر مفید محصول از طریق حذف فعالیت نامطلوب میکروبی طراحی شده‌اند. بیش از یک قرن است که فرآیند حرارتی در تولید غذاهای کنسرو شده با عمر ماندگاری بالا نقش بسزایی دارد. شناخته شده‌ترین عملیات فرآوری که در آن انرژی حرارتی به کار می‌رود، استریلیزاسیون است. این فرآیند شامل استفاده از حرارت در دما و زمان خاص، جهت از بین

۱ و ۲- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

*- نویسنده مسئول: (Email: n.zamindar@khuisf.ac.ir)

۳- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

هستند. عصاره‌ی مالت فرآورده‌ای است که از تبخیر و تغلیظ عصاره‌های آبی دانه‌های غلات خصوصاً جو که فرآیند تشکیل مالت را گذرانده، بدست می‌آید (ISIRI NUMBER 6960). این محصول به‌طور گسترده در صنایع غذایی و همچنین دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد. استفاده عمده از مالت تولیدی در جهان در صنعت آبجوسازی است. با توجه به اینکه کار با بسته‌های آلومینیومی نیمه‌سخت راحت است و از آنجایی که بسته‌های خالی از این نوع به راحتی در یکدیگر فرو می‌روند، فضای کمی را اشغال می‌کنند و بنابراین حمل و نقل آن‌ها آسان است لذا در این تحقیق از بسته‌های نیمه‌سخت با پایه آلومینیوم برای کنسرو کردن استفاده شد. با توجه به اینکه بسته‌های آلومینیومی نیمه‌سخت اخیراً به بازار مصرف معرفی شده‌اند، اطلاعات کمی در مورد نحوه توزیع دما در طول استریلیزاسیون آن‌ها وجود دارد. در این پژوهش با توجه به ویژگی‌های ترموفیزیکی اندازه‌گیری شده و با استفاده از نرم‌افزار فلونت مدلی ریاضی برای توصیف انتقال حرارت در بسته‌های آلومینیومی نیمه سخت در طی فرآیند حرارتی عصاره مالت به‌عنوان تابعی از دمای اتوکلاو توسعه داده شد و پروفیل‌های دما، شدت فرآیند حرارتی و کندترین ناحیه حرارتی^۴ قوطی پیش‌بینی شد. سپس داده‌های پیش‌بینی شده به‌وسیله مدل با مقادیر آزمایشگاهی مقایسه شد تا اعتبار مدل بررسی گردد.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه

در این پژوهش عصاره مالت با درجه بریکس ۶۰ تهیه شده در کارخانه به مالت شهرکرد، جهت مدل‌سازی فرآیند انتقال حرارت مورد استفاده گرفت.

تجزیه شیمیایی نمونه

تجزیه شیمیایی عصاره مالت شامل اندازه‌گیری پروتئین به روش کلدال، چربی به روش ورنر، محتوای خاکستر و رطوبت (ISIRI NUMBER 3897)، کربوهیدرات (Loewus, 1952) و محتوای فیبر خام در سه تکرار انجام شد.

تعیین خواص ترموفیزیکی

چگالی

جرم حجمی عصاره مالت در محدوده دمایی 25°C تا 80°C در سه تکرار اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری چگالی نمونه مورد نظر به‌دلیل

استریل می‌شود (Farid & Abdul Ghani, 2004; Dash *et al.*, 2022). قوطی‌های کنسرو پس از تولید باید برای مدت‌های طولانی قابل نگهداری باشند. برای این منظور دما و زمان سالم‌سازی باید تا حدی باشد که مقاوم‌ترین میکروارگانیسم‌های احتمالی موجود در محتوای قوطی‌ها نابود شوند. در کنسروسازی زمان و دمای استریلیزاسیون بر اساس مقاومت دمایی اسپور کلوستریدیوم بوتولینوم^۱ محاسبه می‌شود. اما به‌طور کلی زمان، درجه حرارت پخت و استریلیزاسیون در مورد هر محصول و هر نوع بسته لازم است جداگانه مورد محاسبه قرار گیرد (Abdul Ghani *et al.*, 2002). مدت زمان لازم برای استریلیزاسیون محصول به ویژگی‌های محصول، نوع و اندازه بسته و نحوه قرارگیری در اتوکلاو و محیط حرارتی بستگی دارد (Abdul Ghani *et al.*, 1999). فرآیند استریلیزاسیون علاوه بر بهبود عمر انبارمانی غذا و ایمن ساختن آن از طریق تخریب میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، می‌تواند بر کیفیت تغذیه‌ای محصول از جمله ویتامین‌های آن اثر داشته باشد. بنابراین یکی از چالش‌های فرآیند استریلیزاسیون کنسروها، تولید محصولی سالم، ایمن و در عین حال دارای کیفیت تغذیه‌ای مطلوب است (Abdul Ghani *et al.*, 2002). حرارت اضافی بر کیفیت و ارزش تغذیه‌ای محصول اثر منفی می‌گذارد. تخمین سرعت انتقال حرارت برای رسیدن به شرایط بهینه فرآیند و بهبود کیفیت محصول ضرورت دارد. درک و فهم بهتر فرآیند حرارتی منجر به بهبود انجام فرآیند، صرفه‌جویی در مصرف و ذخیره انرژی می‌شود (Abdul Ghani *et al.*, 2018; Fadavi *et al.*, 1999). بنابراین باید مطالعاتی در راستای مدل‌سازی، پیش‌بینی و تعیین الگوی حرارت‌دهی مواد غذایی، در طی فرآیند حرارتی صورت گیرد، تا بتوان طراحی بهتری برای فرآیند استریلیزاسیون داشت. به این منظور از علم دینامیک سیالات محاسباتی^۲ به‌عنوان ابزاری قدرتمند استفاده می‌شود. دینامیک سیالات محاسباتی روشی برای شبیه‌سازی، جهت حل مسائل جریان سیال و انتقال حرارت است که در آن معادله پیوستگی، معادله ممنتوم و معادله بقای انرژی به‌صورت عددی حل می‌شوند تا سرعت، دما، برش^۳، فشار و دیگر پارامترهای موجود در یک سیستم جریان سیال پیش‌بینی شوند (Norton & Sun, 2006; Narsaiah *et al.*, 2021; Cevik & Icier, 2021). فرآیند تشکیل مالت شامل جوانه زدن دانه‌های سالم جو، تحت شرایط خاص از نظر دما، رطوبت و زمان مشخص می‌باشد. به‌نحوی که اندوسپرم دانه (تأمین کننده رشد جوانه است)، تحت واکنش‌های بیوشیمیایی و تجزیه آنزیمی قرار می‌گیرد. در این حالت دانه‌ها منبع سرشاری از کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌های تجزیه شده، انواع ویتامین‌های گروه B و آنزیم‌ها بویژه آنزیم‌های تجزیه کننده نشاسته

3- Shear

4- Slowest Heating Zone

1- *Clostridium botulinum*

2- Computational Fluid Dynamics (CFD)

برای بررسی عددی و توصیف انتقال حرارت در کنسرو، ابتدا هندسه ظرف توسط نرم افزار گمبیت طراحی و توسط همین نرم افزار شبکه بندی شد. پس از فراخوانی فایل شبکه بندی شده در نرم افزار (فلوئنت) حل مسئله انجام شد.

طراحی هندسه مدل

در این مطالعه دو مدل هندسی دارا و فاقد سرفضا طراحی شد. لازم به ذکر است منظور از مدل فاقد سرفضا این است که در طراحی مدل سازی انتقال حرارت در نرم افزار، فقط بخش ماده غذایی در نظر گرفته شد و بخش سرفضا برای مدلسازی لحاظ نشد و شرایط مرزی در بخش فوقانی ماده غذایی مشابه شرایط دیواره جانبی در نظر گرفته شد. در طراحی مدل ابتدا یک مربع به ضلع ۸/۶۰ cm رسم شد و در فواصل ۲ cm از گوشه های آن کمان هایی در نظر گرفته شد، سپس قسمت های اضافی حذف شده و خطوط موجود به صفحه تبدیل شد. سپس صفحه ایجاد شده در راستای منفی محور Z به اندازه ارتفاع ظرف (۴/۱۵ cm) و با زاویه ۵ درجه گسترش داده شد. در طراحی مدل دارای سرفضا مراحل بیان شده جهت طراحی سرفضا با ارتفاع ۰/۴ cm انجام شد و سپس شکل ایجاد شده در راستای منفی محور Z به اندازه ارتفاع ظرف (۳/۷۵ cm) و با زاویه ۵ درجه گسترش داده شد تا شکل هندسی ظرف مطابق شکل ۱ بدست آید.

شبکه بندی

فضای محاسباتی باید شبکه بندی شود تا نرم افزار تحلیل گر بتواند برای واحدهای حاصل، حل عددی انجام دهد. به منظور شبکه بندی مدل، ابتدا شبکه بندی روی سطوح و سپس شبکه بندی روی حجم صورت گرفت. در طراحی مدل یک بار از شبکه بندی ۰/۱ cm و بار دیگر ۰/۲ cm استفاده شد. شکل ۲ مدل شبکه بندی شده با اندازه شبکه ۰/۲ cm را نشان می دهد.

لزجت بالا و محبوس شدن هوا در آن، نمونه ها به مدت ۲ ساعت تحت خلأ قرار گرفتند (Vatankhah et al., 2015).

لزجت

اندازه گیری لزجت نمونه توسط ویسکومتر بروکفیلد مدل DV-III ULTR ساخت آمریکا در بازه های ۱۰ درجه ای از ۳۰°C تا ۸۰°C انجام شد (Razavi & Akbari, 2012).

گرمای ویژه

گرمای ویژه نمونه با استفاده از روابط تجربی ارائه شده توسط چوی و اوکوس و معادله (۱) که بر پایه درصد اجزای تشکیل دهنده نمونه است در محدوده دمایی ۳۰°C تا ۸۰°C محاسبه شد (Sahin & Sumnu, 2006).

$$C_p = \sum_{i=1}^n C_{pi} X_i^w \quad (1)$$

در این معادله C_{pi} گرمای ویژه جزء سازنده i در فشار ثابت و X_i جزء جرمی ماده سازنده i است.

ضریب هدایت حرارتی

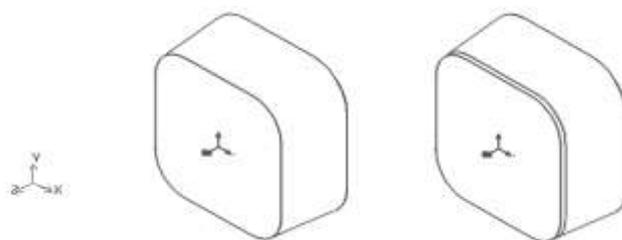
ضریب هدایت حرارتی نمونه با استفاده از روابط تجربی ارائه شده توسط چوی و اوکوس و معادلات ۲ و ۳ در بازه دمایی ۳۰°C تا ۸۰°C محاسبه شد.

$$X_i^v = \frac{X_i^w / \rho_i}{\sum_{i=1}^n (X_i^w / \rho_i)} \quad (2)$$

$$k_{pa} = \sum_{i=1}^n k_i X_i^v \quad (3)$$

در معادلات فوق X_i^v کسر حجمی جزء i ، X_i^w کسر جرمی جزء i و ρ_i چگالی جزء i ام (kg/m^3) است.

حل مسئله با استفاده از نرم افزار فلوئنت



شکل ۱- شکل هندسی ظرف (سمت راست: دارای سرفضا، سمت چپ: فاقد سرفضا)

Fig. 1. Semi-rigid aluminum container geometry (Right: with head space, Left: without head space)



شکل ۲- مدل شبکه بندی شده با اندازه شبکه ۰/۲ cm

Fig. 2. Ted/Hybrid meshes on 3D model of the container (0.2 cm)

تعیین شرایط مرزی و اولیه

شرایط مرزی^۷ با توجه به شرایط واقعی اعمال شده بر دیواره‌های ظرف، در نرم‌افزار تعریف شد. به این صورت که برای دیواره‌های جانبی، درب و کف ظرف ویژگی‌های ممتوم به صورت دیواره ثابت^۸ و ویژگی-های برش به صورت بدون لغزش^۹ در نظر گرفته شد. شرایط مرزی حرارتی مربوط به مدل فاقد سرفضا؛ برای دیواره‌های جانبی، کف و درب ظرف به صورت دمای ثابت و منطبق با پروفیل حرارتی محیط داخلی اتوکلاو (مطابق با شکل ۳) تعریف گردید. شرایط مرزی حرارتی مربوط به مدل دارای سرفضا؛ برای دیواره‌های جانبی و کف ظرف مشابه مدل فاقد سرفضا در نظر گرفته شد. اما با توجه به در نظر گرفتن سرفضا در این مدل؛ شرایط مرزی حرارتی برای قسمت فوقانی (درب) ظرف به صورت انتقال حرارت از نوع همرفت و براساس ضریب همرفت بخار تعریف گردید. خصوصیات مربوط به ظرف نیز براساس جنس آلومینیوم و با ضخامت دیواره ۰/۰۴ cm تعریف شد. شرایط اولیه همان دمای اولیه محصول در نظر گرفته شد.

جهت دستیابی به همگرایی بهتر؛ فاکتورهای مادون رهایی^{۱۰} کوچکتر یا مساوی یک در نظر گرفته شد. همچنین فشار؛ استاندارد، معادلات انرژی و ممتوم از نوع درجه دو بالا دست^{۱۱} و الگوریتم مربوط به کوپل سرعت-فشار، سیمپل سی^{۱۲} انتخاب شد. پس از آن دیواره‌های ظرف به‌عنوان نقطه شروع محاسبات تعریف و در نهایت حل مسئله راه اندازی شد. مقادیر همگرایی برای باقیمانده‌های پیوستگی و سرعت در راستای محورهای X و Y و Z مقدار 10^{-3} و برای انرژی 10^{-8} در نظر گرفته شد (Vatankhah et al., 2015).

تعیین مرزها در نرم‌افزار گمبیت

در این مرحله کلیه مرزها و نوع مواد از نظر سیال یا جامد بودن در نرم‌افزار گمبیت تعریف شد و در انتها مدل طراحی شده بصورت فایل شبکه‌بندی شده به نرم‌افزار تحلیل گر (فلوئنت) ارسال شد. مسئله مورد نظر به صورت حل با دقت دو برابر و در حالت سه بعدی حل شد.

خواندن و بررسی شبکه

مدل طراحی شده نهایی پس از فراخوانی در نرم‌افزار تحلیل گر (فلوئنت) ابتدا مورد بررسی کیفی^۱ قرار گرفت. با توجه به اینکه هندسه مسئله در مقیاس سانتی‌متر تعریف شده است، تمامی مقیاس‌های مورد استفاده بر حسب واحد سانتی‌متر در نظر گرفته شد.

انتخاب شیوه محاسباتی و فرمول‌بندی حل مسئله و تعریف معادلات حاکم

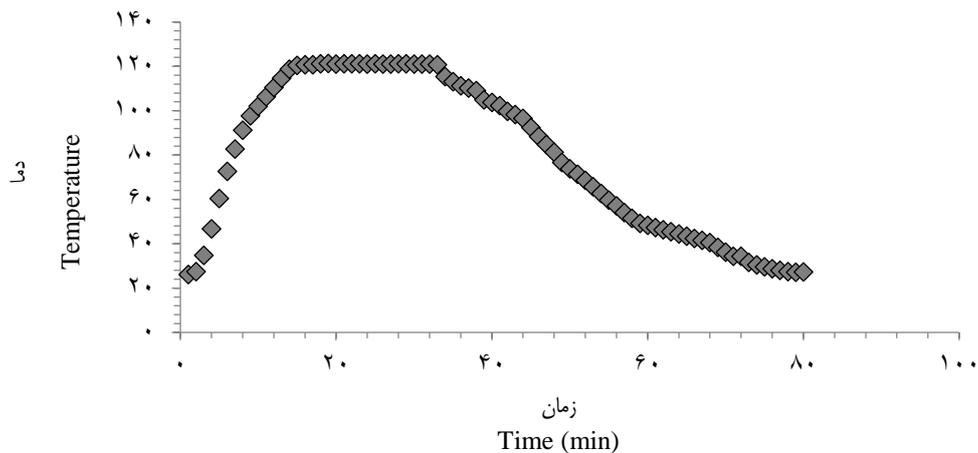
در حل مسئله از شیوه پیوسته ضمنی استفاده شد. معادلات حاکم با شرایط فشار پایه^۲، به صورت ضمنی^۳، در حالت گذرا^۴ و معادلات ضمنی درجه دو حل شدند. مدل فیزیکی مورد نظر بر پایه جریان آرام^۵ پایه‌گذاری شده است. به منظور بررسی انتقال حرارت معادلات انرژی^۶ فعال شدند. شتاب ثقل برای محور Y، $9/8 \text{ m/s}^2$ در نظر گرفته شد.

تعیین خواص ترموفیزیکی

خصوصیات ترموفیزیکی اندازه‌گیری شده نمونه و خصوصیات ظرف در بانک اطلاعات نرم‌افزار تعریف و ذخیره شد.

- 7- Boundary condition
- 8- Stationary wall
- 9- No slip
- 10- Under relaxation
- 11- Second order upwind
- 12- SIMPLEC

- 1- Check/Grid
- 2- Pressure based
- 3- Implicit
- 4- Unsteady
- 5- Laminar
- 6- Energy Equations



شکل ۳- تغییرات دمای اتوکلاو در طول زمان در فرآیند حرارتی عصاره مالت

Fig. 3. Changes of retort temperature vs. time in the thermal processing of malt extract

پایین بودن مقدار ریشه مربعات میانگین خطا نشانگر اعتبار بالای مدل است (Simpson *et al.*, 2004; Mohamed, 2007).

محاسبه ارزش استریل‌کنندگی

در مورد غذاهای کنسروی کمترین pH ممکن جهت رشد میکروارگانیسم کلستریدیوم بوتولینیوم ۴/۶ است. اسپور این میکروارگانیسم دارای بالاترین میزان مقاومت گرمایی در میان میکروب‌های غذایی بیماری‌زا است. برای انجام فرآیند حرارتی استریلیزاسیون جهت غذاهای کم اسید (دارای pH بالای ۴/۶) فرآیند حرارتی می‌باید به گونه‌ای باشد که احتمال حضور اسپور کلستریدیوم بوتولینیوم را به 10^{-12} در هر بسته برساند. برای محاسبه میزان ارزش استریل‌کنندگی از معادله (۵) استفاده شده است.

$$F = \int_0^t 10^{(T-T_{ref}/Z)} dt \quad (5)$$

میزان دمای مرجع (T_{ref}) با توجه به دمای اتوکلاو یا دمای پیش‌بینی شده توسط مدل برابر $121/1^\circ\text{C}$ و Z برابر با 10°C در نظر گرفته شد (Nicolai *et al.*, 2001).

بحث و نتایج

آنالیز شیمیایی ترکیبات تشکیل‌دهنده عصاره مالت در جدول ۱ ارائه شده است.

انجام فرآیند حرارتی به منظور معتبرسازی مدل

در این مرحله از تحقیق، معتبرسازی پیش‌بینی‌های تئوری توزیع دما طی فرآیند حرارتی مورد آزمایش قرار گرفت. ظرف مورد نظر با وزن استاندارد از نمونه پر و توسط ماشین آلکان^۱ با المنت حرارتی 280°C درب‌بندی شد، ترموکوپل برای اندازه‌گیری توزیع دما در مرکز هندسی ظرف مورد نظر قرار گرفت. ترموکوپل بوسیله کابل‌های PT100 به دیتالاگر^۲ دستگاه ایلب^۳ متصل و ظرف در داخل اتوکلاو قرار گرفت. اطلاعات دما و زمان در فواصل یک دقیقه‌ای از طریق نرم‌افزار E-Val ثبت شد. کلیه مراحل معتبرسازی در کارخانه صنایع غذایی چیکا سپاهان واقع در اصفهان، شهرک صنعتی مبارکه انجام شد.

معتبرسازی مدل و ارزیابی خطا

معتبرسازی مدل براساس مقایسه میانگین داده‌های حاصل از تکرارهای آزمایشگاهی (از طریق نصب ترموکوپل در داخل ظرف و ثبت اطلاعات دما در طول فرآیند حرارتی به‌دست آمدند) با داده‌های پیش-بینی شده توسط نرم‌افزار از طریق آزمون t انجام گرفت. میزان ریشه مربعات میانگین خطا^۴ نیز به‌عنوان معیاری برای برازش از طریق معادله (۴) محاسبه شد (Erdogdu & Tutar, 2012).

$$\text{RMSE} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (T_{\text{experimental}} - T_{\text{simulation}})^2} \quad (4)$$

3- Ellab

4- Root means square error

1- Alcan machine

2- Data logger

جدول ۱- آنالیز شیمیایی عصاره مالت

Table 1- Chemical analysis of malt extract

فیبر خام Crude Fiber	خاکستر Ash	چربی Fat	پروتئین Protein	کربوهیدرات Carbohydrate	آب Water
ناچیز insignificant	0.98±0.2g	1.5±0.001g	3.62±0.01g	52.80±0.01g	41.10±0.2g

خواص ترموفیزیکی

به منظور افزایش تأیید مدل پیش‌بینی شده، خواص ترموفیزیکی نمونه به عنوان تابع دما اندازه‌گیری شد. ضریب انبساط حجمی $(\beta)^{-4}$ $10 \times 96/3$ برآورد شد. معادلات (۶)، (۷)، (۸) و (۹) به ترتیب تغییرات چگالی، گرمای ویژه، هدایت حرارتی و لزجت را به عنوان تابعی از دما نشان می‌دهند.

$$\rho = -0.0059T^2 + 0.1068T + 1287.6 \quad (6)$$

$$C_p = 9.575T + 2679.6 \quad (7)$$

$$k = 0.0009T + 0.4107 \quad (8)$$

$$\mu = 61.224T^{-1.636} \quad (9)$$

بررسی روند همگرایی در مدل انتقال حرارت در کنسرو عصاره مالت

بررسی تغییرات دما در بازه‌های زمانی متوالی بر نقطه واقع بر محور مختصات به ارتفاع $2/76$ از سر ظرف نشان داد که دما در نقطه مذکور به صورت تابعی از دمای اتوکلاو ابتدا افزایش سپس کاهش می‌یابد. به منظور کنترل روند همگرایی مسئله باقیمانده‌های انرژی 1 شکل ۴ و تغییرات دما در بازه‌های زمانی متوالی بر نقطه مذکور بررسی شدند که هر دو مهر تأییدی بر همگرا شدن مسئله هم از نظر باقیمانده‌های انرژی و هم از نظر روال منطقی تغییرات دما بود.

بررسی اثر شبکه‌بندی متفاوت بر مدل انتقال حرارت در کنسرو عصاره مالت

در مدل طراحی شده از دو شبکه‌بندی $0/1$ cm و $0/2$ cm جهت حل مسئله استفاده شد. دمای محل هندسی قرارگیری ترموکوپل به مختصات $(2/76)$ و 0 تا پایان مرحله نگهداری 2 توسط مدل در دو شبکه‌بندی $0/1$ cm و $0/2$ cm شبیه‌سازی شد. و توسط آزمون آماری t مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج بدست آمده، عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال 1% را نشان داد. با توجه به نتیجه بدست آمده به

منظور ساده‌سازی روند حل و جلوگیری از اتلاف وقت از شبکه‌بندی $0/2$ cm در ادامه روند تحقیق استفاده شد.

بررسی پروفایل‌های حرارتی در مدل عصاره مالت در مقاطع زمانی مختلف

پروفیل حرارتی در سطح $Y=0$ و $Z = -2/76$ cm (از سر ظرف) به صورت هم‌دما در طول فرآیند حرارتی (حرارت‌دهی و خنک کردن) در مدل فاقد سرفضا در شکل ۵ نشان داده شده است. همانطور که در شکل قابل مشاهده است دما در داخل ظرف کنسرو بصورت تابعی از دمای اتوکلاو ابتدا افزایش و سپس کاهش می‌یابد. همچنین بررسی شکل ۵ نشان می‌دهد در مراحل اولیه فرآیند، انتقال حرارت بیشتر به صورت هدایت بوده و فرآیند جابجایی نقش کمتری دارد (الف و ب) و سپس وارد مرحله گذار از هدایت به جابجایی شده (د و ج) و در ادامه فرآیند مکانیسم غالب در انتقال حرارت جابجایی است (ه و و).

بررسی اثر سر فضای ظرف کنسرو در مدل‌های پیش‌بینی شده

با توجه به این نکته که در شرایط آزمایشگاهی تمامی ظروف پر شده از عصاره مالت دارای سرفضا^۳ بودند، تأثیر سرفضا بر سرعت انتقال حرارت بررسی شد. در این مطالعه $0/4$ cm سرفضا در بخش فوقانی تمامی ظروف در نظر گرفته شد. از آزمون آماری t جهت مقایسه دمای محل قرارگیری ترموکوپل در ظرف $(2/76)$ و 0 برای مدل دارای سرفضا نسبت به مدل فاقد سرفضا استفاده شد. نتایج نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال 1% بین دو مدل بود. شکل ۶ پروفیل دما در سطح $Y=0$ cm را در مقاطع زمانی مختلف در دو مدل دارا و فاقد سرفضا نشان می‌دهد. همچنین از آزمون آماری t جهت بررسی تأثیر شبکه‌بندی بر دمای نقطه انتخابی استفاده شد، که نتایج حاکی از عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین شبکه‌بندی $0/1$ cm و $0/2$ cm در سطح احتمال 1% بود.

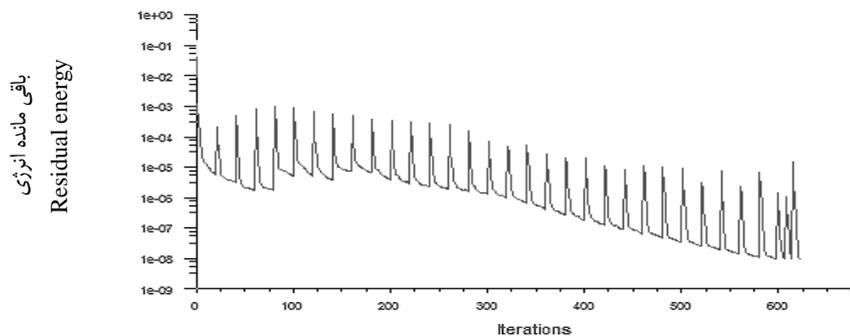
3- Head space

1- Energy residual
2- Holding

بررسی ناحیه کند حرارتی در مدل عصاره مالت

در انتقال حرارت به صورت هدایت ناحیه کند حرارتی که کمترین میزان حرارت را دریافت می‌کند، غالباً در مرکز هندسی توده غذایی قرار دارد. ولی مطالعات زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد در غذاهایی که فقط از طریق همرفت گرم می‌شوند، ناحیه کند حرارتی در مرکز هندسی قوطی قرار نمی‌گیرد، بلکه در بخشی نزدیک به کف قوطی قرار می‌گیرد. این مسئله هم به صورت تجربی و هم با مدل‌سازی کامپیوتری اثبات شده است (Abdul Ghani et al., 1999; Farid & Abdul Ghani, 2004). به صورت تجربی و تئوری مشخص شده است که در غذاهایی که حرارت در آن‌ها تنها به صورت همرفت منتقل می‌شود،

محل ناحیه کند حرارتی تغییر می‌کند (Abdul Ghani et al., 2002). با پیشرفت زمان حرارت‌دهی ناحیه کند حرارتی به سمت پایین بسته حرکت کرده و در ارتفاع ۳۰٪ تا ۴۰٪ نسبت به کف بسته قرار می‌گیرد. همچنین با پیشرفت زمان حرارت‌دهی دمای یکنواخت‌تری در بسته به وجود می‌آید و نیروهای جابه‌جا کننده سیال کم می‌شود. در نتیجه سرعت جابجایی کم شده و در پایان حرارت دهی جریان چرخشی متوقف می‌شود (Abdul Ghani et al., 1999). برای بررسی ناحیه کند حرارتی و مشخص کردن محل آن، برش‌هایی از سطح $Y=0\text{ cm}$ در مقاطع زمانی مختلف در دو حالت دارای سرفضا و فاقد سرفضا مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۶).



شکل ۴- باقیمانده انرژی در $t = 32\text{ min}$

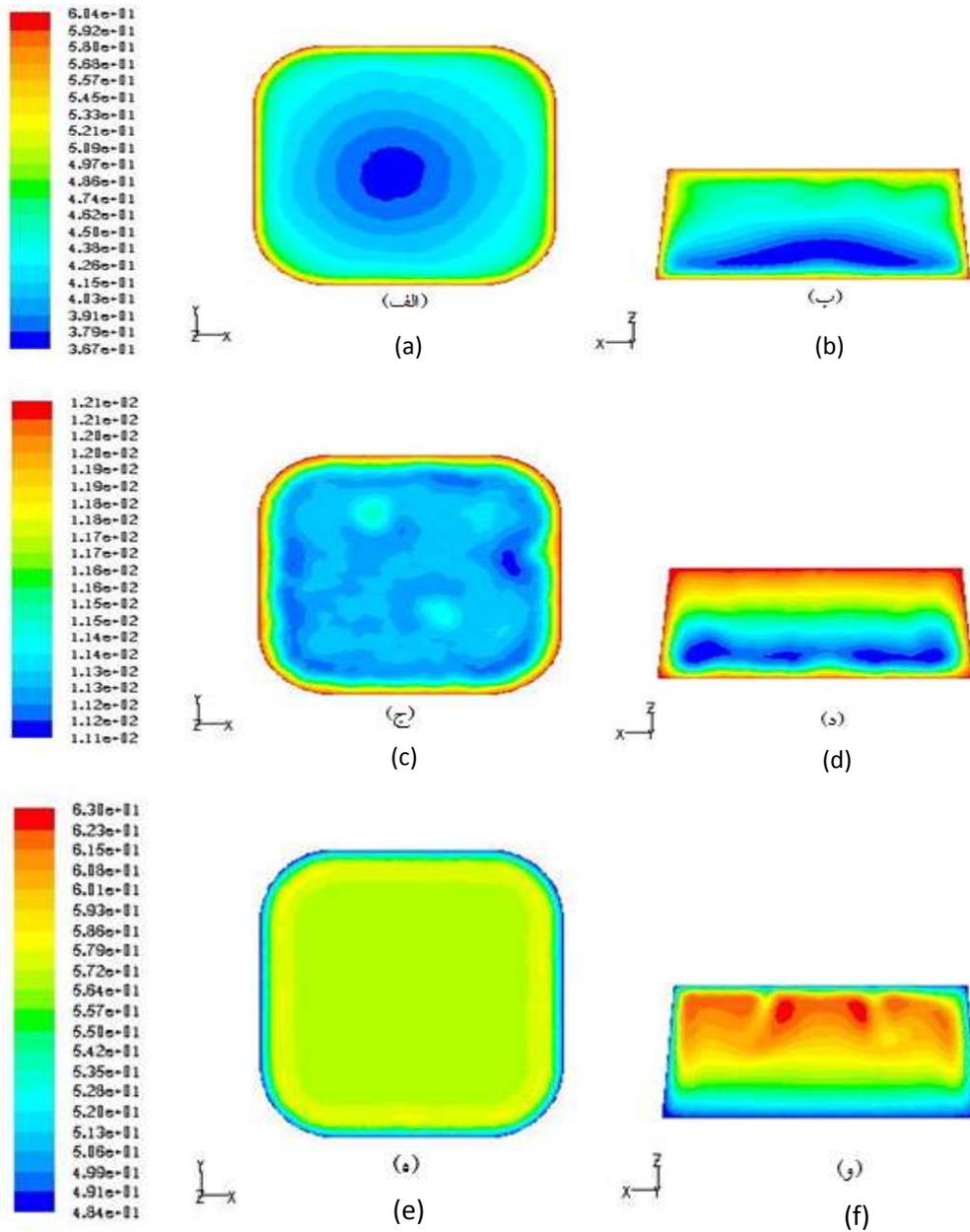
Fig. 4. Energy residuals at $t=32\text{ min}$

طراحی شده کنسرو عصاره مالت دارای سرفضا در پایان مرحله حرارت دهی در محدوده $-3/27\text{ cm} < Z < -3/37\text{ cm}$ ، $-1 < Y < 0/3\text{ cm}$ ، سرفضا در پایان مرحله حرارت‌دهی در محدوده $-3/46 < Z < -3/05\text{ cm}$ ، $-3/48\text{ cm} < Y < 0/48\text{ cm}$ ، حاصل نشان داد ارتفاع ناحیه کند حرارتی در هر دو مدل دارا و فاقد سرفضا دارای مشابهت قابل قبول هستند.

بررسی اطلاعات دما و زمان در مدل عصاره مالت

در شکل ۷ نمودار تغییرات دما- زمان محل قرارگیری ترموکوپل برای مدل شبیه‌سازی شده و مدل تجربی ارائه شده است. همچنین نمودار محاسبات ارزش استریلیزاسیون نسبت به زمان در نقطه انتخابی در مدل پیش‌بینی شده عصاره مالت دارای سرفضا و مقدار آزمایشگاهی در شکل ۸ نشان داده شده است.

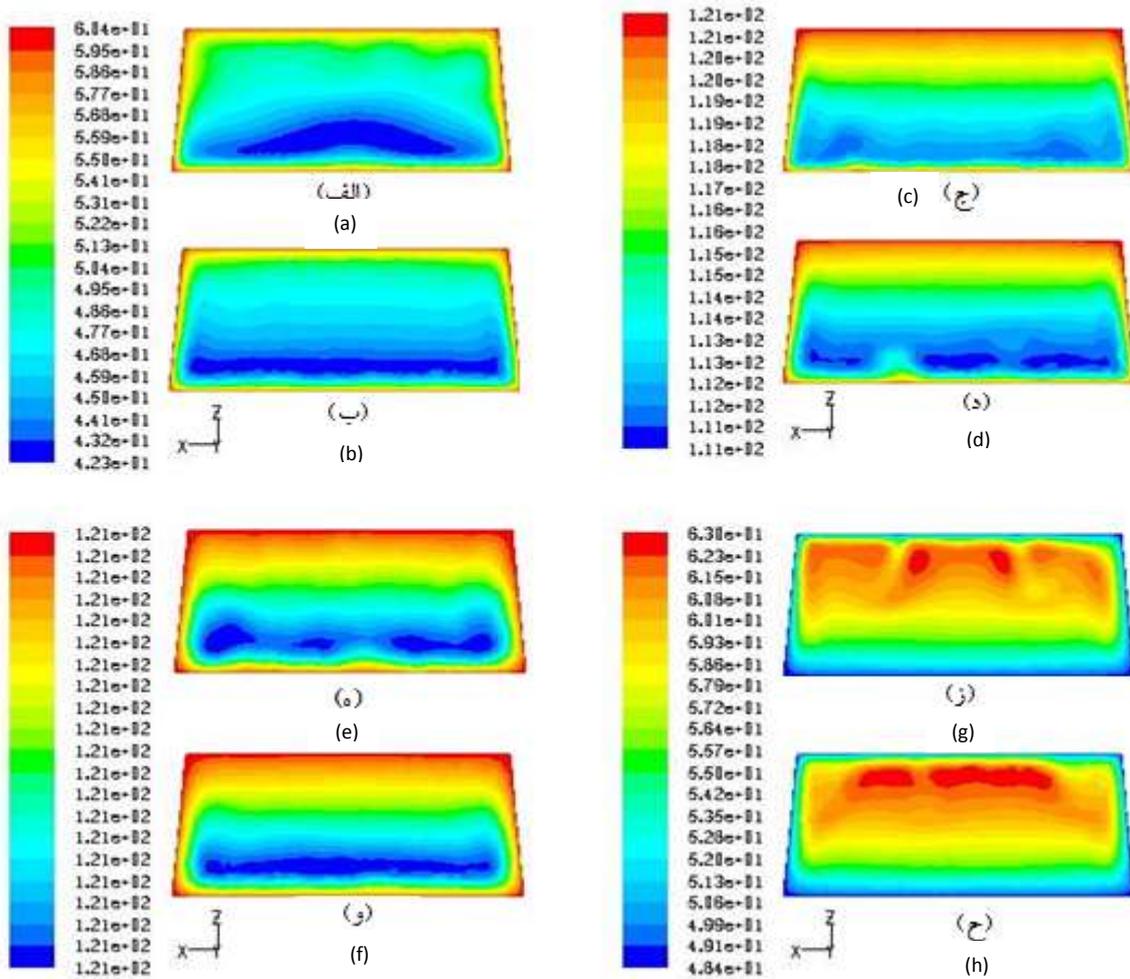
خطوط هم‌دمای مربوطه نشانگر این مطلب بود که اگر چه اندکی تغییر در ارتفاع و شکل محل قرارگیری ناحیه کند حرارتی در هر دو مدل دارا و فاقد سرفضا در مراحل فرآیند گرمایی مشاهده می‌شود اما در تمام مراحل فرآیند گرمایی این ناحیه متمایل به یک سوم انتهایی ظرف بوده و محل آن ثابت است. بجز در مراحل انتهایی فرآیند که این ناحیه متمایل به نیمه بالایی ظرف کنسرو است. در شکل ۵ برش‌هایی از سطح $Z = -2/76\text{ cm}$ نشان داده شد. همانطور که مشاهده می‌شود محل و شکل ناحیه کند حرارتی در سطح $Z = -2/76\text{ cm}$ در طول فرآیند تغییر می‌کند. به طوری که در ابتدای فرآیند حرارتی ناحیه‌ای کوچک نزدیک به مرکز مقطع را شامل می‌شود که این نشانگر غالب بودن هدایت حرارتی در این مرحله از فرآیند است و در انتهای فرآیند حرارتی (مرحله سرد کردن) ناحیه کند حرارتی به دیواره‌های ظرف کنسرو متمایل می‌شود. داده‌های حاصل مربوط به تمامی گره‌ها در پایان مرحله هلدینگ، به صورت فایل اکسل^۱، از نرم‌افزار فلوئنت استخراج شد. نتایج بیانگر این نکته است که ناحیه کند حرارتی مدل



شکل ۵- پروفیل دما در مدل فاقد سر فضا در سطح $Z = -2.76$ cm در (الف) $t = 5$ min، (ج) $t = 32$ min، (ه) $t = 60$ min

و در سطح $Y = 0$ cm در (ب) $t = 5$ min، (د) $t = 32$ min، (و) $t = 60$ min

Fig. 5. Temperature contour in model without head space in $Z = -2.76$ surfaces (a) at $t = 5$ (min); (c) at $t = 32$ (min); (e) at $t = 60$ (min) and in $Y = 0$ surfaces (b) $t = 5$ (min); (d) $t = 32$ (min); (f) $t = 60$ (min)



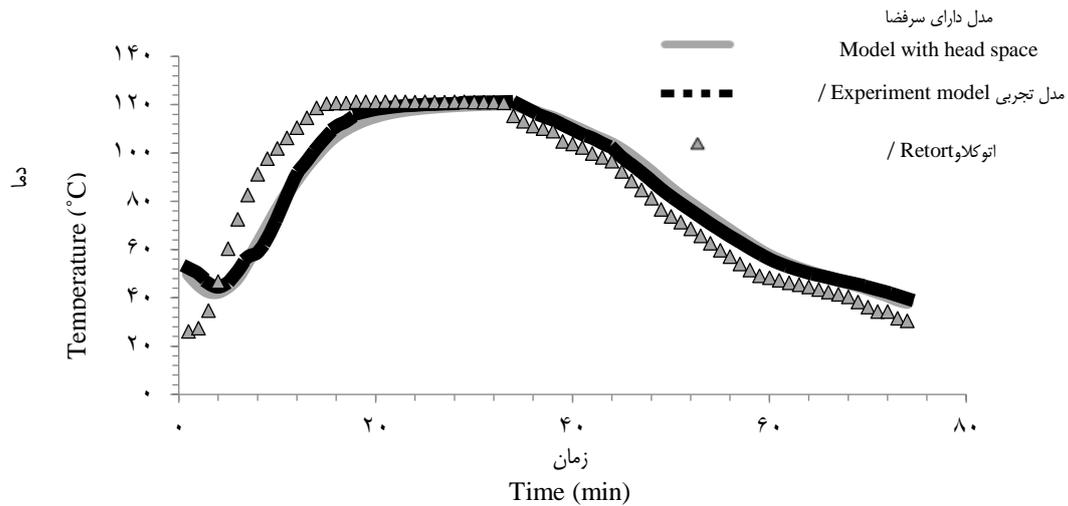
شکل ۶- پروفیل دما در سطح $Y=0$ cm (الف) مدل بدون سرفضا، (ب) مدل با سرفضا در $t=5$ min؛ (ج) مدل بدون سرفضا، (د) مدل با سرفضا در $t=16$ min؛ (ه) مدل بدون سرفضا، (و) مدل با سرفضا در $t=32$ min؛ (ز) مدل بدون سرفضا، (ح) مدل با سرفضا در $t=60$ min

Fig. 6. Temperature contour in $y=0$ surfaces (a) Model without head space (b) Model with head space at $t = 5$ (min); (c) Model without head space (d) Model with head space at $t = 16$ (min); (e) Model without head space (f) Model with head space at $t = 32$ (min); (g) Model without head space (h) Model with head space at $t = 60$ (min)

۹ و ۱۰ ارائه شده است. مقایسه نتایج بدست آمده از مدل دارای سرفضا و مدل فاقد سرفضا نشان داد اختلاف معنی‌دار بین دو مدل طراحی شده در سطح احتمال یک درصد وجود ندارد. اما داده‌های دمایی حاصل از مدل دارای سرفضا مطابقت دقیق‌تری با داده‌های تجربی داشتند. مقدار میانگین ریشه مربعات خطا مربوط به مدل دارای سرفضا در مقایسه با داده‌های تجربی برابر با ۲/۲۱ بود.

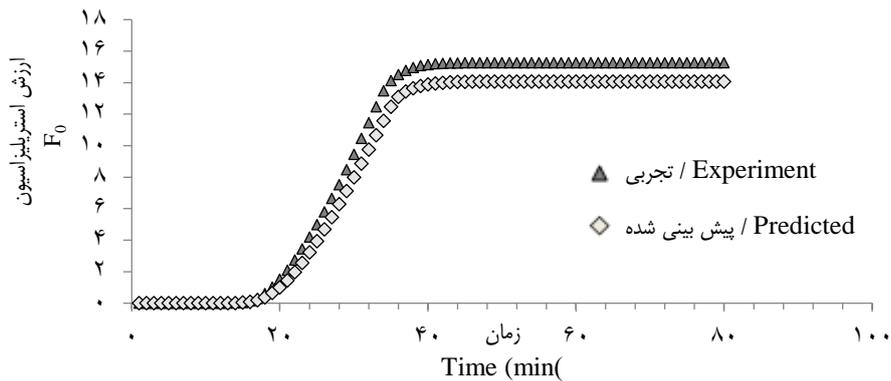
معتبرسازی مدل

معتبرسازی مدل براساس مقایسه میانگین داده‌های حاصل از تکرارهای آزمایشگاهی (از طریق نصب ترموکوپل در داخل ظرف و ثبت اطلاعات دما در طول فرآیند حرارتی به‌دست آمدند) با داده‌های پیش‌بینی شده توسط نرم‌افزار از طریق آزمون t انجام گرفت. نتایج این مقایسه برای مرحله گرم کردن و سرد کردن به‌ترتیب در شکل‌های



شکل ۷- نمودار دما در محل هندسی قرارگیری ترموکوپل در مدل تجربی و مدل شبیه‌سازی شده دارای سرفضا در عصاره مالت و نمودار دما در محیط اتوکلاو

Fig. 7. Predicted and experiment temperature at the sensor position for model with head space and retort temperature



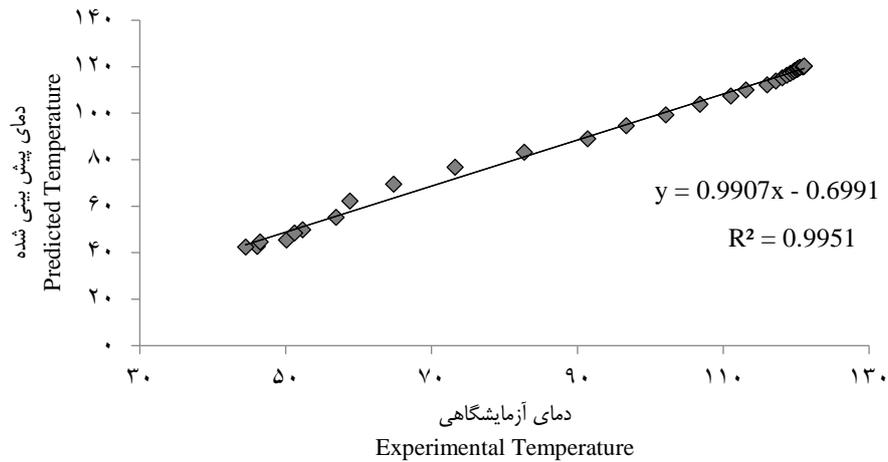
شکل ۸- F_0 در مدل پیش‌بینی شده و تجربی دارای سرفضا

Fig. 8. The F_0 in the predicted and experiment model with headspace

بیش از میزان مورد نیاز برای عصاره مالت بود و با توجه به اینکه میزان F_0 اعمال شده سبب حرارت‌دهی بیش از حد محصول می‌شود بنابراین می‌توان از سیکل‌های حرارتی ملایم‌تر استفاده کرد و زمان حرارت‌دهی را کاهش داد. به‌منظور بهینه‌سازی میزان حرارت‌دهی عصاره مالت، پروفیل حرارتی آن، اصلاح شد. روش گرافیکی سیمپسون^۱ نشان داد با کاهش ۱۱ دقیقه از زمان فرآیند در انتهای مرحله حرارت‌دهی می‌توان به نتیجه مطلوب ($F_0=5/25$) رسید (Simpson et al., 2004; Alonso et al., 2013). شکل ۱۱ نمودار تغییرات دمای محصول طی زمان را در مدل تجربی و مدل اصلاح شده نشان می‌دهد.

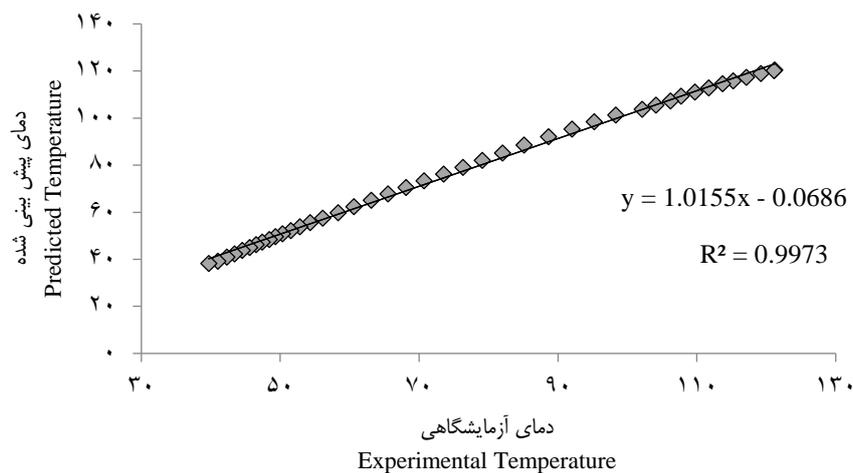
بهینه‌سازی و تصحیح ارزش پاستوریزاسیون

با توجه به عدم وجود F_0 استاندارد برای کنسرو عصاره مالت می‌توان این محصول را با محصولات مشابه به لحاظ ترکیب شیمیایی، بافت و pH مورد مقایسه قرار داد. در این پژوهش میکروارگانیزم کلستریدیوم بوتولینوم به‌عنوان میکروب شاخص در نظر گرفته شد. با توجه به وجود هماهنگی تقریبی بین محتوای شیر تغلیظ شده و ترکیبات عصاره مالت به‌نظر می‌رسد تقریبی برای $F_0=5$ min مناسب باشد (Brennan, 1979). با توجه به اینکه در فرآیند استریلیزاسیون از سیکل‌های حرارتی تعریف شده برای محصولات کارخانه چیکا استفاده شد، میزان F_0 محاسبه شده (۱۵/۲۷)



شکل ۹- دمای پیش‌بینی شده به دمای آزمایشگاهی در مختصات (۰ و ۰ و -۲/۷۶) در مدل دارای سرفضا از آغاز تا پایان مرحله حرارت دهی

Fig. 10. Predicted temperature vs. experimental temperature at (0, 0, -2.76) in model with head space until the end of heating



شکل ۱۰- دمای پیش‌بینی شده به دمای آزمایشگاهی در مختصات (۰ و ۰ و -۲/۷۶) در مدل دارای سرفضا در مرحله خنک کردن

Fig. 10. Predicted temperature vs. experimental temperature at (0, 0, -2.76) in model with head space in the cooling phase

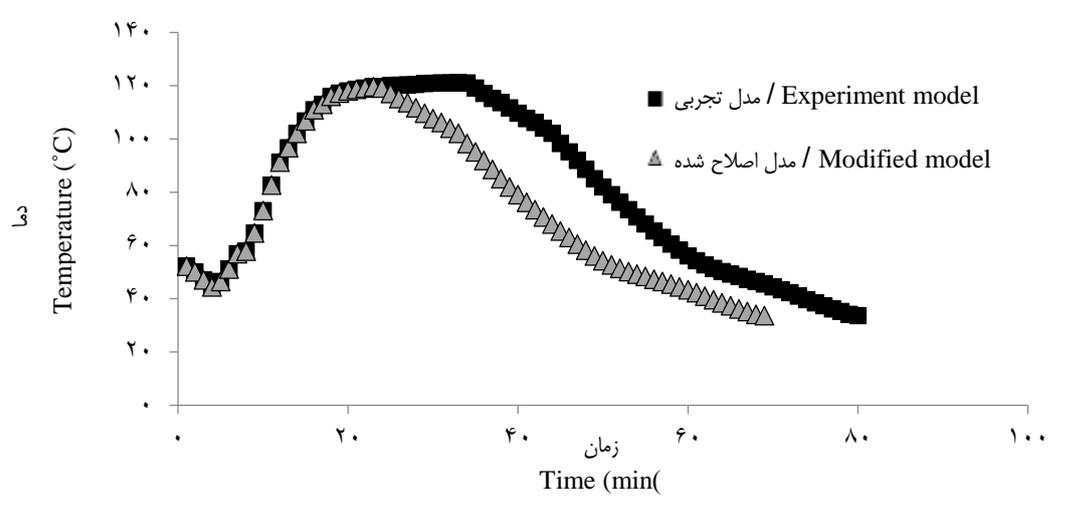
نتیجه‌گیری

حرارتی تخمین زده شد. اطلاعات حاصل بیانگر وجود ناحیه کند حرارتی در یک سوم انتهایی کنسرو و نشانگر وجود جریان‌های جابجایی در محصول بود. با توجه به اینکه ناحیه کند حرارتی دیرتر از سایر نقاط گرم می‌شود لذا در صورت تأمین کشندگی لازم در این ناحیه می‌توان از استریل شدن سایر نقاط اطمینان حاصل کرد. با توجه به میزان F_0 محصولات مشابه و استفاده از روش گرافیکی سیمپسون مقدار F_0 اصلاح شده در ناحیه کند حرارتی در مدل کنسرو عصاره مالت ۵/۲۵ محاسبه شد. این تحقیق برای بهینه‌سازی فرآیند استریلیزاسیون صنعتی

با توجه به اینکه یکی از چالش‌های فرآیند استریلیزاسیون کنسروها، تولید محصولی سالم، ایمن و در عین حال دارای کیفیت تغذیه‌ای مطلوب است، تخمین سرعت انتقال حرارت برای رسیدن به شرایط بهینه فرآیند و حفظ کیفیت محصول ضرورت دارد. همبستگی بالا بین دماهای پیش‌بینی شده و اندازه‌گیری شده، نشانگر کارآمد بودن مدل توسعه داده شده در پیش‌بینی دما در نقاط مختلف کنسرو عصاره مالت بود. همچنین با استفاده از پروفیل‌های دما در مدل، محل ناحیه کند

استریلیزاسیون را پیش‌بینی کرد. با بررسی سرعت انتقال حرارت می-توان موقعیت ناحیه کند حرارتی را پیش‌بینی و مدت زمان لازم برای استریلیزاسیون ناحیه کند حرارتی را محاسبه کرد.

عصاره مالت با توجه به دما و زمان قابل استفاده است و می‌توان با توجه به نوع غذای داخل بسته و ویژگی‌های آن زمان لازم برای



شکل ۱۱- تغییرات دمای عصاره مالت طی زمان در مدل تجربی و مدل اصلاح شده

Fig. 11. Temperature changes of malt syrup during time in the experiment and modified model

References

1. Abdul Ghani, A.G., Farid, M.M., & Chen, X.D. (2002). Numerical simulation of transient temperature and velocity profiles in a horizontal can during sterilization using computational fluid dynamics. *Journal of Food Engineering*, 51(1), 77-83. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(01\)00039-5](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00039-5)
2. Abdul Ghani, A.G., Farid, M.M., & Chen, X.D. (2002). Theoretical and experimental investigation of the thermal inactivation of *Bacillus stearothermophilus* in food pouches. *Journal of Food Engineering*, 51(3), 221-228. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(01\)00060-7](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00060-7)
3. Abdul Ghani, A.G., Farid, M.M., Chen, X.D., & Richards, P. (1999). An investigation of deactivation of bacteria in a canned liquid food during sterilization using computational fluid dynamics (CFD). *Journal of Food Engineering*, 42, 207-214. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(99\)00123-5](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(99)00123-5)
4. Abdul Ghani, A.G., Farid, M.M., Chen, X.D., & Richards, P. (1999). Numerical simulation of natural convection heating of canned food by computational fluid dynamics. *Journal of Food Engineering*, 41, 55-64. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(99\)00073-4](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(99)00073-4)
5. Alonso, A.A., Arias-Mendes, A., Balsa-canto, E., Garsia, M.R., Molinia, J.I., Vilas, C., & Villafin, M. (2013). Real time optimization for quality control of batch thermal Sterilization prepackaged foods. *Food Control*, 32(2), 392-403. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.01.002>
6. Brennan, A. (1979). *Food engineering operations*. Applied Science. London.
7. Cevik, M., & Icier, F. (2021). Numerical simulation of temperature histories of frozen minced meat having different fat contents during ohmic thawing. *International Journal of Thermal Sciences*, 165, 106958. <https://doi.org/10.1016/j.ijthermalsci.2021.106958>
8. Dash, K., Sharma, M., & Tiwari, A. (2022). Heat and mass transfer modeling and quality changes during deep fat frying: A comprehensive review. *Journal of Food Process Engineering*, 45(4). <https://doi.org/10.1111/jfpe.13999>
9. Erdogdu, F., & Tutar, M. (2012). A computational study for axial rotation effects on heat transfer in rotating cans containing liquid water, semi-fluid food system and headspace. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 55, 3774-3788. <https://doi.org/10.1016/j.ijheatmasstransfer.2012.03.031>
10. Fadavi, A., Yousefi, S., Darvishi, H., & Mirsaeedghazi, H. (2018). Comparative study of ohmic vacuum, ohmic, and conventional-vacuum heating methods on the quality of tomato concentrate. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 47, 225-230. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.03.004>
11. Farid, M.M., & Abdul Ghani, A.G. (2004). A new computational technique for the estimation of sterilization time in canned food. *Chemical Engineering and Processing*, 43, 523-53. <https://doi.org/10.1016/j.ccep.2003.08.007>

12. Islamic Republic of Iran ISIRI NUMBER 3897. Barley malt extract specifications and test methods. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. ISLAMIC REPUBLIC OF IRAN.
13. Loews, F.A. (1952). Improvement in anthrone method for determination of carbohydrates. *Analytical Chemistry*, 24(1), 219. <https://doi.org/10.1021/ac60061a050>
14. Mohamed, I.O. (2007). Determination of an effective heat transfer coefficients for can headspace during thermal sterilization process. *Journal of Food Engineering*, 79, 1166-1171. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.04.015>
15. Narsaiah, K., Bedi, V., Ghodki, B., & Goswami, T. (2021). Heat transfer modeling of shrimp in tunnel type individual quick freezing system. *Journal of Food Process Engineering*, 44(11). <https://doi.org/10.1111/jfpe.13838>
16. Nicolai, B.M., Verboven, P., & Scheerlinck, N. (2001). *Food process modeling*. PP 60-81 in: L. M. M. Tijskens and M. L. A. T. M. Hertog. The Modeling of Heat and Mass Transfer. CRC Press., Boca Rayton.
17. Norton T., & Sun, D.W. (2006). Computational fluid dynamics (CFD) – an effective and efficient design and analysis tool for the food industry: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 17(11), 600-620. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.05.004>
18. Razavi, M. A., & Akbari, R. (2012). *Biophysical properties of agricultural & food materials*. Mashhad Ferdowsi University, Mashhad.
19. Sahin, S., & Sumnu, S.G. (2006). *Physical Properties of Foods*. Middle East Technical University. Ankara.
20. Simpson, R., Almonasid, S., & Mitchel, M. (2004). Matyhematical model development, Experimenttal validation and processing optimization: retortable pouches packed with seafood in cone frusum shape. *Journal of Food Engineering*, 63, 153-162. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00294-2](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00294-2)
21. Vatankhah, H., Zamindar, N., & Shahedi Baghekhandan, M. (2015). Heat transfer simulation and retort program adjustment for thermal processing of wheat based Haleem in semi-rigid aluminum containers.



Effect of Using Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* as Free Form and as a Carrier Nanocapsules in Formulation of Tomato Paste and Evaluating Microbial and Qualitative Characteristics of the Product During Storage at Refrigerator

S. Reyhani Poul ¹, S. Yeganeh ^{2*}, Z. Raftani Amiri ³

1- Ph.D Graduate, Department of Processing of Fishery Products, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

2- Professor, Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

3- Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

(*- Corresponding Author Email: s.yeganeh@sanru.ac.ir)

Received: 12.10.2022
Revised: 29.11.2022
Accepted: 18.12.2022
Available Online: 21.12.2022

How to cite this article:

Reyhani Poul, S., Yeganeh, S., & Raftani Amiri, Z. (2024). Effect of using astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* as free form and as a carrier nanocapsules in formulation of tomato paste and evaluating microbial and qualitative characteristics of the product during storage at refrigerator. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 20(1), 101-117. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.79065.1210>

Introduction

Since heat treatments and special standards are not used in the production of traditional (homemade) tomato paste, fungal and bacterial spoilage in the product occurs extensively during storage in the refrigerator (4°C). Astaxanthin extracted from aquatics has antimicrobial activity and color similar to tomato and can probably be effective in preventing spoilage of tomato paste. In addition, astaxanthin has other properties in the field of preventing and controlling diseases and maintaining human health, which justifies its use in food formulations as an enrichment. Since heat, enzyme, acid, etc. treatments are practiced during the production of tomato paste, these factors may change the structure and thus the function of astaxanthin. For this reason, astaxanthin nanoencapsulation is necessary for its use in tomato paste formulation.

Materials and Methods

In this research, first, astaxanthin was extracted from *Haematococcus pluvialis* microalgae using the acid-acetone combined method. Then, this pigment was nanoencapsulated using maltodextrin-sodium caseinate coating and the resulting nanocapsules were used together with the pure form of astaxanthin in the formulation of tomato paste. The research treatments were control, tomato pastes containing 3 and 6% astaxanthin (A and B, respectively) and also 3, 6 and 9% nanocapsules carrying the pigment (C, D and E, respectively). These treatments were kept at refrigerator for 28 days and were evaluated (on days 0, 7, 14, 21 and 28) in terms of the total number of fungi, Howard's number (HMC), pH, fungal flora, total bacteria count, amount of lactic acid bacteria and sensory properties. This research was conducted in a completely randomized design. Data were analyzed by One-way Anova and the difference between the means was evaluated by Duncan's test at 95% confidence level.



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.79065.1210>

Results and Discussion

The results showed that the fungi proliferation, total count and lactic acid bacteria were slower than the control during the storage period in the treatments containing astaxanthin and its carrying nanocapsules, and the minimum number of the mentioned microorganisms and Howard's number were related to treatments D and E ($p>0.05$). Treatments C, B and A were ranked next in this respect ($p<0.05$). The number of fungi in two treatments D and E from day 0 to 28 varied from 128 to 332 cfu/gr. Also, the Howard number of these treatments was recorded from 18 to 34% in the mentioned time period. However, these two indices in the control ranged from 121 to 792 cfu/gr and 18 to 91%, respectively, during the storage period. The count of total bacteria and the amount of lactic acid bacteria in the control on day 28 were equal to 8.9 cfu/gr and 311 mg/kg, respectively, but these two values were recorded in the E and D treatments on the same day, about 4.8 cfu/gr and 110 mg/kg, respectively. Counting the total number of fungi, bacterias and also Howard's number in control and other treatments showed that the effect of nanocapsules carrying astaxanthin on microbial growth and proliferation is significantly greater than pure astaxanthin ($p<0.05$). The pH of the treatments varied from 3.9 to 5.8 during the storage period and the most standardized pH (3.9-4.4) was recorded in C, D and E ($p>0.05$) treatments ($p<0.05$). The pH of two treatments A and B ($p>0.05$) was higher than the three mentioned treatments and lower than the control ($p<0.05$). This finding showed that nanocapsules carrying astaxanthin have a greater effect on controlling the pH of tomato paste than pure astaxanthin during storage at refrigerator ($p<0.05$). The identification of the fungal flora of the treatments on the 28th day confirmed that two genus of *Penicillium* and *Aspergillus* form the main flora of the product. The results of the sensory evaluation of the treatments on day 0 showed that adding astaxanthin and its carrier nanocapsules does not change the color, aroma, taste and texture indicators (subsequently the general acceptance) of tomato paste ($p>0.05$). On the 28th day, the mentioned sensory indices only in the two treatments D and E were not significantly different from the 0 day, but they changed negatively in the other treatments ($p<0.05$).

Conclusion

According to the findings of the present research, astaxanthin extracted from *Haematococcus pluvialis* microalgae has the ability to inhibit fungal and bacterial spoilage and stabilize the sensory properties of tomato paste stored at refrigerator. This properties were improved by adding nanoencapsulated pigment using maltodextrin-sodium caseinate combined coating. Since there were no significant differences between the two treatments containing 6% and 9% of nanocapsules carrying astaxanthin (D and E) in terms of quality indices and microbial spoilage, therefore, the treatment containing 6% nanocapsules is introduced as the optimal treatment.

Keywords: Astaxanthin, Carrier nanocapsules, Maltodextrin, Microbial spoilage, Sensory properties, Tomato paste

مقاله پژوهشی

جلد ۲۰، شماره ۱، فروردین-اردیبهشت ۱۴۰۳، ص. ۱۱۷-۱۰۱

اثر استفاده از آستاگزانتین میکروجلبک هماتوکوکوس پلوویالیس در دو فرم آزاد و نانوکپسول های حامل در فرمولاسیون رب گوجه فرنگی و ارزیابی خصوصیات میکروبی و کیفی محصول طی نگهداری در دمای یخچال

سهیل ریحانی پول^۱ - سکینه یگانه^{۲*} - زینب رفتنی امیری^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۲۷

چکیده

در تحقیق حاضر پس از استخراج و تخلیص آستاگزانتین از میکروجلبک هماتوکوکوس پلوویالیس به روش اسید-استون، از رنگدانه در دو فرم خالص و نانو ریزپوشانی شده با پوشش ترکیبی مالتودکسترین-کازئینات سدیم در فرمولاسیون رب گوجه فرنگی سنتی استفاده و خصوصیات میکروبی و کیفی محصول طی ۲۸ روز نگهداری در دمای یخچال ارزیابی شد. تیمارهای تحقیق عبارت بود از شاهد، رب‌های حاوی ۳ و ۶ درصد آستاگزانتین (به ترتیب A و B) و همچنین ۳، ۶ و ۹ درصد نانوکپسول‌های حامل رنگدانه (به ترتیب C، D و E). نتایج نشان داد که روند تکثیر قارچ‌ها، باکتری‌های کل و لاکتیک‌اسید در طول دوره نگهداری در تیمارهای حاوی آستاگزانتین و نانوکپسول‌های حامل آن نسبت به شاهد کندتر و حداقل تعداد میکروارگانیسم‌های مذکور و همچنین عدد هاوارد مربوط به تیمارهای D و E ($p > 0.05$) بود ($p < 0.05$). شناسایی فلور قارچی تیمارها در روز ۲۸ موید آن بود که دو جنس پنی‌سیلیوم و آسپرژیلوس فلور عمده محصول را تشکیل می‌دهند. کمترین و استانداردترین pH در طول دوره نگهداری در تیمارهای C، D و E ($p > 0.05$) ثبت شد ($p < 0.05$). pH دو تیمار A و B ($p > 0.05$) از سه تیمار مذکور بیشتر و نسبت به شاهد کمتر بود ($p < 0.05$). نتایج ارزیابی حسی تیمارها در روز صفر نشان داد که اضافه کردن آستاگزانتین و نانوکپسول‌های حامل آن، شاخص‌های رنگ، بو، مزه و بافت (متعاقبا پذیرش کلی) رب گوجه فرنگی را تغییر نمی‌دهد ($p > 0.05$). در روز ۲۸، شاخص‌های حسی مذکور فقط در دو تیمار D و E ($p > 0.05$) با روز صفر اختلاف معنی‌داری نداشتند اما در سایر تیمارها به صورت نامطلوب تغییر کردند ($p < 0.05$). بنابر یافته‌های تحقیق حاضر، آستاگزانتین مستخرج از میکروجلبک هماتوکوکوس پلوویالیس توانایی مهار فساد میکروبی و ثبات خواص حسی رب گوجه فرنگی نگهداری شده در دمای یخچال را دارد که این توانایی با نانو ریزپوشانی رنگدانه با پوشش ترکیبی مالتودکسترین-کازئینات سدیم ارتقا می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: آستاگزانتین، خواص حسی، رب گوجه فرنگی، فساد میکروبی، مالتودکسترین، نانوکپسول‌های حامل

۱- دانش آموخته دکتری تخصصی، گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۲- استاد، گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

(* نویسنده مسئول: s.yeganeh@sanru.ac.ir)

۳- استاد، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

مقدمه

رب گوجه‌فرنگی مانند بسیاری از مواد غذایی دیگر به شدت مستعد فساد میکروبی بویژه فساد قارچی است. عوامل مختلفی از جمله چگونگی حمل و نقل، برداشت، تخلیه، شستشوی اولیه، دمای نگهداری، کیفیت گوجه‌فرنگی از نظر سلامت فیزیکی (عدم شکافت) و ... بر میزان و نوع گونه باکتری‌ها و قارچ‌ها در محصول نهایی موثر هستند (Battilani, 1996). مهم‌ترین اثر رشد قارچ‌ها در رب گوجه‌فرنگی، تولید مایکوتوکسین^۱ است. مایکوتوکسین‌ها یا سموم قارچی، ترکیبات آلی هستند که در انتهای فاز رشدی برخی از گونه‌های قارچی تولید و از ۴۰۰ نوع، ۲۰ نوع آن تهدیدی برای سلامت انسان محسوب می‌شوند. مایکوتوکسین‌ها به دلیل مقاومتشان در برابر فرایندهای حرارتی می‌توانند در محصول نهایی حضور داشته باشند (Arasteh, 1992). از جمله مایکوتوکسین‌های مهم، می‌توان به آفلاتوکسین اشاره کرد که از گونه *آسپرژیلوس فلاووس*^۲ تولید می‌شود. *آلترناریا آلترناتا*^۳ گونه قارچی دیگر است که می‌تواند مایکوتوکسین‌هایی نظیر آلترناریول^۴، اسیدتتوآزونیک^۵ و آلترناریول مونومتیل‌اتر^۶ و همچنین متابولیت‌های سمی آلترتوکسین^۷ و آلترتوکسین^۲ را تولید و به این طریق کیفیت محصول و سلامت مصرف‌کنندگان را تهدید کند (Hassan, 1995; Samano, 1980). رشد و حضور گونه‌های قارچی در گوجه‌فرنگی و محصول نهایی صرفاً به تولید مایکوتوکسین محدود نمی‌شود. بلکه قارچ‌ها به طرق مختلف، کیفیت محصول را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهند. غالب قارچ‌ها همزمان با رشد، pH محصول را به صورت قابل ملاحظه-ای افزایش می‌دهند که این عامل نه تنها موجب کاهش کیفیت رب گوجه‌فرنگی می‌شود، بلکه شرایط را برای رشد میکروارگانیسم‌های خطرناک مانند *کلستریدیوم بوتولینوم*^۸ فراهم می‌کند (Huhtanen, 1976). رشد گونه‌های قارچی مختلف مانند *آسپرژیلوس فلاووس* و ژئوتریکوم *کاندیدوم*^۹ موجب کاهش ویتامین C و قندهای محلول در

محصول می‌شود. همچنین برخی از قارچ‌ها مانند *آسپرژیلوس نایجر*^{۱۰} با داشتن آنزیم‌های پکتین‌متیل‌استراز و یا پلی‌گالاکتوروناز موجب تجزیه پکتین به اسید پکتیک و متانول می‌شوند که این عمل موجب کاهش قوام محصول و سینرسیس^{۱۱} می‌شود (Oladiran, 1992). کپک‌ها و مخمرها غالباً در ناحیه سطحی رب گوجه‌فرنگی یافت می‌شوند. در نواحی عمقی‌تر، میکروارگانیسم‌های بی‌هوازی نظیر باکتری‌های لاکتیک‌اسید قادر به رشد و فعالیت هستند. باکتری‌های لاکتیک‌اسید در سطح یا داخل گوجه‌فرنگی‌های ورودی به کارخانه یافت می‌شوند و نشانه فساد محصول نهایی با این باکتری‌ها، ایجاد بویی مشابه با دوغ است (Porretta & Vicini, 1993). گونه اصلی باکتری‌های لاکتیک-اسید عامل فساد در رب گوجه‌فرنگی، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*^{۱۲} است که در اثر فعالیت آن نه تنها بوی محصول به صورت نامطلوب تغییر می‌کند، بلکه مقدار اسیدیتته فرار، اسیدیتته کل، اتانول، استیل‌متیل-کربینول، دی‌استیل، اسیداستیک و اسیدلاکتیک در رب افزایش اما مقدار ماده جامد محلول، ماده جامد کل و pH کاهش می‌یابد (Elhami Rad & Shahidi, 2007). از سایر باکتری‌های عامل فساد در رب گوجه‌فرنگی می‌توان به *باسیلوس‌های مقاوم به اسید* مانند *باسیلوس کوآگولانس*^{۱۳} و *باسیلوس سوبتیلیس*^{۱۴} اشاره کرد که فعالیت آن‌ها موجب افزایش pH، شوری و تلخی محصول می‌شود (Porretta & Vicini, 1993; Hasan, 1995).

امروزه در تولید رب گوجه‌فرنگی صنعتی با استفاده از فرایندهای دمایی خاص، بسته‌بندی استاندارد و ... تا حدی از رشد و تکثیر قارچ‌ها و باکتری‌ها جلوگیری می‌شود و معمولاً محصول نهایی در یک بازه زمانی معقول قابلیت نگهداری در یخچال را دارد. اما در برخی از نقاط کشور، تولید رب خانگی رایج است و تولیدکنندگان این نوع رب گوجه‌فرنگی نه تنها از آن برای مصرف شخصی استفاده می‌کنند بلکه از فروش آن کسب درآمد نیز می‌شود. توجه خریداران و مصرف‌کنندگان رب‌های خانگی هم غالباً مربوط به طعم مطلوب‌تر، ایمنی بیشتر و رنگ

- 1- Mycotoxin
- 2- *Aspergillus flavus*
- 3- *Alternaria alternata*
- 4- Alternariol
- 5- Tenuazonic acid
- 6- Alternariol Monomethyl Ether
- 7- Altertoxin
- 8- *Clostridium botulinum*
- 9- *Geotrichum candidum*
- 10- *Aspergillus niger*
- 11- Syneresis
- 12- *Lactobacillus plantarum*
- 13- *Bacillus coagulans*
- 14- *Bacillus subtilis*

(Yan et al., 2014; Machado et al., 2014). به منظور نانو ریزپوشانی ترکیبات فعال از پوشش‌های مختلفی جهت تشکیل دیواره استفاده می‌شود. این پوشش‌ها معمولاً ساختار پروتئینی، کربوهیدراتی، سلولزی، لیپیدی و ... دارند و از منابع گیاهی، دریایی، حیوانی و میکروبی تهیه می‌شوند. مالتودکسترین از پوشش‌های کربوهیدراتی و از مشتقات نشاسته است که از منابع مختلف نشاسته‌ای مانند سیب‌زمینی، ذرت و گندم تهیه می‌گردد. این ماده به دلیل حلالیت بالا در آب و عدم داشتن بو و رنگ شاخص، از مهم‌ترین مواد پلی ساکاریدی جهت ریزپوشانی کردن مواد محسوب می‌شود. کازئینات سدیم از پوشش‌های پروتئینی و برخلاف کازئین در آب محلول است؛ ضمن اینکه حلالیت آن با بالا رفتن دمای آب افزایش می‌یابد (Yan et al., 2014; Machado et al., 2014; Safari et al., 2022b).

تاکنون در هیچ تحقیق داخلی و بین‌المللی، اثر استفاده از آستاگزانتین و نانوکپسول‌های حامل آن در فرمولاسیون رب گوجه فرنگی بر خصوصیات کیفی و میکروبی محصول ارزیابی نشده است. به همین دلیل محققین در قالب طرح دانشگاهی مرتبط با صنعت، قصد دارند برای نخستین بار چنین پژوهشی را انجام دهند. به این صورت که طی تحقیق، ابتدا رنگدانه آستاگزانتین با استفاده از روش ترکیبی اسید-استون از میکروجلبک هماتوکوکوس پلوویالیس استخراج و (پس از خالص‌سازی) با پوشش ترکیبی مالتودکسترین-کازئینات سدیم نانو ریزپوشانی خواهد شد. نهایتاً از آستاگزانتین در دو فرم خالص و نانو ریزپوشانی شده در فرمولاسیون رب گوجه‌فرنگی استفاده و روند فساد قارچی و باکتریایی و همچنین ویژگی‌های حسی محصول طی دوره نگهداری در دمای یخچال ارزیابی می‌گردد؛ تا در صورت مثبت بودن نتایج، از این محصول (رنگدانه) و تکنیک در مقیاس صنعتی نیز استفاده شود.

مواد و روش‌ها

مواد

پودر خالص میکروجلبک هماتوکوکوس پلوویالیس به صورت فریزدرای شده و با رنگ متمایل به قرمز از شرکت پرتو غذایی آذربان سورنا مازندران تهیه گردید. مالتودکسترین، کازئینات سدیم، محیط سابورد دکستروز آگار^۱، لاکتوفنل کاتن بلو^۲ و محیط پلیت کانت آگار^۳ از شرکت سیگما و سایر مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک خریداری شدند.

باکیفیت‌تر (این نوع رب‌ها) نسبت به رب گوجه‌فرنگی صنعتی است. از آنجا که در تولید رب گوجه‌فرنگی خانگی از تجهیزات استاندارد، ظروف بسته‌بندی بهداشتی و نفوذناپذیر و همچنین تیمارهای دمایی خاصی استفاده نمی‌شود، محصول تولیدشده پس از نگهداری در دمای یخچال بشدت در معرض رشد باکتری‌ها و قارچ‌ها و متعاقباً فساد میکروبی قرار دارد. به همین دلیل استفاده از یک ترکیب ضد میکروبی که مانند محصول، طبیعی و ایمن باشد می‌تواند تا حد زیادی به افزایش ماندگاری این نوع از رب‌ها کمک کند. از جمله ترکیبات آنتی‌اکسیدان و ضد میکروب طبیعی می‌توان به رنگدانه‌های استخراج‌شده از آذربان مانند آستاگزانتین اشاره کرد (Suganya & Asheeba, 2015; Irna et al., 2017; Safari et al., 2022 a,b). آستاگزانتین (C₄₀H₅₂O₄) با وزن مولکولی ۵۹۶/۸ گرم بر مول) رنگدانه‌ای به رنگ قرمز تا صورتی است که از موجودات مختلف از جمله جلبک‌ها، مخمرها، باکتری‌ها، ماهی‌ها و خرچنگ‌های دریایی استخراج می‌شود (Gu et al., 2008). این رنگدانه علاوه بر دارا بودن خاصیت ضد میکروبی (Suganya & Asheeba, 2015; Irna et al., 2017) به عنوان رنگ‌دهنده نیز مطرح است. این ویژگی‌ها در کنار فعالیت ضد سرطانی (Tanaka et al., 1995)، پیشگیری از بیماری قلبی-عروقی و التهابی (Tracy, 1999)، بهبود سلامت چشم (Jacques, 1999)، خاصیت ضد التهابی (Bennedsen et al., 1999)، ضد دیابتی (Uchiyama et al., 2002) و ضد بدخیمی (Palozza et al., 2009)، غنی‌سازی مواد غذایی مختلف از جمله رب گوجه‌فرنگی را با آستاگزانتین توجیه می‌کند. استفاده از آستاگزانتین در مواد غذایی مختلف به عنوان رنگ‌دهنده یا نگهدارنده مستلزم به کارگیری روش حفاظتی مناسب از این رنگدانه است. چرا که طی تولید و نگهداری مواد غذایی استفاده از تیمارهای حرارتی، اسیدی، آنزیمی و همچنین کاربرد یکسری مواد که می‌توانند با آستاگزانتین واکنش دهند و از خاصیت آن بکاهند، احتمالاً موجب کاهش کارایی و عملکرد این رنگدانه می‌گردند. امروزه در صنایع غذایی و دارویی، تکنیک نانو ریزپوشانی، مؤثرترین روش جهت محافظت از ترکیبات فعال غذایی و دارویی مانند اسانس‌ها، پپتیدهای زیست‌فعال (Reyhani Poul & Yeganeh, 2022)، آروما، طعم‌ها و همچنین رنگدانه‌های طبیعی (Safari et al., 2022b) است. طی این فرایند کپسولی اطراف ترکیبات فعال (هسته) ایجاد می‌شود که از آن‌ها در شرایط نامساعد از تغییرات احتمالی محافظت می‌کند. این تکنیک موجب افزایش دوام و بقاء ترکیبات فعال، عدم تأثیر فاکتورهای محیطی نظیر pH، نور و اکسیژن بر آن‌ها و همچنین کنترل رهایش مواد محصور در دیواره و در نتیجه تأثیر بیشتر بر کیفیت ماده غذایی می‌گردد

روش‌ها

استخراج، صابونی‌کردن و خالص‌سازی آستاگزانتین

جهت استخراج آستاگزانتین از پودر خالص میکروجلبلک هماتوکوکوس پلوویالیس (پرتوغذای آبزیان سورنا) و روش ترکیبی اسید-استون (پیش تیمار اولیه با اسیدکلریدریک و سپس استخراج با استون خالص) استفاده شد. به این صورت که ابتدا نمونه‌ها تحت تأثیر پیش تیمار اولیه اسیدکلریدریک قرار گرفته و ۱ میلی‌لیتر از اسید ۴ مولار به ۱۰ میلی‌گرم از پودر هماتوکوکوس اضافه و مخلوط به مدت ۱ ساعت در دمای ۷۰ درجه بن‌ماری قرار داده شد. سوسپانسیون حاصله، سرد شده و به مدت ۵ دقیقه در ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. بعد از سانتریفوژ، نمونه‌ها دو مرتبه با آب مقطر شستشو و مجدداً سانتریفوژ شدند و در نهایت عمل استخراج بر روی رسوب بدست‌آمده با استفاده از استون انجام گرفت. بدین ترتیب که ابتدا ۴ میلی‌لیتر از استون به رسوب اضافه شد و پس از ۱ ساعت هم‌زدن در دمای اتاق، با استفاده از امواج فراصوت (Hilscher UP200، آلمان)، فرآیند سونیکاسیون به مدت ۱۰ دقیقه در فرکانس ۲۰ کیلو هرتز انجام گرفت. بعد از این مرحله، استون حاوی مایع رویی، با سانتریفوژ نمونه‌ها در ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه جمع‌آوری شد (Dong et al., 2014; Sarada et al., 2006; Liu et al., 2018). به‌منظور هیدرولیز یا صابونی‌کردن رنگدانه آستاگزانتین و تبدیل فرم‌های مونواستر و دی‌استر آن به فرم آزاد، از روش دواتی و همکاران (Dewati et al., 2020) با کمی تغییر استفاده گردید. بدین ترتیب که مخلوط حاوی سود ۰/۰۲ نرمال و عصاره حاوی رنگدانه به مدت ۳ ساعت در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد و مکان تاریک قرار داده شد. جهت خالص‌سازی آستاگزانتین از روش یوان و چن (Yuan & Chen, 2000)، کنگ و سیم (Kang & Sim, 2007) و سان و همکاران (Sun et al., 2015) با کمی تغییر استفاده شد. عصاره هیدرولیز شده حاوی آستاگزانتین به نسبت ۱:۱:۱ عصاره/آب مقطر/ان‌هگزان مخلوط شده و با سانتریفوژ در دور ۴۰۰۰g به مدت ۵ دقیقه، فرآیند جداسازی رنگدانه انجام گرفت. بعد از سانتریفوژ، فاز هگزان جمع‌آوری شده و فرآیند جداسازی، تا بی‌رنگ شدن کامل این فاز انجام گرفت. حلال آلی هگزان حاصل از سانتریفوژ با هم ترکیب و با استفاده از آب مقطر تا تنظیم pH در محدوده خنثی شستشو داده شد. در انتهای فرآیند، با استفاده از روتاری در دمای اتاق، حلال پراکنی انجام و سوسپانسیون حاوی رنگدانه، تغلیظ و به ۱۰ میلی‌لیتر کاهش داده شد و جهت تزریق به ستون کروماتوگرافی (Shimatzu، ژاپن) آماده گردید. برای خالص‌سازی آستاگزانتین از روش کروماتوگرافی ستونی استفاده شد. ستون مورد استفاده با استفاده از سیلیکاژل پر شده و بعد از تنظیم پارامترهای مختلف شامل flow rate (۰/۶۵ میلی‌لیتر در دقیقه)، فرکانس (۴۷۶ نانومتر)، دمای ستون (۳۰ درجه سانتی‌گراد)

و میزان تزریق (۲۰ میکرولیتر) و نوع ستون (PDA)، دستگاه جهت تزریق آماده شد. ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه تغلیظ شده حاوی آستاگزانتین (حاوی یک گرم رنگدانه) جهت تزریق آماده گردید. عمل خالص‌سازی در ابتدا با هگزان/استون (نسبت ۷ به ۳ حجمی/حجمی) به مدت ۴۰ دقیقه، سپس با هگزان/ادی کلرومتان/استون (به نسبت ۵ به ۲/۵ به ۱ حجمی-حجمی) انجام شد. عمل خالص‌سازی به مدت ۹۰ دقیقه انجام گردید. حلال‌های جمع‌آوری در مرحله قبل، با استفاده از دستگاه روتاری خارج شده و رنگدانه باقیمانده مجدداً در ۱۰۰ میلی‌لیتر استون ترکیب شد. بعد از این مرحله، چند قطره آب مقطر به حلال اضافه گردید و ترکیب بدست‌آمده به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۴ درجه قرار داده شد تا عمل کریستالیزه‌شدن انجام گیرد. رنگ کریستال‌های تشکیل شده به رنگ قرمز قهوه‌ای بود. فرآیند فوق مجدداً تکرار و در نهایت نمونه جمع‌آوری شده فریز درایر گردید (Sarada et al., 2006; Dong et al., 2014).

نانو ریزپوشانی‌کردن آستاگزانتین

به‌منظور نانو ریزپوشانی آستاگزانتین، از پوشش ترکیبی مالتودکسترین و کازئینات سدیم با نسبت برابر استفاده و نسبت پوشش‌ها به هسته نیز ۴ به ۱ در نظر گرفته شد. ابتدا سوسپانسیون همگنی از مالتودکسترین در آب مقطر (۴ گرم در ۵۰ میلی‌لیتر) تهیه شد. سپس جهت تهیه پوشش دوم، سوسپانسیونی از کازئینات سدیم در آب مقطر (۴ گرم در ۵۰ میلی‌لیتر) ایجاد و با قراردادن بر روی همزن مغناطیسی و دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه، سوسپانسیون همگنی از آن حاصل شد. محلول حاوی کازئینات سدیم (پس از کاهش دما به ۲۵ درجه سانتی‌گراد) به محلول دارای مالتودکسترین اضافه و ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد جهت افزایش جذب آب نگهداری گردید. در مرحله انتهایی، ۲ گرم آستاگزانتین به محلول حاوی پوشش‌ها اضافه و پس از حل شدن آن، جهت تولید نانو کپسول، از دستگاه فراصوت با طول موج ۴۰ کیلوهرتز به مدت ۱۵ دقیقه و تعداد ۶ سیکل (زمان هر سیکل ۳۰ ثانیه و زمان استراحت ۱۵ ثانیه بین سیکل‌ها، دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) استفاده شد. برای کاهش بیشتر اندازه ذرات و افزایش راندمان ذرات نانو کپسوله، از دستگاه همزن‌نایزر با دور بالا (اولتراتوراکس، IKA، ایتالیا) با دور ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه برای مدت ۱۵ دقیقه استفاده گردید. محلول حاصل از فرآیند، در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد منجمد و با استفاده از دستگاه خشک‌کن انجمادی (Vaco 2 Zirbus، آلمان) در فشار ۰/۰۵۱ میلی‌بار و دمای ۵۰- درجه سانتی-گراد خشک گردید (Yan et al., 2014; Machado et al., 2014; Safari et al., 2022b).

ارزیابی خواص فیزیکی نانوکپسول‌های حامل

میانگین سایز ذرات و شاخص توزیع اندازه ذره‌ای پس از رقیق کردن نمونه‌ها به میزان ۱۰ برابر با بافر فسفات نمکی^۱ به روش تفرق نور پویا^۲ با استفاده از دستگاه زتاسایزر (نانوسایزر، ۳۰۰۰، ساخت انگلستان، شرکت Malvern، زاویه ۹۰ درجه و سل مخصوص با عرض ۰/۱ متر) اندازه‌گیری شدند. به منظور اندازه‌گیری پتانسیل زتای سطح محصول، از دستگاه زتاسایزر استفاده شد. در این روش نانوکپسول‌ها با استفاده از ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات (pH=۷/۴) به میزان ۱۰ برابر رقیق شدند. ارزیابی پتانسیل زتا در زاویه ۱۷۳ درجه سانتی‌گراد و طول موج ۶۳۳ نانومتر هلیوم - تنگستن (در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) انجام شد (Hasani et al., 2018). بازده فرآیند نانو ریزپوشانی نیز با استفاده از روش یان و همکاران (Yan et al., 2014) تعیین گردید.

تولید رب گوجه‌فرنگی

تولید رب گوجه‌فرنگی به روش سنتی و خانگی انجام گرفت. به این منظور، ابتدا تمام گوجه‌ها (واریته برنتا) کامل شستشو و پس از

خشک‌شدن به چهار قسمت برش داده شدند و روی آن‌ها نمک پاشیده شد. این گوجه‌ها در ظرف سر بسته به مدت ۲۴ ساعت زیر نور آفتاب قرار گرفتند. در مرحله بعد، گوجه‌ها به آب‌کش بزرگی منتقل و با چنگ زدن، پوست آن‌ها جدا گردید. سپس گوجه‌ها به قابلمه مناسب منتقل و بر روی گاز با شعله مستقیم و کم قرار داده شدند. در این مرحله مرتب رب هم زده شد تا ته نگیرد و نسوزد. به‌طور میانگین ۴ تا ۵ ساعت زمان مناسبی است تا رب به غلظت مناسب برسد (بریکس 33 ± 1) و آب آن کاملاً تبخیر شود. نهایتاً پس از رسیدن رب به غلظت مناسب، روغن مایع و نمک اضافه و پس از مخلوط‌کردن کامل، شعله خاموش شد (میزان روغن و نمک اضافه‌شده به ازای ۴ کیلوگرم گوجه‌فرنگی به ترتیب ۵۰ و ۲۰ گرم بود). پس از خشک‌شدن، محصول به ظروف شیشه‌ای کوچک درب‌دار (با حجم ۳۰۰ میلی‌لیتر) منتقل و آستاگزانتین و نانوکپسول‌های حامل آن با نسبت‌های مطرح‌شده در جدول ۱، به رب گوجه‌فرنگی اضافه شدند. در نهایت ترکیب حاصل به‌صورت کامل هموژن (میکسر هموژنایزر، آراکو) و به مدت یک ماه در دمای یخچال (4 ± 1 درجه سانتی‌گراد) نگهداری گردید.

جدول ۱- تیمارهای تحقیق

Table 1- Research treatments

تیمارها Treatments	محتویات Contents
Control شاهد	Tomato paste without astaxanthin رب گوجه‌فرنگی فاقد آستاگزانتین
A	Tomato paste containing 3% pure astaxanthin رب گوجه‌فرنگی حاوی ۳ درصد آستاگزانتین خالص
B	Tomato paste containing 6% pure astaxanthin رب گوجه‌فرنگی حاوی ۶ درصد آستاگزانتین خالص
C	Tomato paste containing 3% nanocapsules carrying astaxanthin رب گوجه‌فرنگی حاوی ۳ درصد نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین
D	Tomato paste containing 6% nanocapsules carrying astaxanthin رب گوجه‌فرنگی حاوی ۶ درصد نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین
E	Tomato paste containing 9% nanocapsules carrying astaxanthin رب گوجه‌فرنگی حاوی ۹ درصد نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین

جنس قارچ‌ها، شمارش باکتری‌های کل، تعیین میزان باکتری‌های لاکتیک‌اسید و سنجش pH برای تیمارهای تحقیق انجام شد.

شمارش کلی قارچ‌ها و عدد هاوارد

جهت شمارش کلی قارچ‌ها و ارزیابی روند تغییرات آن‌ها از کشت سطحی در محیط سابورد دکستروز آگار و انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ تا ۷ روز استفاده شد (Elhami Rad & Shahidi, 2005). تعیین عدد هاوارد با استفاده از لام مخصوص هاوارد

ارزیابی شاخص‌های فساد میکروبی تیمارهای تحقیق

به‌منظور ارزیابی خصوصیات میکروبی تیمارهای مختلف، نمونه برداری از رب‌های پلمپ پس از بازکردن درب محصول در یخچال در طول دوره نگهداری ۲۸ روزه با فاصله هر ۷ روز انجام شد. جهت نمونه‌برداری، از عمق ۵ سانتی‌متری رب گوجه‌فرنگی (با دو تکرار) استفاده گردید. به‌منظور بررسی بار میکروبی محصول در طول دوره نگهداری، آزمون‌های مختلف شامل شمارش کلی قارچ‌ها، عدد هاوارد^۲، شناسایی

و مشاهده ریشه‌های کپکی در زیر میکروسکوب با بزرگنمایی $\times 90$ انجام گرفت (Samano, 1980).

شناسایی جنس قارچ‌ها

به منظور شناسایی پرگنه‌های قارچی در روز ۲۸ نگهداری، از روش مشاهده با میکروسکوب استفاده گردید. به این صورت که، روی یک لام شیشه‌ای یک قطره محلول رنگی لاکتوفنل کاتن‌بلو ریخته و با آنس حلقوی (در مجاورت شعله)، بخشی از پرگنه قارچ به سطح لام منتقل و حل شد. در مرحله بعد یک لام روی لام قرار گرفت و نمونه‌ها با استفاده از روغن ایمرسیون و عدسی $\times 40$ مشاهده شدند (Elhami Rad & Shahidi, 2005). پس از شناسایی (براساس شکل ظاهری)، پرگنه‌های مربوط به جنس‌های مختلف در کل تیمارها شمارش شدند تا درصد شیوع مربوط به هر جنس مشخص شود. درصد شیوع (فراوانی) هر جنس از قارچ‌ها، به صورت میانگین همه تیمارها در روز ۲۸ گزارش شده است.

شمارش کلی باکتری‌ها و تعیین میزان باکتری‌های لاکتیک-اسید

جهت شمارش کلی باکتری‌ها در رب گوجه‌فرنگی در قالب تیمارهای مختلف، از روش کشت سطحی در محیط پللیت کانت آگار و انکوباسیون در دمای 37°C درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت استفاده گردید و نتایج بر حسب لگاریتم واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم^۱ گزارش شد (Elhami Rad & Shahidi, 2007). همچنین به منظور اندازه‌گیری میزان باکتری‌های لاکتیک‌اسید در تیمارهای تحقیق، از روش ترکیبی آنزیمی-اسپکترومتری و کیت ترکیبی اندازه‌گیری باکتری‌های لاکتیک‌اسید استفاده و میزان این باکتری‌ها بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش گردید (Birboum, 1997).

اندازه‌گیری pH

سنجش pH تیمارهای تحقیق با استفاده از دستگاه pH متر (7110, WTW, Germany) با دقت 0.01 در طول دوره نگهداری انجام شد (Arasteh, 1992).

ارزیابی حسی تیمارها

ارزیابی حسی (خواص حسی شامل رنگ، بو، مزه و بافت) تیمارهای تحقیق توسط جمعی از کارشناسان و فارغ‌التحصیلان رشته صنایع غذایی (متشکل از ۷ مرد و ۵ زن با بازه سنی ۲۸ تا ۳۵ سال) در دو روز صفر و ۲۸ انجام شد (ارزیابان از قبل، آموزش‌های تئوری و عملی لازم

جهت امتیازدهی و تشخیص ویژگی‌های حسی را گذرانده بودند). به منظور ارزیابی حسی تیمارها، از آزمون هدونیک ۹ نقطه‌ای (۹: بسیار مناسب، ۸: تا حدود زیادی مناسب، ۷: مناسب، ۶: نسبتاً مناسب، ۵: نه مناسب و نه نامناسب، ۴: نسبتاً نامناسب، ۳: نامناسب، ۲: تا حدود زیادی نامناسب، ۱: بسیار نامناسب) استفاده گردید (Khaleghi et al., 2013).

تجزیه و تحلیل آماری

پژوهش حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا و به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way Anova) و آزمون دانکن (در سطح اطمینان ۹۵ درصد) استفاده شد. از نرم‌افزار آماری SPSS برای آنالیز داده‌ها و نرم‌افزار EXCEL جهت رسم جداول و اشکال استفاده گردید.

نتایج و بحث

خواص فیزیکی نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین

خواص فیزیکی ترکیبات فعال نانو ریزپوشانی شده، حد و کیفیت عملکرد آن‌ها را تعیین می‌کنند (Reyhani Poul et al., 2022). این خواص عبارتند از میانگین سایز ذرات، شاخص توزیع اندازه ذره‌ای، پتانسیل زتا و بازده ریزپوشانی. در جدول ۲، خواص فیزیکی نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین با پوشش ترکیبی مالتودکسترین-کازئینات سدیم ارائه شده است. مطابق این جدول، میانگین سایز نانوکپسول‌های حامل $269/1$ نانومتر می‌باشد. میانگین سایز نانوکپسول‌های رنگدانه فیکوسیانین با پوششی مشابه تحقیق حاضر (مالتودکسترین-کازئینات سدیم) معادل $397/1$ نانومتر بود (Safari et al., 2022b). شاخص توزیع اندازه ذره‌ای نشان‌دهنده میزان یکنواختی یا غیر یکنواختی سیستم‌های کلئیدی است. مقادیر بالای این شاخص نشان می‌دهد که ذرات بزرگ و غیر یکنواخت در سیستم کلئیدی وجود دارند. میزان این شاخص در تحقیق حاضر حاکی از یکنواختی نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین است. سایر تحقیقاتی که در این زمینه و زمینه‌های مشابه انجام شدند (Ramezanzade et al., 2017; Hasani et al., 2018)، مقادیر تقریباً هم‌سطح با پژوهش حاضر برای شاخص توزیع اندازه ذره‌ای گزارش کرده‌اند. پتانسیل زتا شاخصی جهت سنجش وضعیت الکتریکی سیستم‌های کلئیدی است. کاهش پتانسیل زتا به کمتر از مقدار بحرانی، لایه دوگانه باردار اطراف ذرات را تخریب کرده و موجب تجمع ذرات (توده‌ای شدن) می‌گردد (Hasani et al., 2018). به‌طور کلی ذراتی که پتانسیل زتای آن‌ها بالاتر از $+30$ و یا کمتر از -30 باشد، در بالاترین حد پایداری قرار دارند. پتانسیل زتای سطح نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین در تحقیق حاضر $+46/71$

شمارش کلی قارچ‌ها

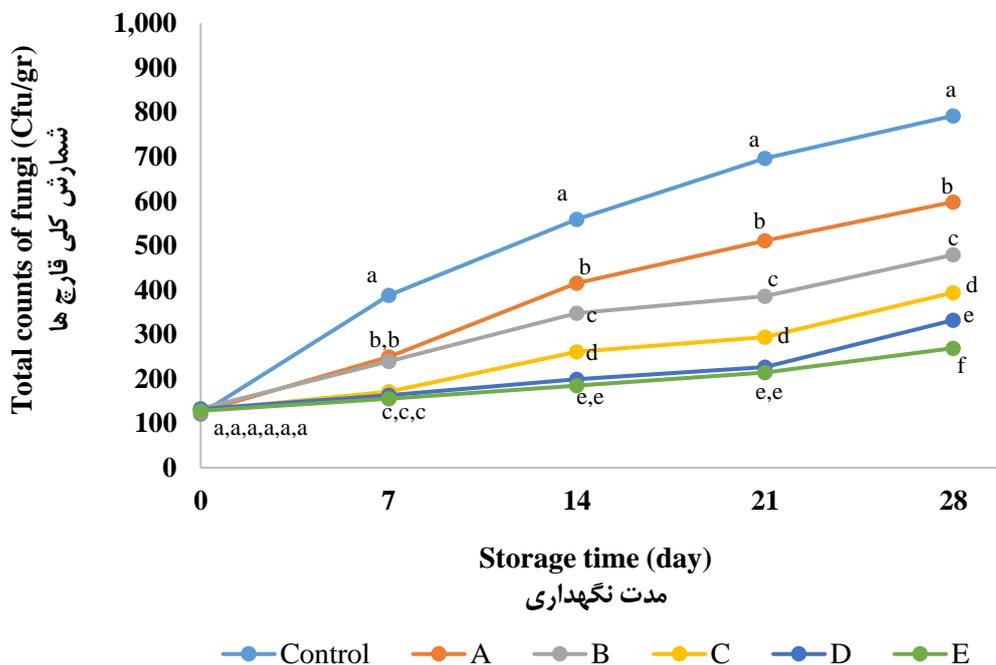
شمارش کلی قارچ‌ها در رب گوجه‌فرنگی، مناسب‌ترین شاخص جهت سنجش فساد قارچی و ارزیابی روند آن است. از آنجا که در تهیه رب‌های سنتی از تیمارهای حرارتی و استانداردهای خاص استفاده نمی‌شود، لذا اسپورهای قارچی ممکن است از ماده اولیه، هوا، ظروف بسته‌بندی و ... به محصول نهایی راه یابند و آن را آلوده کنند (Elhami Rad & Shahidi, 2005). شکل ۱، شمارش کلی قارچ‌ها در رب گوجه‌فرنگی فرموله‌شده با مقادیر مختلف آستاگزانتین و نانوکپسول‌های حامل آن را نشان می‌دهد. همانطور که در این جدول مشاهده می‌شود، در طول دوره نگهداری، کمترین شمارش کلی قارچ‌ها مربوط به تیمارهای E و D ($p > 0.05$) و بیشترین شمارش مربوط به شاهد است ($p < 0.05$). البته اختلاف دو تیمار مذکور در روز ۲۸ معنی‌دار شد و تیمار D از نظر شمارش کلی قارچ‌ها در سطح بالاتری قرار داشت ($p < 0.05$) که این مورد می‌تواند در حد یک خطا و یا استثناء مطرح باشد. تیمارهای A، B و C از نظر شمار کلی قارچ‌ها به ترتیب در مراتب بعدی قرار گرفتند و در طول دوره نگهداری، سطح قارچ‌ها در این تیمارها بیشتر از دو تیمار E و D ($p > 0.05$) و کمتر از شاهد بود ($p < 0.05$).

میلی‌ولت بود که در سطح استاندارد و پایداری قرار دارد. بازده ریزپوشانی یکی از مهم‌ترین شاخص‌های پایداری ترکیبات کپسوله‌شده است؛ زیرا نشان‌دهنده توانایی نانوکپسول در جلوگیری از خروج هسته درونی می‌باشد. این شاخص در تحقیق حاضر ۸۵/۱۹ درصد ثبت شد. بازده ریزپوشانی در تحقیقی که طی آن رنگدانه فیکوسیانین با پوشش ترکیبی مالتودکسترین-کازئینات سدیم و روشی مشابه با پژوهش حاضر نانو ریزپوشانی شد، ۷۳/۴۱ درصد گزارش گردید (Safari et al., 2022b).

جدول ۲- خواص فیزیکی نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین
Table 2- Physical properties of nanocapsules carrying astaxanthin

خواص فیزیکی Physical properties	سطح Level
Average particle size (nm) میانگین سایز ذرات	269.1±3.95
Particle dispersity index شاخص توزیع اندازه ذره‌ای	0.423±1.28
Zeta potential (mv) پتانسیل زتا	+46.71±2.88
Encapsulation efficiency (%) بازده ریزپوشانی	85.19±4.09

خصوصیات میکروبی رب گوجه‌فرنگی فرموله‌شده با مقادیر مختلف آستاگزانتین و نانوکپسول‌های حامل آن



شکل ۱- شمارش کلی قارچ‌ها در تیمارهای تحقیق طی دوره نگهداری (Cfu/g)

حروف متفاوت در هر روز نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است ($p < 0.05$).

Fig. 1. Total counts of fungi in the research treatments during the storage period (Cfu/g)
Different letters in each day indicate significant difference between the data ($p < 0.05$).

ضد قارچی این رنگدانه اشاره شده است. در تحقیقی که فعالیت ضد قارچی آستاگزانتین تولیدشده از مخمر (گونه رودوسیوریوم پالودیزنوم^۱) علیه دو گونه‌های قارچی *کاندیدا آلبیکانس*^۲ و *کاندیدا گلابراتا*^۳ ارزیابی شد، مشخص گردید که این رنگدانه از طریق ایجاد اختلال در غشای سلولی و اندامک میتوکندری باعث نانوادی سلول‌های قارچی می‌شود (Sartaj et al., 2022). البته در برخی از مطالعات، فعالیت ضد قارچی آستاگزانتین تأیید نشد. در تحقیق احمد و همکاران (Ahmed et al., 2022) اگرچه فعالیت ضد باکتریایی آستاگزانتین مستخرج از میکروجلیک همتوکوکوس پلوویالیس علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*^۴، *باسیلوس سوبتیلیس*، *اشریشیاکلی*^۵ و *سودوموناس آئروژینوزا*^۶ تأیید شد اما این رنگدانه قادر به مهار رشد و تکثیر گونه‌های قارچی *آسپرژیلوس فومیگاتوس*^۷ و *کاندیدا آلبیکانس* نبود.

فراوانی جنس‌های قارچی در تیمارها

در شکل ۳، فلور قارچی تیمارهای تحقیق به صورت میانگین در روز ۲۸ نگهداری ارائه شده است. مطابق این شکل، فلور قارچی عمده رب گوجه‌فرنگی (در تیمارهای مختلف) مربوط به گونه‌های کپکی متعلق به جنس *پنی‌سلیوم*^۸ می‌باشد. جنس‌های *آسپرژیلوس*، مخمرها و سایر گونه‌های کپکی به ترتیب در رتبه‌های بعدی جای گرفتند ($p < 0.05$). به‌طور کلی به دلیل مقاومت پائین گونه‌های مخمر به دمای بالا، تعداد آن‌ها در محصول نهایی (رب گوجه‌فرنگی) بسیار کم است (Arasteh, 1992). در پژوهشی که آلودگی قارچی رب گوجه‌فرنگی نگهداری‌شده در دمای صفر درجه سانتی‌گراد (به مدت ۱۸۰ روز) ارزیابی شد، فلور عمده قارچی محصول مربوط به جنس‌های *پنی‌سلیوم* و *آسپرژیلوس* بود (Elhami Rad & Shahidi., 2005) که این یافته مطابق نتایج پژوهش پیش‌رو است. در سایر تحقیقات نیز به وجود این جنس‌ها به‌عنوان فلور غالب رب گوجه‌فرنگی اشاره شده است (Kalyoncu, 2005; Karazhyan et al., 2016). این دو جنس از قارچ‌ها علاوه بر تولید متابولیت‌های سمی نظیر اسیدتوآزونیک، اثر قابل توجهی بر افزایش pH و در نتیجه کاهش کیفیت محصول دارند (Mundt, 1974). به همین دلیل مقابله با رشد این جنس از قارچ‌ها جهت کنترل کیفیت و افزایش ماندگاری رب گوجه‌فرنگی ضروری می‌باشد.

در ابتدای دوره نگهداری (روز ۷)، سه تیمار C، D و E از نظر شمارش کلی قارچ‌ها با یکدیگر اختلاف قابل ملاحظه‌ای نداشتند ($p > 0.05$). وضعیت مشابهی بین دو تیمار A و B در همین روز ثبت شد ($p > 0.05$) که دلیل این موارد احتمالاً رشد کند قارچ‌ها طی بازه زمانی کوتاه نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد است.

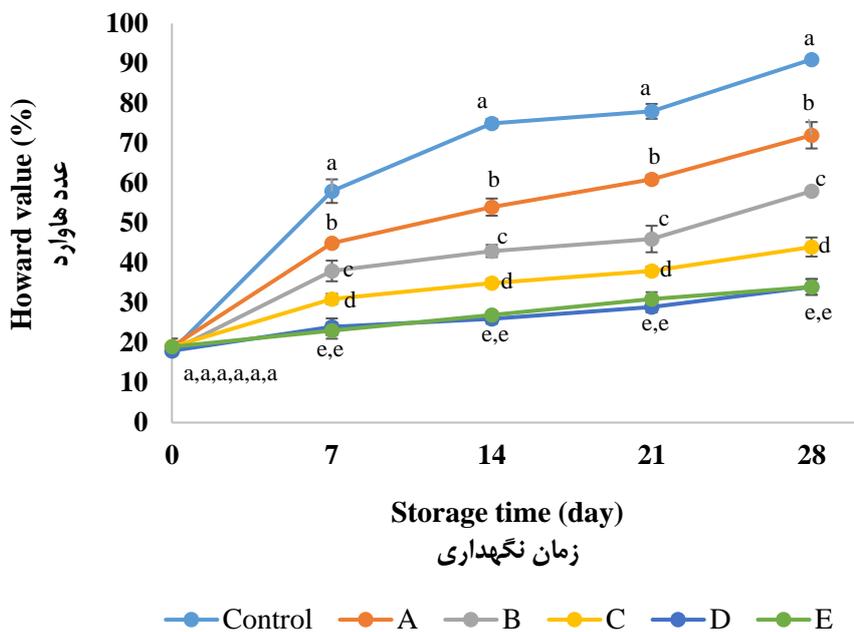
عدد هاوارد

عدد هاوارد یک شاخص و روش مبتنی بر اسلاید و میکروسکوپ است که به منظور کنترل کیفی و میکروبی فرآورده‌های گوجه‌فرنگی از آن استفاده می‌شود. به کمک عدد هاوارد می‌توان کیفیت ماده اولیه، وضعیت بهداشتی و مقدار آلودگی محصول به کپک را تخمین زد. در این روش از یک اسلاید ویژه برای شمارش رشته‌های قارچ استفاده می‌شود. در شکل ۲، عدد هاوارد تیمارهای تحقیق در طول دوره نگهداری ارائه شده است. مطابق این شکل، دو تیمار D و E ضمن عدم اختلاف معنی‌دار در طول دوره ($p > 0.05$)، حداقل عدد هاوارد را نشان دادند ($p < 0.05$). تیمارهای A، B، C و شاهد ضمن داشتن اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$)، به ترتیب در رده‌های بعدی قرار گرفتند ($p < 0.05$). حد مجاز عدد هاوارد براساس استاندارد کشور ۴۰ تا ۶۰ درصد است (Mortazavi & Tabatabaei, 1997). بنابراین همه تیمارهای تحقیق حاضر به غیر از شاهد و تیمار محتوی ۳ درصد آستاگزانتین خالص (A) طی ۲۸ روز در محدود استاندارد از نظر عدد هاوارد قرار داشتند. یافته‌های شمارش تعداد قارچ‌ها و عدد هاوارد نشان داد که آستاگزانتین خالص دارای فعالیت ضد قارچی است. چرا که شمارش کلی قارچ‌ها و عدد هاوارد در تیمارهای حاوی ۳ و ۶ درصد آستاگزانتین خالص، به‌صورت معنی‌داری کمتر از شاهد بود. مطابق نتایج، با نانو ریزپوشانی آستاگزانتین، فعالیت ضد قارچی آن به‌صورت قابل ملاحظه‌ای ارتقا یافت و تیمارهای حاوی نانوکپسول‌های حامل رنگدانه مقادیر کمتری از تعداد قارچ‌ها و عدد هاوارد را نسبت به تیمارهای حاوی آستاگزانتین خالص نشان دادند. همچنین از آنجا که این دو شاخص در تیمارهای حاوی ۶ و ۹ درصد نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین فاقد اختلاف معنی‌دار هستند، بنابراین تیمار دارای ۶ درصد نانوکپسول، تیمار بهینه معرفی می‌شود.

استفاده از آستاگزانتین و نانوکپسول‌های حامل آن در فرمولاسیون رب گوجه‌فرنگی سابقه‌ای ندارد. اما در پاره‌ای از مطالعات به خاصیت

5- *Escherichia coli*
6- *Pseudomonas aeruginosa*
7- *Aspergillus fumigatus*
8- *Penicillium*

1- *Rhodosporidium paludigenum*
2- *Candida albicans*
3- *Candida glabrata*
4- *Staphylococcus aureus*

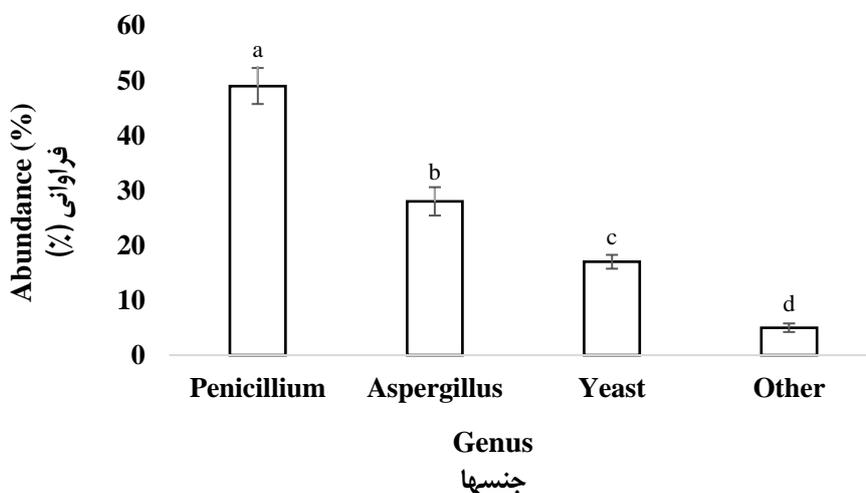


شکل ۲- عدد هاوارد تیمارهای تحقیق در طول دوره نگهداری (%)

حروف متفاوت در هر روز نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین داده‌ها است ($p < 0.05$).

Fig. 2. Howard value of the research treatments during the storage period (%)

Different letters in each day indicate significant difference between the data ($p < 0.05$).



شکل ۳- میانگین فراوانی جنس‌های قارچی تیمارهای تحقیق در روز ۲۸ نگهداری (%)

حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین داده‌ها است ($p < 0.05$).

Fig. 3. Average abundance of fungal genus of research treatments on the 28th day of storage (%)

Different letters indicate significant difference between the data ($p < 0.05$).

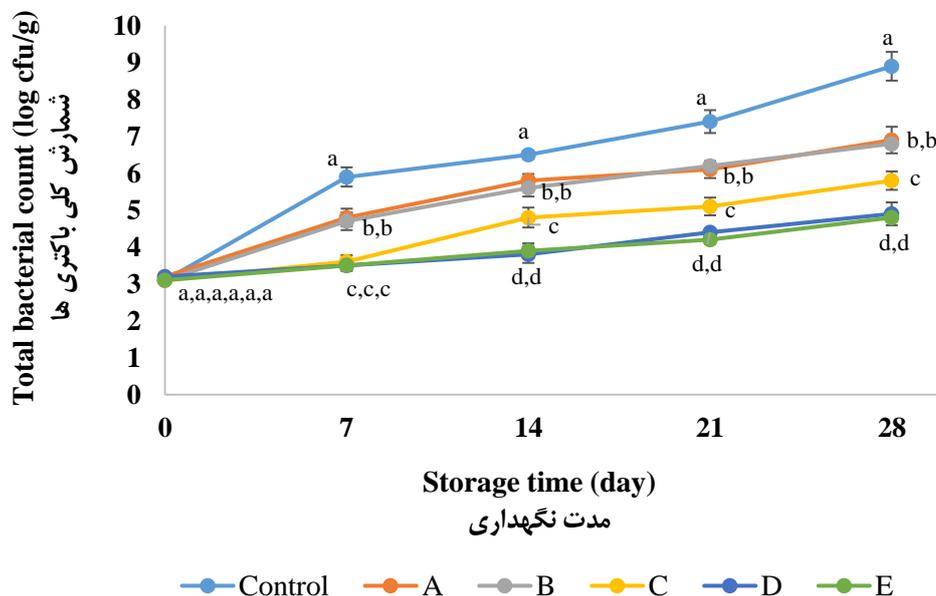
حداقل آن مربوط به تیمارهای D و E ($p > 0.05$) است ($p < 0.05$). تیمار C تا روز هفت با دو تیمار مذکور اختلاف قابل ملاحظه‌ای نداشت ($p > 0.05$) اما با گذشت زمان مقادیر بیشتری از باکتری‌های کل را نشان داد ($p < 0.05$). تیمارهای A و B نسبت به تیمار C از

شمارش کلی باکتری‌ها

شکل ۴ شمارش کلی باکتری‌ها را در تیمارهای تحقیق نشان می‌دهد. مطابق این شکل حداکثر شمارش باکتری‌ها مربوط به شاهد و

برای تیمارهای D و E حدود ۴/۸، در تیمار C، ۵/۸ و برای تیمارهای A و B برابر با ۶/۹ لگاریتم واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم ثبت شد.

نظر باکتری‌های کل در سطح بالاتری قرار داشتند ($p < 0.05$). حداکثر شمارش باکتری‌های کل (روز ۲۸) در شاهد معادل ۸/۹ لگاریتم واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم بود ($p < 0.05$). این میزان در همین روز



شکل ۴- شمارش کلی باکتری‌ها در تیمارهای تحقیق طی دوره نگهداری (Log cfu/g) حروف متفاوت در هر روز نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است ($p < 0.05$).

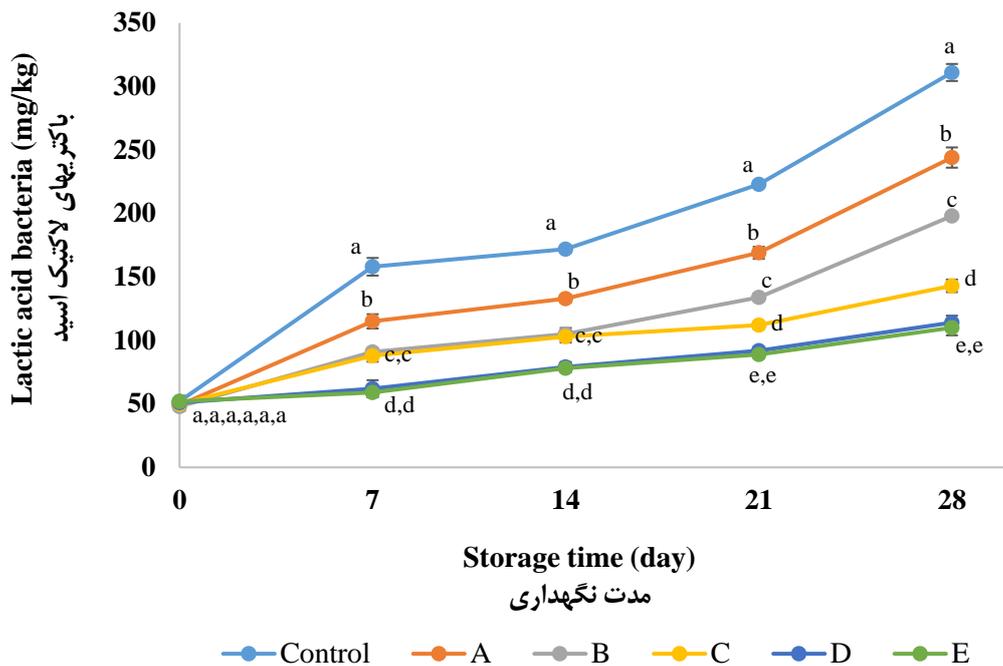
Fig. 4. Total counts of bacteria in the research treatments during the storage period (Log cfu/g) Different letters in each day indicate a significant difference between the data ($p < 0.05$).

کارایی و قدرت فرم نانو ریزپوشانی شده در این زمینه بیشتر از فرم خالص است. چرا که مطابق یافته‌ها، سطح شمارش باکتری‌های کل و لاکتیک‌اسید در تیمارهای حاوی نانوکپسول‌های حامل به صورت قابل ملاحظه‌ای کمتر از تیمارهای دارای آستاگزانتین خالص بود. از آنجا که دو تیمار حاوی ۶ و ۹ درصد نانوکپسول، از نظر سطوح باکتری‌های کل و لاکتیک‌اسید، فاقد اختلاف معنی‌دار هستند، بنابراین تیمار ۶ درصد، تیمار بهینه می‌باشد. حد مجاز میزان باکتری‌های لاکتیک‌اسید در مواد غذایی، ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم است (Porretta & Vicini, 1993). در تیمارهای تحقیق حاضر، فقط شاهد از این حد عبور کرده است اما وجود آستاگزانتین و نانوکپسول‌های حامل آن در سایر تیمارها، مانع از تجمع بیش از حد باکتری‌های لاکتیک‌اسید در رب گوجه‌فرنگی شده است که این مورد به توانایی بالای رنگدانه در مهار فساد باکتریایی اشاره دارد. تاکنون تحقیقی پیرامون استفاده از آستاگزانتین و نانوکپسول‌های حامل آن به‌عنوان ترکیب ضد باکتری در فرمولاسیون رب گوجه‌فرنگی ثبت نشده است

باکتری‌های لاکتیک‌اسید

در شکل ۵ میزان باکتری‌های لاکتیک‌اسید در رب گوجه‌فرنگی در قالب شش تیمار شاهد و فرموله‌شده با آستاگزانتین و نانوکپسول‌های حامل آن ارائه شده است. همانطور که در این شکل مشاهده می‌شود، تیمارهای D و E ($p > 0.05$) در طول دوره نگهداری محتوی حداقل میزان باکتری‌های لاکتیک‌اسید هستند؛ به این صورت که در روز ۲۸ میزان باکتری‌های مذکور در این دو تیمار حدوداً ۱۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. دو تیمار B و C ضمن عدم اختلاف معنی‌دار تا روز ۱۴ ($p > 0.05$)، حاوی مقادیر بیشتری از باکتری‌های مذکور نسبت به تیمارهای D و E بودند ($p < 0.05$). تیمارهای A و شاهد به‌ترتیب در مراتب بعد قرار گرفتند ($p < 0.05$). میزان باکتری‌های لاکتیک‌اسید در شاهد در روز ۲۸ معادل ۳۱۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود.

نتایج بخش شمارش باکتریایی تیمارهای تحقیق حاکی از آن است که آستاگزانتین در فرم خالص و نانو ریزپوشانی‌شده (نانوکپسول‌های حامل)، قابلیت مقابله با رشد و تکثیر سلول‌های باکتریایی را دارد اما



شکل ۵- میزان باکتری‌های لاکتیک‌اسید در تیمارهای تحقیق طی دوره نگهداری (میلی‌گرم بر کیلوگرم) حروف متفاوت در هر روز نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است ($p < 0.05$).

Fig. 5. Amount of lactic acid bacteria in the research treatments during the storage period (mg/kg) Different letters in each day indicate significant difference between the data ($p < 0.05$).

پایداری میکروبیولوژیکی استیک مرغ را در طول زمان نگهداری بهبود بخشد. تحقیقات مختلفی نیز فعالیت ضد باکتریایی آستاگزانتین را ارزیابی و نتایج مثبتی گزارش کردند. یافته‌های پژوهش و همکاران (Irna et al., 2017) در زمینه فعالیت ضد باکتریایی (قطر هاله عدم رشد) آستاگزانتین استخراج‌شده از میگو^۵ (با دو روش شیمیایی و فشار بالا) نشان داد که این رنگدانه قادر به مهار رشد و تکثیر باکتری‌های اشریشیاکلی، انتروباکتر ائروژنز^۶، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس است. در تحقیق دیگری، رنگدانه آستاگزانتین با استفاده از روش حلال استون از سه گونه خرچنگ^۷ استخراج و فعالیت ضد باکتریایی آن علیه باکتری اشریشیاکلی ایزوله‌شده از شیر و گوشت فاسد بررسی شد. یافته‌ها حاکی از قابلیت مطلوب رنگدانه در مقابله با باکتری مذکور بود. به گونه‌ای که قطر هاله عدم رشد در غلظت‌های ۳۰ و ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از حدود ۵ تا ۱۲ میلی‌متر متغیر گزارش شد (Suganya & Asheeba, 2015).

pH

اما در پژوهش‌های بسیار محدودی به قابلیت آستاگزانتین جهت مقابله با فساد میکروبی و افزایش ماندگاری مواد غذایی مختلف اشاره شده است. طی تحقیقی از غلظت‌های مختلف تیمول و آستاگزانتین به عنوان جایگزین نیتريت در فرمولاسیون سوسیس پروبیوتیک استفاده شد. نتایج نشان داد که ترکیب این دو ماده در طول نگهداری سوسیس در دمای یخچال به مدت ۴۵ روز موجب کاهش باکتری‌های لاکتیک اسید و گونه کلاستریدیوم پرفرنژس^۱ می‌گردد (Mohamma dpourfard et al., 2021) که این نتیجه با یافته‌های پژوهش حاضر مطابقت دارد. در پژوهش عبدالملک و همکاران (Abdelmalek et al., 2016) از آستاگزانتین استخراج‌شده از ضایعات میگو^۲ به منظور افزایش زمان ماندگاری استیک مرغ در دمای یخچال استفاده شد. یافته‌های پژوهش مذکور مؤید آن بود که تیمار دارای آستاگزانتین نسبت به شاهد در مهار باکتری کل^۳، سرماگراها، کلیفرم مدفوعی^۴، استافیلوکوکوس و سالمونلا اثرگذاری بیشتری داشت و شمارش باکتری‌های مذکور به صورت معنی‌داری در این تیمار کمتر بود. این پژوهشگران عنوان کردند که افزودن آستاگزانتین طبیعی می‌تواند

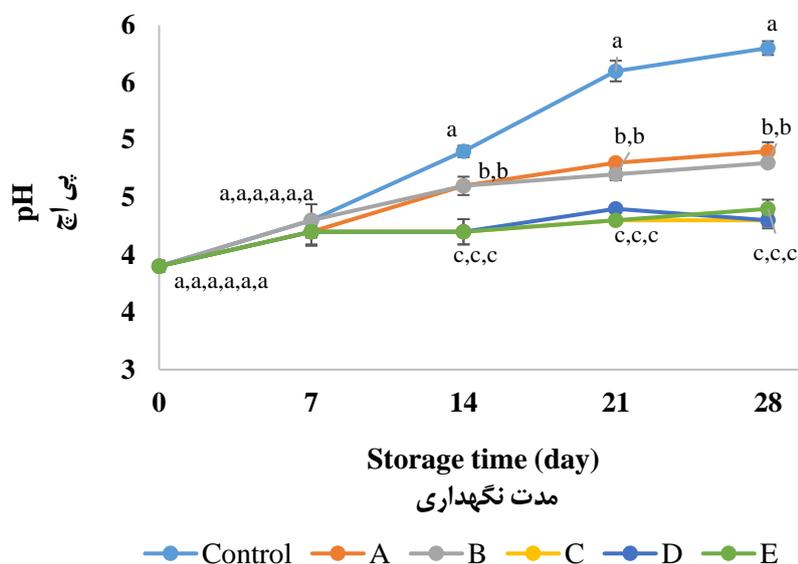
5- *Penaeus monodon*
6- *Enterobacter aerogenes*
7 - *Portunus sanguinolentus*, *Callinectes sapidus*, *Paralithodes brevipes*

1- *Clostridium perfringens*
2- *Parapenaeus longirostris*
3- Total flora
4- Fecal coliform

pH در طول دوره نگهداری در تیمارها احتمالا به دلیل رشد و تکثیر جنس‌های قارچی در رب گوجه‌فرنگی است. مخمرها و کپک‌ها از اسیدهای آلی به‌عنوان منبع کربن استفاده می‌کنند. همچنین ازت این میکروارگانیسم‌ها جهت رشد و تکثیر از اسیدهای آمینه تامین می‌شود. در نتیجه این فعل و انفعالات، یون آمونیوم آزاد و موجب افزایش pH رب گوجه‌فرنگی می‌گردد (Uylaser & Basoglu, 1997). عامل دیگری که می‌تواند افزایش pH رب گوجه‌فرنگی را در طول زمان توجیه کند، واکنش‌هایی هستند که موجب تخریب و تجزیه اسیدسیتریک می‌شوند (Oladiran, 1992). لازم به ذکر است که در بین تیمارهای تحقیق، سه تیمار C، D و E نزدیک‌ترین pH را به pH استاندارد رب گوجه‌فرنگی (حدود ۴) دارند. pH تیمارهای مذکور در طول دوره نگهداری از ۳/۹ تا ۴/۴ متغیر بود.

از شاخص‌های مهم ارزیابی روند فساد (میکروبی و اکسیداتیو) مواد غذایی، اندازه‌گیری pH است. شکل ۶، تغییرات pH تیمارهای تحقیق را در طول مدت نگهداری نشان می‌دهد. همانطور که در این شکل مشاهده می‌شود، طی مدت نگهداری تیمارها در دمای یخچال، حداقل pH در سه تیمار C، D و E ($p > 0.05$) و حداکثر آن در شاهد ثبت شد ($p < 0.05$). دو تیمار A و B ضمن عدم اختلاف معنی‌دار ($p > 0.05$)، دارای میزان pH بیشتر از تیمارهای C، D و E و کمتر از شاهد بودند ($p < 0.05$). لازم به ذکر است که شاهد و پنج تیمار فرموله‌شده با آستاگزانتین و نانوکپسول‌های حامل آن تا روز ۷ دارای میزان pH تقریبا یکسانی بودند ($p > 0.05$).

مطابق شکل ۶، سه تیمار C، D و E در طول دوره نگهداری دارای pH تقریبا ثابتی هستند. همچنین روند تغییرات pH در دو تیمار A و B دارای شیب کم و در شاهد با شیب بیشتری ثبت شده است. افزایش



شکل ۶- pH تیمارهای تحقیق در طول دوره نگهداری

حروف متفاوت در هر روز نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است ($p < 0.05$).

Fig. 6. PH of the research treatments during the storage period
Different letters in each day indicate significant difference between the data ($p < 0.05$).

مانند اما در سایر تیمارها با گذشت ۲۸ روز، شاخص‌های حسی (به غیر از بافت) و متعاقبا پذیرش کلی تیمارها به‌صورت منفی و معنی‌دار تغییر کردند ($p < 0.05$). این یافته موید آن است نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین از طریق مقابله با رشد و تکثیر عوامل آلوده‌کننده میکروبی در رب گوجه‌فرنگی به حفظ شاخص‌های حسی طی یک ماه نگهداری در دمای یخچال کمک می‌کنند. با وجود اینکه (مطابق یافته‌ها) تیمارهای حاوی آستاگزانتین خالص قابلیت مقابله با فساد میکروبی را نسبت به شاهد داشتند اما در ارزیابی حسی، نتایج به گونه‌ای دیگر ثبت

ارزیابی حسی تیمارهای تحقیق

نتایج ارزیابی حسی تیمارهای تحقیق (در دو روز صفر و ۲۸) در جدول ۳ ارائه شده است. همانطور که در این جدول مشاهده می‌شود، هر چهار شاخص رنگ، بو، مزه و بافت تیمارهای تحقیق در روز صفر از نظر امتیازهای کسب‌شده و متعاقبا پذیرش کلی تقریبا یکسان و فاقد اختلاف معنی‌دار هستند ($p > 0.05$). مقایسه امتیازهای شاخص‌های حسی در روزهای صفر و ۲۸ نشان داد که این شاخص‌ها (به همراه پذیرش کلی) فقط در دو تیمار D و E در طول دوره نگهداری ثابت

و E، کیفیت رنگ محصول در سایر تیمارها از نظر ارزیابان با گذشت ۲۸ روز به صورت چشمگیری کاهش یافت که این یافته نیز مؤید برتری نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین نسبت به آستاگزانتین خالص در حفظ رنگ رب گوجه‌فرنگی طی دوره نگهداری در یخچال می‌باشد. همانطور که در بالا عنوان شد، احتمالاً مکانیسم نانوکپسول‌ها جهت حفظ رنگ مربوط به فعالیت ضد میکروبی آن‌هاست.

شد. به این صورت که از کیفیت این تیمارها با گذشت زمان کاسته شد؛ گرچه شیب کاهش کیفیت خواص حسی با افزایش غلظت آستاگزانتین از صفر (شاهد) تا ۶ درصد، کمتر شد. برخلاف تصور و فرض اولیه که گمان می‌شد اضافه کردن آستاگزانتین (در هر دو فرم) به رب گوجه‌فرنگی به بهبود و یا تغییر رنگ محصول منجر می‌شود، چنین نتیجه‌ای ثبت نشد و از نظر ارزیابان رنگ محصول در شاهد و تیمارهای فرموله شده در روز صفر اختلاف قابل ملاحظه‌ای نداشت. برخلاف دو تیمار D

جدول ۳- ارزیابی حسی تیمارهای تحقیق در روزهای صفر و ۲۸
Table 3- Sensory evaluation of research treatments on days 0 and 28

تیمارها/شاخص‌ها Treatments/indices	زمان Time (day)	رنگ Color	بو Aroma	مزه Taste	بافت Texture	پذیرش کلی General acceptance
Control	0	7.89±0.12 ^a	6.32±0.29 ^a	7.19±0.95 ^a	7.38±1.14 ^a	7.19±0.81 ^a
شاهد	28	3.51±0.1 ^d	2.86±0.18 ^d	3.92±0.09 ^d	7.35±0.83 ^a	4.41±0.1 ^d
A	0	7.86±0.39 ^a	6.39±0.86 ^a	7.26±0.96 ^a	7.45±1.03 ^a	7.24±1.05 ^a
	28	3.62±0.07 ^d	2.92±0.15 ^d	3.83±0.11 ^d	7.53±0.56 ^a	4.47±0.04 ^d
B	0	7.91±0.51 ^a	6.33±0.19 ^a	7.2±1.08 ^a	7.41±0.93 ^a	7.21±0.38 ^a
	28	4.78±0.09 ^c	3.71±0.04 ^c	4.69±0.1 ^c	7.46±1.18 ^a	5.16±0.03 ^c
C	0	7.84±0.55 ^a	6.41±0.82 ^a	7.23±0.79 ^a	7.51±1.32 ^a	7.24±0.88 ^a
	28	6.12±0.2 ^b	5.05±0.52 ^b	5.98±0.08 ^b	7.44±1.26 ^a	6.14±0.05 ^b
D	0	7.92±0.48 ^a	6.38±0.73 ^a	7.18±0.15 ^a	7.42±0.84 ^a	7.23±0.69 ^a
	28	7.75±0.64 ^a	6.33±0.4 ^a	7.09±0.76 ^a	7.49±1.15 ^a	7.16±0.31 ^a
E	0	7.88±0.84 ^a	6.34±0.12 ^a	7.18±0.53 ^a	7.43±1.08 ^a	7.2±0.18 ^a
	28	7.87±0.39 ^a	6.42±0.25 ^a	7.21±0.19 ^a	7.52±0.96 ^a	7.26±0.78 ^a

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است ($p < 0.05$).

Different letters in each column indicate significant difference between the data ($p < 0.05$).

تولید رب گوجه‌فرنگی نیز استفاده و خصوصیات کیفی و میکروبی محصول طی دوره نگهداری در دماهای مختلف (۴ و ۱۸- درجه سانتی‌گراد) بررسی شود. پیشنهاد دیگر مربوط به تغییر پوشش نانوکپسول‌ها است؛ به این صورت که از یک ترکیب ضد میکروب مانند کیتوزان به عنوان جایگزین مالتودکسترین در پوشش استفاده و فعالیت ضد میکروبی نانوکپسول‌های حامل رنگدانه با پوشش ترکیبی کیتوزان-کازئینات سدیم در فرمولاسیون رب گوجه‌فرنگی ارزیابی گردد.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تحت قرارداد با شماره ۰۳-۱۴۰۱-۰۳ انجام شد که به این وسیله سپاسگزاری می‌شود.

نتیجه‌گیری

آستاگزانتین استخراج‌شده از میکروجلبک هماتوکوکوس پلوویالیس با استفاده از روش ترکیبی اسید-استون قابلیت مهار فساد قارچی و باکتریایی رب گوجه‌فرنگی سنتی نگهداری‌شده در دمای یخچال را در بازه زمانی یک ماهه دارد. این قابلیت رنگدانه مستخرج با نانوریزپوشانی آن با استفاده از پوشش ترکیبی مالتودکسترین-کازئینات سدیم به صورت قابل توجهی ارتقا می‌یابد. استفاده از آستاگزانتین با مقادیر ۳ و ۶ درصد فرم خالص و همچنین ۳، ۶ و ۹ درصد نانوکپسول‌های حامل در فرمولاسیون رب گوجه‌فرنگی نشان داد که تیمار حاوی ۶ درصد نانوکپسول‌های حامل آستاگزانتین به‌منظور مهار رشد میکروب‌ها و حفظ خصوصیات کیفی و حسی محصول طی دوره نگهداری در دمای یخچال بهینه است. با توجه به مثبت بودن نتایج این تحقیق، پیشنهاد می‌شود از آستاگزانتین در دو فرم خالص و نانو ریزپوشانی‌شده در مقیاس صنعتی

References

- Arasteh, N. (1992). *Identification of spore producing bacteria in tomato paste*, Master's thesis, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian)
- Abdelmalek, B.E., Sila, A., Ghilissi, Z., Taktak, M.A., Ayadi, M.A., & Bougatef, A. (2016). The influence of natural astaxanthin on the formulation and storage of marinated chicken steaks. *Journal of Food Biochemistry*, 40(4), 393-403. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12224>

3. Ahmed, E.A., Mohamed, H.E., & Abd El-Salam, H.S. (2022). In vitro antimicrobial activity of astaxanthin crude extract from *Haematococcus pluvialis*. *Egyptian Journal of Aquatic Biology*, 26, 95-106. <https://dx.doi.org/10.21608/ejabf.2022.224854>
4. Battilani, P., Chiusa, G., Cervi, C., Trevisan, M., & Ghebbioni, C. (1996). Fungal growth and ergosterol content in tomato fruits infected by fungi. *Italian Journal of Food Science*, 4, 283-289.
5. Bennedsen, M., Wang, X., Willén, R., Wadström, T., & Andersen, L.P. (2000). Treatment of *H. pylori* infected mice with antioxidant astaxanthin reduces gastric inflammation, bacterial load and modulates cytokine release by splenocytes. *Immunology Letters*, 70(3), 185-189. [https://doi.org/10.1016/S0165-2478\(99\)00145-5](https://doi.org/10.1016/S0165-2478(99)00145-5)
6. Dong, S., Huang, Y., Zhang, R., Wang, S., & Liu, Y. (2014). Four different methods comparison for extraction of astaxanthin from green alga *Haematococcus pluvialis*. *The Scientific World Journal*, 1-7. <https://doi.org/10.1155/2014/694305>
7. Dewati, P. R., Rohman, A., & Budiman, A. (2020). A Preliminary Study of Extraction and Purification Processes of Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* a Natural Antioxidant. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 778, No. 1, p. 012032). IOP Publishing.
8. Elhami Rad, A., & Shahidi, F. (2005). Identification of bulk tomato paste fungal contamination in cold store and determination of prevalence for different species. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 1(1), 19-26. (In Persian)
9. Elhami Rad, A., & Shahidi, F. (2007). Evaluation of physicochemical and microbial changes of bulk tomato paste during cold storage. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 8(1), 171-180. (In Persian)
10. Gu, Z., Deming, C., Yongbin, H., Zhigang, C., & Feirong, G. (2008). Optimization of carotenoids extraction from *Rhodobacter sphaeroides*. *LWT-Food Science and Technology*, 41(6), 1082-1088. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.07.005>
11. Huhtanen, C.N., Naghski, J., Custer, C.S., & Russell, R.W. (1976). Growth and toxin production by *Clostridium botulinum* in moldy tomato juice. *Applied and Environmental Microbiology*, 32(5), 711-715. <https://doi.org/10.1128/aem.32.5.711-715.1976>
12. Hasan, H.A.H. (1995). Alternaria mycotoxins in black rot lesion of tomato fruit: conditions and regulation of their production. *Mycopathologia*, 130(3), 171-177. <https://doi.org/10.1007/BF01103101>
13. Hasani, Sh., Shahidi, M., & Ojagh, M. (2018). The production and evaluation of nanoliposomes containing bioactive peptides derived from fish wastes using the alkalase enzyme. *Research and Innovation in Food Science and Industry*, 8(1), 31-44. (In Persian)
14. Irna, C., Jaswir, I., Othman, R., & Jimat, D.N. (2017). Document details. *International Food Research Journal*, 24, 508-513.
15. Jacques, S. (1999). The potential preventive effects of vitamins for cataract and age-related macular degeneration. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 69(3), 198-205. <https://doi.org/10.1024/0300-9831.69.3.198>
16. Kalyoncu, F. (2005). Determination of fungi associated with tomatoes (*Lycopersicon esculentum* M.) and tomato pastes fatih kalyoncu, A. usame tamer and mustafa oskay. *The Plant Pathology Journal*, 4(2), 146-9.
17. Kang, C.D., & Sim, S.J. (2007). Selective extraction of free astaxanthin from *Haematococcus* culture using a tandem organic solvent system. *Biotechnology Progress*, 23(4), 866-871. <https://doi.org/10.1021/bp0700354>
18. Khaleghi, A., Rezaei K., Kasai, M., Khosravi, K., & Soleymani, M. (2013). Evaluation of antioxidant properties of *Berberis crataegina* extract on fat oxidation of beef sausages during refrigerated storage. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 7(5), 345-353. (In Persian)
19. Karazhyan, R., Habibi, M., Yavarmansh, M., Edalatian, M., & Pourianfa, H. (2016). *Aspergillus niger* measurement in tomato paste using Real Time, *Journal of Applied Microbiology in Food Industry*, 2(1), 1-14. (In Persian)
20. Liu, Z.W., Zeng, X.A., Cheng, J.H., Liu, D.B., & Aadil, R.M. (2018). The efficiency and comparison of novel techniques for cell wall disruption in astaxanthin extraction from *Haematococcus pluvialis*. *International Journal of Food Science and Technology*, 53(9), 2212-2219. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13810>
21. Mundt, J.O. (1978). Effect of mold growth on the pH of tomato juice. *Journal of Food Protection*, 41(4), 267-268. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-41.4.267>
22. Mortazavi, A., & Tabatabaei, F. (1997). Fungal toxins. Publications of Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian)
23. Machado, A.R., Assis, L.M., Costa, J.A.V., Badiale-Furlong, E., Motta, A.S., Micheletto, Y.M.S., & Souza-Soares, L. A. (2014). Application of sonication and mixing for nanoencapsulation of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in liposomes. *International Food Research Journal*, 21(6), 2201-2214.
24. Mohammadpourfard, I., Khanjari, A., Akhonzadeh Basti, A., Herrero-Latorre, C., Shariatifar, N., & Hosseini, H. (2021). Evaluation of microbiological, chemical, and sensory properties of cooked probiotic sausages containing

- different concentrations of astaxanthin, thymol, and nitrite. *Food Science and Nutrition*, 9(1), 345-356. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2000>
25. Oladiran, A.O., & Iwu, L.N. (1992). Changes in ascorbic acid and carbohydrate contents in tomato fruits infected with pathogens. *Plant Foods for Human Nutrition*, 42(4), 373-382. <https://doi.org/10.1007/BF02194098>
 26. Porretta, S., & Vicini, E. (1993). Changes in tomato pulp quality caused by lactic acid bacteria. *International Journal of Food Science & Technology*, 28(6), 611-616.
 27. Palozza, P., Torelli, C., Boninsegna, A., Simone, R., Catalano, A., Mele, M.C., & Picci, N. (2009). Growth-inhibitory effects of the astaxanthin-rich alga *Haematococcus pluvialis* in human colon cancer cells. *Cancer Letters*, 283(1), 108-117. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2009.03.031>
 28. Ramezanzade, L., Hosseini, S.F., & Nikkhah, M. (2017). Biopolymer-coated nanoliposomes as carriers of rainbow trout skin-derived antioxidant peptides. *Food Chemistry*, 234, 220-229. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.177>
 29. Reyhani Poul, S., & Yeganeh, S. (2022). Physicochemical and antioxidant properties of chitosan-coated nanoliposome loaded with bioactive peptides produced from shrimp wastes hydrolysis. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 21(4), 987-1003. <https://doi.org/10.22092/ijfs.2022.126498>
 30. Samano, S.G. (1983). The capability of some common tomato molds to produce mycotoxins and their relationship to Howard mold count. *Dissertation Abstracts International*, 41(4), 1049.
 31. Sarada, R., Vidhyavathi, R., Usha, D., & Ravishankar, G.A. (2006). An efficient method for extraction of astaxanthin from green alga *Haematococcus pluvialis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(20), 7585-7588. <https://doi.org/10.1021/jf060737t>
 32. Suganya, V., & Asheeba, S. (2015). Antioxidant and antimicrobial activity of astaxanthin isolated from three varieties of crabs. *International Journal of Recent Scientific Research*, 6(10), 6753-6758.
 33. Sun, W., Lin, H., Zhai, Y., Cao, L., Leng, K., & Xing, L. (2015). Separation, Purification, and Identification of (3S, 3' S)-trans-Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Separation Science and Technology*, 50(9), 1377-1383. <https://doi.org/10.1080/01496395.2014.976873>
 34. Safari, R., Mirbakhsh, M., Ghaffari, H., Reyhani Poul, S., Rahmati, R., & Ebrahimzadeh, M. (2022a). Effect of temperature, pH, and time factors on the stability and antioxidant activity of the extracted astaxanthin from haematococcus microalgae (*Haematococcus pluvialis*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 31(1), 109-120. (In Persian). <http://dorl.net/dor/20.1001.1.10261354.1401.31.1.10.2>
 35. Safari, R., Raftani Amiri, Z., Reyhani Poul, S., & Ghaffari, H. (2022b). Nanoencapsulation of phycocyanin extracted from the alga *Spirulina* (*Spirulina platensis*) and use of resulting nanoparticles in ice cream formulation. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 123(19), 145-159. (In Persian). <http://doi.org/10.52547/fsct.19.123.145>
 36. Sartaj, K., Gupta, P., Tripathi, S., Poluri, K.M., & Prasad, R. (2022). Insights into the extraction, characterization and antifungal activity of astaxanthin derived from yeast de-oiled biomass. *Environmental Technology and Innovation*, 27, 102437. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102437>
 37. Tanaka, T., Morishita, Y., Suzui, M., Kojima, T., Okumura, A., & Mori, H. (1994). Chemoprevention of mouse urinary bladder carcinogenesis by the naturally occurring carotenoid astaxanthin. *Carcinogenesis*, 15(1), 15-19. <https://doi.org/10.1093/carcin/15.1.15>
 38. Tracy, R.P. (1999). Inflammation markers and coronary heart disease. *Current Opinion in Lipidology*, 10(5), 435-441. <https://doi.org/10.1097/00041433-199910000-00008>
 39. Uylaser, V., & Basoglu, F. (1997). Research on changes of bacteria and yeasts and effects of spoilage on tomato paste production stage. *Gida*, 22(1), 62-85
 40. Uchiyama, K., Naito, Y., Hasegawa, G., Nakamura, N., Takahashi, J., & Yoshikawa, T. (2002). Astaxanthin protects β -cells against glucose toxicity in diabetic db/db mice. *Redox Report*, 7(5), 290-293. <https://doi.org/10.1179/135100002125000811>
 41. Yuan, J.P., & Chen, F. (2000). Purification of trans-astaxanthin from a high-yielding astaxanthin ester-producing strain of the microalga *Haematococcus pluvialis*. *Food Chemistry*, 68(4), 443-448. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00219-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00219-8)
 42. Yan, M., Liu, B., Jiao, X., & Qin, S. (2014). Preparation of phycocyanin microcapsules and its properties. *Food and Bioproducts Processing*, 92(1), 89-97. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2013.07.008>

Assessment of Cadmium, Lead and Nickel Removal Capacity of Lactic Acid Bacteria from Aqueous Solutions and Fresh Edible Vegetables

M. Mostafidi¹, M.R. Sanjabi^{2*}, N. Mojjani³, S. Eskandari⁴, S. Arbabi Bidgoli⁵

1- Ph.D. Candidate, Department of Food Science and Technology, Faculty of Pharmacy, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Tehran, Iran

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

3- Research & Development Department, Razi Vaccine & Serum Research Institute-Agriculture Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

4- Associate Professor, Food and Drug Laboratory Research Center (FDLRC), Food & Drug Administration (IR-FDA), Ministry of Health and Medical Education (MOH+ME), Tehran and Department of Food Sciences, School of Nutritional Sciences and Dietetics, Tehran University of Medical Sciences (TUMS), Tehran, Iran

5- Professor, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Islamic Azad University, Tehran Medical Sciences (IAUTMU), Tehran, Iran

Received: 11.12.2022
Revised: 29.03.2023
Accepted: 20.05.2023
Available Online: 20.05.2023

How to cite this article:

Mostafadi, M., Sanjabi, M.R., Mojjani, N., Eskandari, S., & Arbabi Bidgoli, S. (2024). Assessment of cadmium, lead and nickel removal capacity of lactic acid bacteria from aqueous solutions and fresh edible vegetables. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 20(1), 119-134. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.79869.1220>

Introduction

The food and water contamination with heavy metals is increasing due to the environmental pollutions. Heavy metals are the elements with the density of more than 5 g/cm³ and have become a serious problem as a result of the urbanization and industrialization. These toxic metals pollute water, soil, plants, and eventually foodstuffs and our bodies. Several methods exist to remediate heavy metal pollution in waters such as membrane filtration, ion exchange mechanisms, or by precipitation. Yet, these techniques are not cost effective, in some cases, and do produce wastes that need to be properly disposed of. Microbial bioremediation could be an alternative. The use of microbes for remediation of heavy metals has been well studied. Some microorganisms, especially soil bacteria, have the ability to tolerate these contaminants. In addition, certain bacterial strains are capable of binding to heavy metals or transforming them into less toxic forms. Low operating costs, usable in foodstuffs, selective removal for specific toxic metals, minimal use of chemicals (resulting in low sludge production) and high efficiencies at very low levels of heavy metals are some of the advantages of biosorption methods. In this regard, the purpose of this study was to investigate the ability of active and passive absorption of heavy metals by a number of Lactic Acid Bacteria (LAB) strains in laboratory environment and food.

Materials and Methods

Seven LAB isolates including *Lactocaseibacillus casei* (RTCC 1296-3), *Lactocaseibacillus rhamnosus* (RTCC 1293-2), *Lactiplantibacillus plantarum* (RTCC 1290), *Limosilactobacillus fermentum* (RTCC 1303), *Enterococcus faecium* (RTCC 2347), *Lactobacillus helveticus* (RTCC 1304) and *Lactobacillus acidophilus* (RTCC 1299) were obtained from Razi type culture collection (RTCC), located at Razi vaccine and Serum Research Institute, Iran. All isolates were cultured in MRS (Scharlau, Spain) broth medium, at 37 °C for 24 hours, under anaerobic conditions. Pure cultures were preserved for long term by freezing at -70°C with 20% Glycerol. Heavy metals including Nitrate of Pb (II), Cd (II) and Ni (II) were purchased from Merck (Darmstadt, Germany). All standard solutions were prepared from the stock solutions containing 1000 mg l⁻¹ in distilled water. Other chemicals used in study including Nitric acid (65%) and Hydrogen peroxide (37%),



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.79869.1220>

were also purchased from Merck, Germany. This study was conducted in two in- vitro and in-vivo phases; in the in- vitro phase, seven strains of bacteria with probiotic properties (*L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *Ent. facium*, *L. helveticus* and *L. acidophilous*) were screened and then their ability to bind to cadmium (Cd), Lead (Pb) and nickel (Ni) in aqueous solution was investigated. Then, in the in-vivo stage, three probiotic strains that had the highest biosorption efficiency in the previously stage were selected and their effect with a ratio of 1:1:1 and contact time of 15 and 30 minutes on the removal of these toxic metals in coriander, leek and parsley fresh vegetables was evaluated. The residual concentrations of heavy metals in solution were measured by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer (ICP-MS; ELAN DRC-e, PerkinElmer SCIEX, Canada) and Morphology of bacteria cell surfaces incubated with metals were monitored by scanning electron microscopy (JEOL JSM 5400 LV, Japan).

Results and Discussion

The results of the in vitro stage showed that the most ability to heavy metals adsorption was related to the *Ent. Facium* bacterium which were equal to 79.75 ± 0.11 , 75.28 ± 0.05 and $83.99 \pm 0.10\%$ for Pb, Cd and Ni, respectively. In general, the removal efficiency of heavy metals by LAB bacteria in the inactive and killed state was significantly higher than the active removal efficiency of these bacteria, so that the highest percentage of passive absorption of lead, cadmium and nickel metals by inactive strains of *L. casei*, *L. plantarum* and *Ent. Facium* were 90.01, 81.98 and 86.56%, respectively. Electron microscopy observations and energy dispersive X-ray (EDX) analysis confirmed that the majority of these toxic metals significantly damage the surface of living cells by accumulating and binding on the surface of bacterial cells. A combination of three bacterial strains had a synergistic effect on the binding properties of toxic metals compared to the single state of these bacteria, so that in both active and inactive states, 90-99% of heavy metals from edible leafy vegetables were removed in less than 15 minutes. The results of this research generally showed that the binding capacity of dead biomass is significantly high and it is possible to dispose and reuse biomass in case of biological absorption.

Keywords: Biosorption, Edible vegetables, Heavy metals, LAB bacteria, SEM/EDX

مقاله پژوهشی

جلد ۲۰، شماره ۱، فروردین-اردیبهشت ۱۴۰۳، ص. ۱۳۴-۱۱۹

ارزیابی کاربرد باکتری‌های اسید لاکتیک در حذف فلزات سنگین از محلول‌های آبی و سبزیجات برگ‌دار خوراکی

مهديه مستفیدی^۱ - محمدرضا سنجابی^{۲*} - ناهید مژگانی^۳ - سهیل اسکندری^۴ - سپیده اربابی بیدگلی^۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۳۰

چکیده

آلودگی محیط‌زیست به فلزات سنگین، امروزه به یکی از مشکلات بزرگ زیست‌محیطی تبدیل شده است. در همین راستا، هدف از انجام این مطالعه بررسی توانایی جذب فعال و غیر فعال فلزات سنگین توسط تعدادی از سویه‌های LAB در محیط آزمایشگاهی (محلول آبی) و ماده غذایی (سبزیجات برگ‌دار خوراکی) بود. نتایج مرحله آزمایشگاهی نشان داد که بطور کلی راندمان حذف فلزات سنگین توسط باکتری‌های LAB در حالت غیر فعال و کشته‌شده بطور قابل توجهی بالاتر از حالت فعال این باکتری‌ها بود بطوری که بیشترین درصد جذب غیرفعال فلز سرب، کادمیوم و نیکل به ترتیب برابر ۹۰/۰۱، ۸۱/۹۸ و ۸۶/۵۶٪ بود که به ترتیب توسط سویه‌های غیرفعال *L. plantarum*، *L. casei* و *Ent. Facium* صورت گرفت. در بین سویه‌های زنده نیز باکتری *Ent. Facium* بالاترین توانایی جذب فعال در محلول آبی را نشان داد. مشاهدات میکروسکوپ الکترونی تأیید کرد که بخش عمده این فلزات سمی با تجمع و اتصال در سطح سلول باکتری به طور قابل توجهی به سطح سلول‌های زنده آسیب می‌رساند ولی تأثیر چندانی بر ساختار سطح سلولی باکتری‌های کشته شده ندارد. ترکیبی از سه سویه باکتریایی در مقایسه با حالت تکی این باکتری‌ها اثر هم‌افزایی بر روی خواص اتصال فلزات سمی داشت بطوری که هم در حالت فعال و هم غیر فعال در مدت زمان کمتر از ۱۵ دقیقه ۹۹-۹۰ درصد فلزات سنگین از سبزیجات برگ‌دار خوراکی حذف شدند. نتایج این تحقیق بطور کلی نشان داد ظرفیت اتصال توده مرده بطور قابل توجهی بالا بوده و امکان دفع و استفاده مجدد از زیست‌توده در صورت جذب زیستی وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های LAB، جذب بیولوژیکی، سبزیجات خوراکی، فلزات سنگین، SEM/EDX

مقدمه

افزایش جمعیت همراه با توسعه اقتصادی و صنعتی جهان در قرن اخیر مشکلاتی را برای زندگی بشر به وجود آورده است که از جمله آنها می‌توان به آلودگی محیط‌زیست به فلزات سنگین اشاره کرد. فلزات سنگین ترکیبات غیرقابل تجزیه در هر دو شکل آلی و معدنی بوده

افزایش جمعیت همراه با توسعه اقتصادی و صنعتی جهان در قرن اخیر مشکلاتی را برای زندگی بشر به وجود آورده است که از جمله آنها می‌توان به آلودگی محیط‌زیست به فلزات سنگین اشاره کرد. فلزات سنگین ترکیبات غیرقابل تجزیه در هر دو شکل آلی و معدنی بوده

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده داروسازی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- پژوهشکده کشاورزی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران

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

۳- مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۴- دانشیار مرکز تحقیقات آزمایشگاهی غذا و دارو، اداره کل آزمایشگاه‌های مرجع کنترل غذا و دارو، سازمان غذا و دارو، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران و دانشیار

گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و رژیم‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران، تهران، ایران

۵- استاد گروه سم‌شناسی و داروشناسی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران

برگشت پذیر است (Kadukova et al., 2005; Delgado et al., 1998). تجمع زیستی یک تجمع فلزی درون سلولی است. این فرآیند شامل اتصال فلز به ترکیبات درون سلولی، رسوب درون سلولی، متیلاسیون و مکانیسم‌های دیگر است. تجمع زیستی همچنین می‌تواند به‌عنوان بخش دوم فرآیند جداسازی فلز توسط زیست‌توده زنده در نظر گرفته شود. گاهی اوقات، آن را جذب زیستی فعال در مقابل جذب بیولوژیکی غیرفعال می‌نامند. از آنجایی که این فرآیند بستگی به متابولیسم سلولی دارد، می‌تواند توسط مهارکننده‌های متابولیک مانند دمای پایین و کمبود منابع انرژی (نور) مهار شود (Shamim, 2018; Kadukova et al., 2005). یکی از تفاوت‌های اساسی بین این دو فرآیند، سینتیک و مقادیر انرژی فعال‌سازی آنها است. انرژی فعال‌سازی مورد نیاز برای جذب زیستی حدود ۲۱ کیلوژول بر مول است که با ماهیت فیزیکی فرآیند مطابقت دارد در حالی که انرژی فعال‌سازی برای تجمع زیستی حدود ۶۳ کیلوژول بر مول است که مربوط به فرآیند بیوشیمیایی می‌باشد (Kadukova et al., 2005).

بطور کلی هزینه‌های عملیاتی پایین، قابلیت استفاده در مواد غذایی، حذف انتخابی برای فلزات سمی خاص، حداقل استفاده از مواد شیمیایی (در نتیجه تولید لجن کم)، عدم نیاز به مواد مغذی و راندمان بالا در سطوح بسیار پایین فلزات سنگین از مزایای روش‌های بیولوژیکی است (Mirza Alizadeh et al., 2021; Sardar et al., 2013). علاوه بر این، فرآیند حذف سریع است بطوری که تنها چند دقیقه طول می‌کشد و در شرایط فشار معمولی و دمای معمولی انجام می‌شود (Kadukova et al., 2005). با این حال، تعداد محدودی از تصفیه‌خانه‌ها با استفاده از فرآیندهای مبتنی بر جذب زیستی/تجمع زیستی وجود دارد.

باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB) باکتری‌های گرم مثبتی هستند که به‌طور کلی به‌عنوان ایمن (GRAS) توسط FDA شناخته شده‌اند و سابقه قوی در کاربرد ایمن به‌عنوان مکمل‌های پروبیوتیک دارند (Mrvčić et al., 2012). باکتری‌های پروبیوتیک به‌دلیل تمایل پیوندی زیاد با پروتئین‌های دیواره سلولی روده به‌طور بالقوه در غیرفعال کردن سموم، مفید هستند (Zoghi et al., 2014). محققان بر این باورند که باکتری‌های LAB می‌توانند از جذب فلزات سنگین در بدن جلوگیری کنند و مصرف خوراکی LAB می‌تواند فلزات سنگین را به‌طور مؤثر از طریق مدفوع از بدن خارج کند (Kinoshita et al., 2013). این باکتری‌ها عموماً در برابر آسیب ناشی از فلزات سنگین از طریق جداسازی یا تجمع مقاوم هستند (Zhai et al., 2015). استفاده از LAB‌ها به‌عنوان یک جاذب بیولوژیکی به‌دلیل گزینش‌پذیری بالای آنها در حذف فلزات سمی، هزینه کم، در دسترس بودن بالا و توانایی

نیکل (Ni)، کادمیوم (Cd)، سرب (Pb)، جیوه (Hg)، مس (Cu)، آرسنیک (As)، روی (Zn) و منگنز (Mn) رایج‌ترین فلزات سنگین و عوامل اصلی آلودگی خاک هستند (Shamim, 2018). اگرچه فلزات سنگین مانند روی، منگنز و مس به‌عنوان کوفاکتورهای ضروری در واکنش‌های آنزیمی برای رشد طبیعی سلول‌ها در غلظت‌های پایین عمل می‌کنند، اما هیچ نقش بیولوژیکی برای فلزاتی مانند As، Pb و Cd شناخته نشده است، به‌طوری که در هر غلظتی سمی هستند (Zahedifar et al., 2019). این عناصر آلاینده‌های معدنی غیر قابل تجزیه هستند و تمایل به تجمع در موجودات دارند. بنابراین قرار گرفتن در معرض فلزات سمی حتی در مقادیر کم ممکن است باعث بیماری‌های مختلفی از جمله آسیب به قلب، سیستم عصبی، مغز، کبد، کلیه، خون، ریه، استخوان، طحال، پوکی استخوان، اختلال در تولید مثل، جهش‌زایی و سرطان شود. مصرف سبزیجات و مواد غذایی آلوده به فلزات سنگین ممکن است باعث کاهش توانایی سیستم ایمنی، اختلال در رفتار فیزیکی-اجتماعی، عقب ماندگی رشد داخل رحمی و ناتوانایی‌های مرتبط با سوء تغذیه شود (Majlesi et al., 2017).

منابع اصلی آلودگی فلزات سنگین در محیط‌زیست ناشی از سوزاندن سوخت‌های فسیلی، بهره‌برداری از کارخانه‌های ذوب فلزات و سایر فعالیت‌های صنعتی مانند آبکاری و ضایعات تقطیر، استخراج و فرآوری مواد معدنی و تولید و استفاده از مواد شیمیایی به‌عنوان کودهای شیمیایی کشاورزی است (Sardar et al., 2013). روش‌های فیزیکوشیمیایی مورد استفاده برای سم‌زدایی فلزات سنگین مانند رسوب شیمیایی، الکترووینینگ^۱، جداسازی غشایی، تبخیر یا تبادل یونی رزین، می‌توانند بسیار گران‌قیمت باشند و گاهی اوقات چندان مؤثر نباشند. جداسازی بیولوژیکی، براساس میکروارگانیسم‌ها یا گیاهان زنده یا غیر زنده، کاهش سطوح فلزات سمی را تا حد قابل قبول زیست‌محیطی به روشی مقرون‌به‌صرفه و سازگار با محیط‌زیست ارائه می‌دهد (Kadukova et al., 2005).

جذب زیستی^۲ و تجمع زیستی^۳ از جمله روش‌های بیولوژیکی مناسب برای حذف فلزات سنگین از فاضلاب‌ها و مواد غذایی است. جذب زیستی در واقع تثبیت غیر فعال فلزات توسط زیست‌توده است. مکانیسم‌های جذب سطح سلولی مستقل از متابولیسم سلولی هستند. آنها براساس برهمکنش‌های فیزیکوشیمیایی بین فلزات و گروه‌های عملکردی دیواره سلولی استوارند. دیواره سلولی میکروارگانیسم عمدتاً از پلی ساکاریدها، لیپیدها و پروتئین‌ها تشکیل شده است که امکان اتصال زیادی برای فلزات دارند. از آنجایی که این فرآیند مستقل از متابولیسم است، اتصال فلزات بسیار سریع بوده (تا یک دقیقه) و عمدتاً

جذب بیولوژیکی در محلول آبی (In-vitro)

سوسپانسیون کشت یک شبه فعال و غیر فعال سوبه‌های LAB در غلظت 10^9 CFU/ml سانتریفیوژ شد (با سرعت $10000 \times g$ به مدت ۱۰ دقیقه)، و پلت^۲ سلولی پس از جمع‌آوری با ۵ cc آب خالص استریل سرد شده مخلوط و به مدت پنج دقیقه قبل از استفاده هم زده شدند. یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون پلت آماده شده به ۹ میلی‌لیتر محلول استاندارد از هر فلز سنگین (۵ ppm محلول سرب، ۵ ppm محلول کادمیوم و ۵۰ ppm محلول نیکل) اضافه شد تا غلظت باکتریایی نهایی 10^8 CFU/ml بدست آید. برای تنظیم pH روی ۶/۵ از محلول هیدروکسید سدیم ۰/۵ نرمال استفاده شد. پس از گرمخانه‌گذاری به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، محلول‌ها در $10000 \times g$ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و مایع رویی برای اندازه‌گیری مقدار فلزات سنگین استفاده شد (Kadukova et al., 2005). لازم به ذکر است که به‌منظور تهیه کشت غیر فعال باکتری‌های اسید لاکتیک مورد نظر، پس از رشد باکتری‌ها در محیط کشت MRS پراث و گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، باکتری‌ها در غلظت 10^9 CFU/ml تنظیم و سپس در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو شدند. پس از اطمینان از کشته شدن باکتری‌ها از این سوسپانسیون به‌عنوان سوسپانسیون غیر فعال در آزمایشات استفاده شد.

جذب بیولوژیکی در سبزیجات خوراکی (In-vivo)

سه نوع سبزی شامل گشنیز، تره فرنگی و جعفری از بازار محلی تهران خریداری و قسمت‌های خوراکی برگ‌دار سبزیجات جدا شده و به‌صورت جداگانه به سه قسمت مساوی 100 گرمی تقسیم شدند و قبل از استفاده در کیسه‌های پلاستیکی زیپ دار در دمای یخچال نگهداری شدند. قبل از شروع روش جذب بیولوژیکی، مقدار فلزات مربوطه در سبزیجات انتخابی مورد ارزیابی قرار گرفت تا غلظت فلزات قبل و بعد از قرار گرفتن در معرض باکتری‌های اسید لاکتیک مورد مقایسه قرار گیرد. در این مرحله سه سوبه از باکتری‌های اسید لاکتیک شامل *L. fermentum plantarum* و *E. faecium* که بالاترین درصد جذب فلزات سنگین را در محلول‌های آبی نشان دادند، انتخاب شدند. کشت فعال و غیر فعال سوبه‌های مربوطه به نسبت مساوی (۱:۱:۱) مخلوط شده و به نمونه‌های سبزیجات اضافه شدند. نمونه‌های گشنیز، تره فرنگی و جعفری قبل از افزودن 10^8 CFU/ml از سوسپانسیون‌های باکتریایی مربوطه به مدت ۳۰ دقیقه در آب مقطر استریل خیسانده شدند (Zhai et al., 2016). نمونه‌ها پس از ۱۵ و ۳۰ دقیقه خیساندن

آنها در حفظ عملکرد در طیف وسیعی از دما و pH مورد تأیید قرار گرفته است (Pakdel et al., 2019). اخیراً، چندین گونه از باکتری‌های LAB توجه زیادی را به استفاده بالقوه آنها در حذف فلزات سنگین برای محافظت از سلامت انسان جلب کرده است (Elsanhoty et al., 2016; Kinoshita et al., 2013; Daisley et al., 2019; Massoud et al., 2020; Kirillova et al., 2017; Halttunen et al., 2007).

با این حال، تحقیقات بیشتری در مورد قابلیت اتصال فلزات سنگین به باکتری‌های LAB به‌عنوان یک پروبیوتیک برای سلامت انسان مورد نیاز است. بنابراین، در این مطالعه اثر هفت سوبه منتخب اسید لاکتیک (LAB) شامل *L. plantarum*، *L. rhamnosus*، *L. casei*، *L. acidophilus* و *L. helveticus*، *Ent. Facium*، *L. fermentum* در دو حالت فعال (تجمع زیستی) و غیر فعال (جذب زیستی) بر جذب بیولوژیکی عناصر فلزی سنگین شامل سرب (Pb)، کادمیوم (Cd) و نیکل (Ni) از محلول آبی (*in-vitro*) و سبزیجات تازه خوراکی (*in-situ*) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

سوبه‌های باکتریایی و شرایط کشت

سوبه باکتری‌های LAB شامل *Lacticaseibacillus casei* (RTCC 1296-3)، *Lacticaseibacillus rhamnosus* (RTCC 1293-2)، *Lactiplantibacillus plantarum* (RTCC 1290)، *Limosilactobacillus fermentum* (RTCC 1303)، *Lactobacillus Enterococcus faecium* (RTCC 2347)، *Lactobacillus acidophilus* و *helveticus* (RTCC 1304) (RTCC 1299) از مجموعه کلکسیون میکروبی مؤسسه تحقیقات واکنس و سرم‌سازی رازی تهیه شد. تمامی سوبه‌ها در محیط کشت مایع MRS^۱ (Scharlau, Spain) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در شرایط بی‌هوازی کشت داده شدند. جهت نگهداری طولانی مدت، کشت‌های خالص با ۲۰ درصد گلیسرول با انجماد در دمای -70 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

فلزات سنگین شامل نیترات سرب (II)، کادمیوم (II) و نیکل (II) از شرکت مرک (دارمشتات، آلمان) خریداری شد. تمام محلول‌های استاندارد از محلول‌های استوک حاوی 1000 میلی‌گرم در لیتر در آب مقطر تهیه شد. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده در این مطالعه شامل اسید نیتریک (۶۵٪) و پراکسید هیدروژن (۳۷٪) نیز از شرکت مرک آلمان خریداری شد. تمامی ظروف مورد استفاده به مدت ۴۸ ساعت با اسید نیتریک ۲۰ درصد شستشو داده شدند.

آنالیز واریانس (ANOVA) و استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 22.0 (SPSS Inc, IBM, Chicago, IL) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تفاوت معنی‌داری بین میانگین‌ها نیز با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطوح احتمال $p < 0.05$ تعیین شد.

نتایج و بحث

حذف فلزات سنگین از محلول‌های آبی توسط برخی سویه های LAB بصورت زنده و غیر زنده

میزان حذف بیولوژیکی فلزات سنگین شامل نیکل (Ni)، کادمیوم (Cd) و سرب (Pb) در محلول‌های آبی توسط ۷ سویه باکتری‌های اسید لاکتیک بصورت فعال (زنده) و غیر فعال (غیر زنده) به ترتیب در جدول ۱ و ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بین سویه‌های باکتری‌های اسید لاکتیک فعال از نظر درصد جذب فلزات سنگین از محلول‌های آبی تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p > 0.05$). همانطور که مشاهده می‌شود میزان جذب زیستی فعال (تجمع زیستی) فلز سرب در محدوده ۷۹/۷۵ تا ۴۷/۶۵ درصد بوده و بیشترین مقدار آن توسط *E. faecium* صورت گرفت و *L. fermentum* با میزان جذب ۷۶/۵۹ درصد در رتبه دوم قرار گرفت ($p < 0.05$). کمترین میزان جذب زیستی فعال سرب از محلول آبی توسط *L. casei* انجام شد که معادل ۴۷/۶۵ درصد بود (جدول ۱). روند مشابهی در مورد جذب فلزات کادمیوم و نیکل از محلول آبی مشاهده شد، به این معنی که بیشترین میزان جذب زیستی فعال در این دو عنصر نیز توسط *E. faecium* صورت گرفت که برای کادمیوم و نیکل به ترتیب برابر با ۷۵/۲۸ و ۸۳/۹۹ درصد بود. با توجه به نتایج این مطالعه، باکتری *L. fermentum* و *L. plantarum* پس از *E. faecium* بالاترین ظرفیت جذب زیستی عناصر سنگین را داشت (جدول ۱). کمترین میزان جذب بیولوژیکی کادمیوم (۲۴/۸۷ درصد) و نیکل (۶۷/۷۲ درصد) مشابه با فرآیند حذف سرب متعلق به *L. casei* بود. لازم به ذکر است که به‌طور کلی درصد حذف نیکل (۸۳/۹۹-۶۷/۷۲) توسط سویه‌های باکتری‌های اسید لاکتیک فعال به‌طور معنی‌داری بیشتر از سرب و کادمیوم بود ($p < 0.05$).

راندمان حذف این سه فلز سنگین از محلول آبی توسط ۷ سویه باکتری اسید لاکتیک مورد نظر در این مطالعه، پس از کشته شدن و غیر فعال کردن باکتری‌ها در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه نیز مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن در جدول ۲ آورده شده است.

و تماس با محلول باکتریایی از نظر میزان فلزات سنگین مربوطه توسط روش ICP-MS مورد آزمایش قرار گرفتند.

سنجش میزان جذب فلزات سنگین با طیف‌سنج جرمی پلاسما جفت القایی^۱ (ICP-MS)

یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتریایی (10^9 CFU/ml) به ۹ میلی‌لیتر آب فوق خالص حاوی ۲۵ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم، یک میلی‌گرم در لیتر سرب و سه میلی‌گرم در لیتر نیکل اضافه شد تا به غلظت باکتری نهایی برسد (10^8 CFU/ml). پس از تنظیم pH بر روی ۶/۵ نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت گرمخانه‌گذاری شدند و سپس در دور $10000 \times g$ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. غلظت باقیمانده سرب، کادمیوم و نیکل در مایع رویی توسط طیف‌سنج جرمی پلاسما جفت القایی (ICP-MS): ELAN DRC-e، PerkinElmer SCIEX، کانادا)، با استفاده از پنج غلظت استاندارد (۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در لیتر) اندازه‌گیری شد. برای هر فلز سنگین، آزمایش در سه تکرار انجام شد و توانایی اتصال سرب، کادمیوم و نیکل هر یک از سویه‌های مورد مطالعه به صورت درصد حذف با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد که در آن C_0 و C_1 به ترتیب غلظت اولیه و باقیمانده فلز هستند (Daisley et al., 2019; Pakdel et al., 2019; Astolfi et al., 2019).

$$\text{Removal \%} = (C_0 - C_1) / C_0 \times 100$$

آزمون میکروسکوپی الکترونی روبشی^۲ (SEM) و طیف‌سنجی پراکندگی انرژی پرتو ایکس^۳ (EDX)

به منظور بررسی اثر جذب فلزات سنگین بر ساختار سلولی و مورفولوژی سویه‌های LAB آزمایش‌شده، پلت‌های سلولی باکتریایی تیمار شده با فلز و تیمار نشده (شاهد) طبق روش توصیف‌شده توسط آمین و همکاران (Ameen et al., 2020) و دیزلی و همکاران (Daisley et al., 2019) مورد آزمایش قرار گرفتند. نمونه‌های تهیه شده با میکروسکوپ الکترونی روبشی (JEOL JSM 5400 LV, Japan) اسکن شدند. علاوه بر این، تشخیص عناصر فلزی در سلول‌های LAB با استفاده از طیف‌سنج پراکندگی انرژی پرتو ایکس (EDX) (JEOL JSM 6360 LA, Japan) انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تمامی آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد و نتایج حاصل میانگین حداقل سه تکرار بود. داده‌های به‌دست آمده با روش

3- Energy Dispersive X-ray

1- Inductively coupled plasma-mass spectrometer
2- Scanning Electron Microscopic

جدول ۱- راندمان حذف فلزات سنگین توسط سویه‌های باکتری‌های اسید لاکتیک زنده در محلول آبی
Table 1- Heavy metals removal efficiency of indigenous LAB isolates in aqueous solution

سویه های پروبیوتیک زنده Live Probiotic strains	میزان حذف فلزات سنگین Heavy metal removal (%)		
	Pb	Cd	Ni
<i>L. casei</i>	47.65±0.20 ^{g,B}	24.87±0.17 ^{f,C}	67.72±0.12 ^{g,A}
<i>L. rhamnosus</i>	62.35±0.15 ^{d,B}	49.74±0.21 ^{d,C}	78.42±0.18 ^{e,A}
<i>L. plantarum</i>	66.60±0.12 ^{c,B}	53.06±0.10 ^{b,C}	81.82±0.22 ^{b,A}
<i>L. fermentum</i>	76.59±0.08 ^{b,B}	52.60±0.07 ^{c,C}	81.53±0.15 ^{c,A}
<i>E. faecium</i>	79.75±0.11 ^{a,B}	75.28±0.05 ^{a,C}	83.99±0.10 ^{a,A}
<i>L. helveticus</i>	50.70±0.12 ^{f,B}	22.27±0.09 ^{g,C}	78.99±0.08 ^{d,A}
<i>L. acidophilus</i>	55.62±0.18 ^{e,B}	48.34±0.14 ^{e,C}	76.21±0.21 ^{f,A}

* حروف کوچک غیر مشترک در هر ستون و حروف بزرگ غیر مشترک در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۹۵ درصد می‌باشد ($p < 0.05$).
* Different small letters in each column and uppercase letters in each row indicate statistically significant differences between groups as determined by the Duncan test ($p < 0.05$).

که برابر ۸۳/۴۸ درصد بود که این مقدار حتی از بالاترین میزان جذب سرب صورت گرفته در حالت فعال بیشتر است (جدول ۱). در مورد فلز سنگین کادمیوم بالاترین درصد جذب غیرفعال به باکتری *L. plantarum* (۸۱/۹۸ درصد) تعلق داشت که نسبت به جذب فعال این فلز توسط همین سویه حدود ۳۱ درصد افزایش نشان داد و *Ent. Facium* و *L. fermentum* در جایگاه بعدی بودند. در مورد فلز نیکل نیز میزان جذب غیر فعال مشابه حالت فعال در باکتری *Ent. Facium* مشاهده شد که برابر ۸۶/۵۶ درصد بود و نشان دهنده ۲/۶ درصد افزایش نسبت به جذب فعال بود و پس از آن *L. plantarum* و *L. fermentum* قرار داشتند. لازم به ذکر است که کمترین میزان جذب غیر فعال در کادمیوم و نیکل به باکتری *L. casei* تعلق داشت که به ترتیب ۵۵/۳۱ و ۷۸/۶۵ درصد محاسبه گردید و حاکی از افزایش ۳۰/۵ و ۱۱/۹ درصد افزایش جذب این فلزات نسبت به حالت فعال در مدت یک ساعت بود (جدول ۲).

همانطور که مشاهده می‌شود بطور کلی راندمان حذف فلزات سنگین توسط باکتری‌های LAB در حالت غیر فعال و کشته شده بطور قابل توجهی بالاتر از راندمان حذف فعال این باکتری‌ها می‌باشد که با مقایسه موردی هر کدام از عناصر سرب، نیکل و کادمیوم، این نتیجه به وضوح قابل مشاهده می‌باشد. طبق نتایج بدست آمده، بالاترین درصد جذب غیرفعال (جذب زیستی) فلز سرب به *Ent. Facium* (۹۸/۲۸ درصد) تعلق داشت و پس از آن باکتری *L. fermentum* با میزان جذب ۹۷/۸۵ درصد بود که به ترتیب حدود ۱۸/۵۳ و ۲۱/۲۶ درصد افزایش حذف فلز سرب توسط این سویه‌ها در مقایسه با جذب فعال حاصل گردید. همچنین مشخص شد که این دو باکتری اسید لاکتیک در هر دو حالت جذب فعال و غیر فعال بالاترین درصد جذب سرب را داشتند ولی در مورد میزان جذب غیر فعال سرب توسط سایر گونه‌ها بعد از کشته‌سازی باکتری‌ها روند تغییر پیدا کرد بدین معنی که در حالت غیر فعال کمترین میزان جذب در باکتری *L. acidophilus* مشاهده گردید

جدول ۲- راندمان حذف فلزات سنگین توسط سویه‌های باکتری‌های اسید لاکتیک غیر زنده (کشته شده) در محلول آبی
Table 2- Heavy metal removal efficiency by inactivated (killed) LAB strains in aqueous solution

سویه های پروبیوتیک غیرزنده Inactivated probiotic strains	میزان حذف فلزات سنگین Heavy metal removal (%)		
	Pb	Cd	Ni
<i>L. casei</i>	90.01±0.26 ^{d,A}	55.31±0.15 ^{f,C}	78.65±0.33 ^{e,B}
<i>L. rhamnosus</i>	87.29±0.15 ^{e,A}	75.57±0.25 ^{d,C}	79.34±0.22 ^{d,B}
<i>L. plantarum</i>	91.01±0.21 ^{c,A}	81.98±0.18 ^{a,C}	83.98±0.18 ^{b,B}
<i>L. fermentum</i>	97.85±0.15 ^{b,A}	79.87±0.33 ^{b,C}	83.89±0.25 ^{b,B}
<i>E. faecium</i>	98.28±0.11 ^{a,A}	79.95±0.28 ^{b,C}	86.56±0.11 ^{a,B}
<i>L. helveticus</i>	85.35±0.18 ^{f,A}	61.37±0.21 ^{e,C}	80.08±0.19 ^{c,B}
<i>L. acidophilus</i>	83.48±0.08 ^{g,A}	77.22±0.14 ^{c,C}	79.12±0.21 ^{d,B}

* حروف کوچک غیر مشترک در هر ستون و حروف بزرگ غیر مشترک در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۹۵ درصد می‌باشد ($p < 0.05$).
* Different small letters in each column and uppercase letters in each row indicate statistically significant differences between groups as determined by the Duncan test ($p < 0.05$).

سویه‌های باکتری و الکترون‌گاتیوی فلز بستگی دارد (Afriz et al., 2021). باکتری‌های LAB دارای پلیمرهایی مانند پپتیدوگلیکان و

حذف بیولوژیکی فلزات سنگین یک فرآیند سطحی به دلیل اتصال کاتیون‌های فلزی به گروه‌های عامل آنیونی است و همچنین به ظرفیت

ساکاریدهای دیواره سلولی را مکانیسم‌های جذب فلزات سنگین از محلول‌های آبی توسط میکروارگانیسم‌ها معرفی کردند. تحقیق حاضر در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و $\text{pH}=6/5$ انجام شد که براساس بررسی منابع علمی و سپس پیش‌تیمارهای انجام شده، بیشترین میزان جذب فلزات سنگین توسط سویه‌های LAB انتخاب شده در این مطالعه در این شرایط صورت گرفت. جذب زیستی یک فرآیند وابسته به انرژی است و از این رو دما نقش مهمی در کارایی حذف فلزات توسط آن ایفا می‌کند. این تغییر درجه حرارت که بر دیواره سلولی و قسمت‌های عملکردی آن تأثیر می‌گذارد، با تغییر پایداری و ترکیب دیواره سلولی وضعیت یونیزاسیون گروه‌های عملکردی افزایش یا کاهش می‌یابد. افزایش دما باعث افزایش اندازه منافذ است که در نتیجه سطح بیشتری برای جذب زیستی در دسترس است. همچنین میزان انتشار را افزایش داده و ویسکوزیته محیط را کاهش داده و منجر به افزایش کارایی حذف فلزات سنگین می‌شود (Goyal et al., 2019). آریوالاگان و همکاران (Arivalagan et al., 2014)، اثر *Bacillus. cereus* را بر جذب بیولوژیکی کادمیوم در دمای ۲۵، ۳۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار دادند و مشاهده نمودند حداکثر حذف کادمیوم در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد (۷۲ درصد) حاصل شد که در آن افزایش قابل توجهی در کارایی جذب بیولوژیکی نسبت به دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (۴ درصد) ثبت شد، که دلیل آن را افزایش اندازه منافذ و در نتیجه افزایش سطح برای جذب زیستی در دسترس عنوان کردند (Rathinam et al., 2010). اما با افزایش دما از ۳۵ درجه سانتی‌گراد به ۴۵ درجه سانتی‌گراد، جذب زیستی کادمیوم کاهش یافت که این ممکن است به دلیل تخریب محل‌های اتصال کادمیوم در دیواره سلولی توسط پارگی پیوند که منجر به کاهش پتانسیل اتصال کادمیوم می‌شود اتفاق افتاده باشد (Sulaymon et al., 2013). در همین راستا هالتونن و همکاران (Haltonen et al., 2008) افزایش قابل توجهی در حذف کادمیوم توسط لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG هنگامی که دمای انکوباسیون به ۳۷ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت، گزارش کردند.

pH عامل دیگری است که نقش مهمی در حذف بیولوژیکی فلزات سنگین دارد. تغییرات pH محیط بر بار سطحی دیواره سلولی با تأثیر بر گروه‌های عاملی با بار منفی و تفکیک آنها تأثیر می‌گذارد (Özdemir et al., 2013). این موضوع به خوبی در مطالعه انجام شده توسط آریوالاگان و همکاران (Arivalagan et al., 2014)، به اثبات رسیده است. *B. cereus* از خاک نزدیک صنعت آبکاری جدا شده و در حضور کادمیوم، در شرایط آزمایشگاهی رشد کرد. در $\text{pH}=2$ ، ارگانسیم به دلیل یونیزاسیون کم گروه‌های عاملی جذب ناچیزی از خود نشان داد. همچنین، غلظت بالای H^+ در pH اسیدی برای مکان‌های اتصال

لیپوتیکوئیک اسید^۱ در دیواره سلولی خود است که می‌تواند مسئول برهمکنش بین فلزات سنگین و بار منفی سطح باکتری باشد (Massoud et al., 2020). از آنجایی که این فرآیند مستقل از متابولیسم است، می‌تواند توسط سلول‌های زنده و همچنین سلول‌های مرده انجام شود. این بر خلاف تجمع زیستی است که در آن فقط سلول‌های زنده فلزات سنگین را به‌طور فعال جذب می‌کنند. به‌طور کلی باکتری‌های گرم مثبت به دلیل ساختار دیواره سلولی ساده‌تر، کنترل کمتری نسبت به ورود مواد خارجی نشان می‌دهند، در صورتی که باکتری‌های گرم منفی دیواره سلولی و ساختار پروتئینی پیچیده‌تری داشته و ورود و جذب آلاینده‌های معدنی موجود در محیط بیرونی این باکتری‌ها، از جمله فلزات سنگین، با کنترل بیشتر و به میزان کمتری صورت می‌گیرد (Jaishankar et al., 2014).

نتایج این تحقیق با یافته‌های کادوکووا و همکارانش (Kadukova et al., 2005) مطابقت داشت. آن‌ها با مقایسه روش جذب فعال و غیر فعال مس با استفاده از جلبک *Chlorella kessleri* بیان داشتند که غلظت مس در ۳۰ دقیقه اول پس از افزودن سلول‌های زنده *C. kessleri* کاهش یافت. در اندازه‌گیری‌ها در تمام آزمایش‌هایی که از سلول‌های زنده استفاده شده بود، آزادسازی جزئی مس را به محلول نشان داد. رهاسازی مس از سطح سلول‌های زنده زمانی واضح‌تر بود که نمونه‌ها هر ۵ دقیقه در ۳۰ دقیقه اول و هر ۱۵ دقیقه در طول ۳۰ دقیقه بعدی آزمایش جمع‌آوری شدند. احتمالاً به دلیل مسمومیت، سلول‌های جلبکی تا حدی ظرفیت اتصال خود را از دست داده‌اند و متعاقباً مقدار کمی فلز دوباره به محلول آزاد می‌شود. اما پس از چند ساعت، مسمومیت شدید احتمالاً باعث مرگ برخی از سلول‌ها شده و به همین دلیل نسبت بین سلول‌های زنده و مرده تغییر کرده است. از آنجایی که سلول‌های مرده ظرفیت جذب بالاتری از خود نشان داده‌اند، بخشی از مس آزاد شده در پایان آزمایش برگشت داده شد. در مقایسه با سلول‌های زنده پس از افزودن توده سلولی خشک شده، یون‌های مس به سرعت از محلول در عرض ۱۰ دقیقه جذب شد و اثر افزایش جزئی غلظت مس در محلول مشاهده نشد. این محققان در نهایت بیان داشتند که سرعت بالای فرآیند نشان می‌دهد که در هر دو مورد (تجمع زیستی و جذب زیستی)، مکانیسم‌های تجمع مس مستقل از متابولیسم هستند. با استناد به نتایج این تحقیق، می‌توان گفت که در تحقیق حاضر نیز مکانیسم جذب این فلزات بویژه نیکل مستقل از متابولیسم بوده چرا که در هر دو حالت جذب فعال و غیر فعال سرعت جذب بسیار بالا بوده و در مدت زمان یکساعت میزان جذب به حداکثر مقدار خود رسیده است. گوپال و همکاران (Goyal et al., 2019) فرآیند جذب فیزیکی و کمپلکس شدن بین فلز و گروه‌های آمینه و کربوکسیلی پلی

در این مطالعه بود، ظرفیت جذب غیر فعال این باکتری نیز اگرچه در مورد سرب و کادمیوم در رتبه دوم قرار داشت ولی به دلیل امکان مقایسه بهتر و همچنین کیفیت بالاتر تصاویر SEM آن و امکان ارزیابی بهتر روند تغییرات سطح سلولی نسبت به دو فلز دیگر در نهایت اثر یون‌های فلز سرب بر مورفولوژی سطح سلولی زیست توده *Ent. Faecium* در حالت جذب فعال (شکل ۱) و جذب غیر فعال (شکل ۲) انتخاب گردید. همانطور که در شکل (b-۱) مشاهده می‌شود رسوبات آشکار سرب روی سطح سلول‌ها قابل مشاهده بوده که نشان‌دهنده ظرفیت اتصال بالای سرب توسط توده سلولی باکتری می‌باشد، در حالی که هیچگونه رسوب سربی در میکروگراف‌های سلول‌های تیمار نشده (نمونه کنترل) قابل مشاهده نبود (شکل a-۱). علاوه بر این، میکروگراف‌های SEM نشان داد که قرار گرفتن در معرض سرب منجر به تجمع عظیم سلول‌های *Ent. Faecium* در مقایسه با سلول‌های تیمار نشده، بدون تغییر مورفولوژیکی می‌شود. این پدیده ممکن است نوعی محافظت از خود توسط سلول‌های باکتری باشد که در اثر تغییر بار سطحی و انحطاط^۲ پروتئین‌های سطحی که در اثر قرار گرفتن در معرض سرب افزایش یافته و منجر به تجمع سلول‌ها شده، ایجاد می‌شود (Zhai et al., 2015). احتمالاً به دلیل آسیب ناشی از سمیت سرب، سلول‌ها تا حدی توانایی اتصال خود را از دست داده‌اند و در نتیجه غلظت سرب در محلول بعد از ۱ ساعت بیشتر از ۱۵-۱۰ دقیقه اولیه جذب فعال است. نتایج مشابهی کادوکووا و همکارانش (Kadukova et al., 2005) گزارش شده است مبنی بر اینکه تصاویر SEM آسیب روی سطوح سلول‌های زنده را نشان داد که با اسکن EM به صورت حفره‌های دهانه ای قابل مشاهده بود. آسیب‌های مشابهی به شکل غارها در تصاویر بخش سلولی به دست آمده با تکنیک TEM توسط این محققان مشاهده شد. همچنین جداسازی دیواره سلولی که احتمالاً باعث تخریب بعدی سلولی می‌شود، نیز به صورت پراکنده در جذب فعال فلزات سنگین از جمله نیکل و کادمیوم توسط باکتری‌ها مشاهده شده است (Jain et al., 2017; Goyal et al., 2019). این در حالی بود که طبق تصاویر SEM ارائه شده در شکل a-۲ و b-۲ هنگامی که سلول‌های خشک و غیرفعال *Ent. Faecium* در فرآیند استفاده شد، آسیب سطح سلولی بسیار کمی در محلول‌هایی با غلظت سرب بالا مشاهده شد که با نتایج کادوکووا و همکارانش (Kadukova et al., 2005) و در جذب غیر فعال مس توسط زیست‌توده خشک شده جلبک *C. kessleri* سازگاری دارد.

همچنین تشخیص عناصر فلزی در زیست‌توده باکتری با استفاده از طیف سنج پراکندگی انرژی پرتو ایکس (EDX) صورت گرفت. طبق نتایج بدست آمده از تجزیه و تحلیل میکروگراف EDX سیگنال سرب

موجود رقابت می‌کند که باعث پروتونه شدن دیواره سلولی می‌شود (Rathinam et al., 2010). این مطالعه همچنین گزارش می‌دهد که در pH نسبتاً اسیدی ۴، بارهای منفی روی دیواره سلولی افزایش می‌یابد و غلظت پروتون کاهش می‌یابد که منجر به کاهش بیشتر کادمیوم می‌شود. علاوه بر این در pH برابر ۶، حداکثر کاهش کادمیوم در نتیجه پروتون‌زدایی کامل گروه‌های عاملی مانند گروه‌های کربوکسیل و آمینو گزارش شد (Xiao et al., 2010). بالاتر از این pH، کاهش قابل توجهی در جذب مشاهده شد که این امر با افزایش گروه هیدروکسیل که با کادمیوم واکنش داده و آن را رسوب می‌دهد، توضیح داده شده است (Hossain et al., 2013). الهیان و همکاران (Elahian et al., 2013) نیز نشان دادند در $pH < 3$ رقابتی بین نیکل و پروتون در جهت اتصال به گروه‌های سطحی ایجاد شد در نتیجه میزان جذب پایین آمد از طرفی دیگر در $pH > 7$ ، نیکل به صورت هیدروکسید رسوب کرده و مقدار آن به صورت آزاد کاهش یافته و در نتیجه میزان جذب روند نزولی داشت.

غلظت یکی دیگر از عواملی است که می‌تواند بر روی جذب فلزات سنگین توسط میکروارگانیسم‌ها مؤثر باشد. در این راستا افزاز و همکاران (Afrac et al., 2021) با بررسی اثر *Lactobacillus paracasei* بر جذب بیولوژیکی سرب و کادمیوم در محلول آبی نشان دادند که بیشترین حذف این فلزات سنگین در pH بالا، اندازه تلقیح بالا و غلظت کم این عناصر برابر با ۸۵/۷۷ درصد بوده است. با توجه به نتایج آنها، علت کاهش جذب بیولوژیکی عناصر سنگین با افزایش غلظت اولیه، علاوه بر ناکافی بودن محل‌های اتصال به سبب اشباع محل‌های اتصال فلز، به دلیل سمی بودن این عناصر که منجر به کاهش رشد سلولی ارگانیسم می‌شود ذکر شده است. این نتایج همچنین در مطالعه ای توسط پریالاکسمی و همکاران (Priyalaxmi et al., 2014) که بر روی *B. safensis* جدا شده از رسوبات انجام شد، مورد تأیید قرار گرفت. آن‌ها گزارش دادند در غلظت ۴۰ ppm میزان جذب بیولوژیکی کادمیوم ۸۳/۵ درصد بود در حالی که با افزایش غلظت کادمیوم به ۶۰ ppm این کاهش به ۹۸ درصد افزایش یافت ولی در ادامه با افزایش غلظت کادمیوم میزان جذب آن روند نزولی نشان داد.

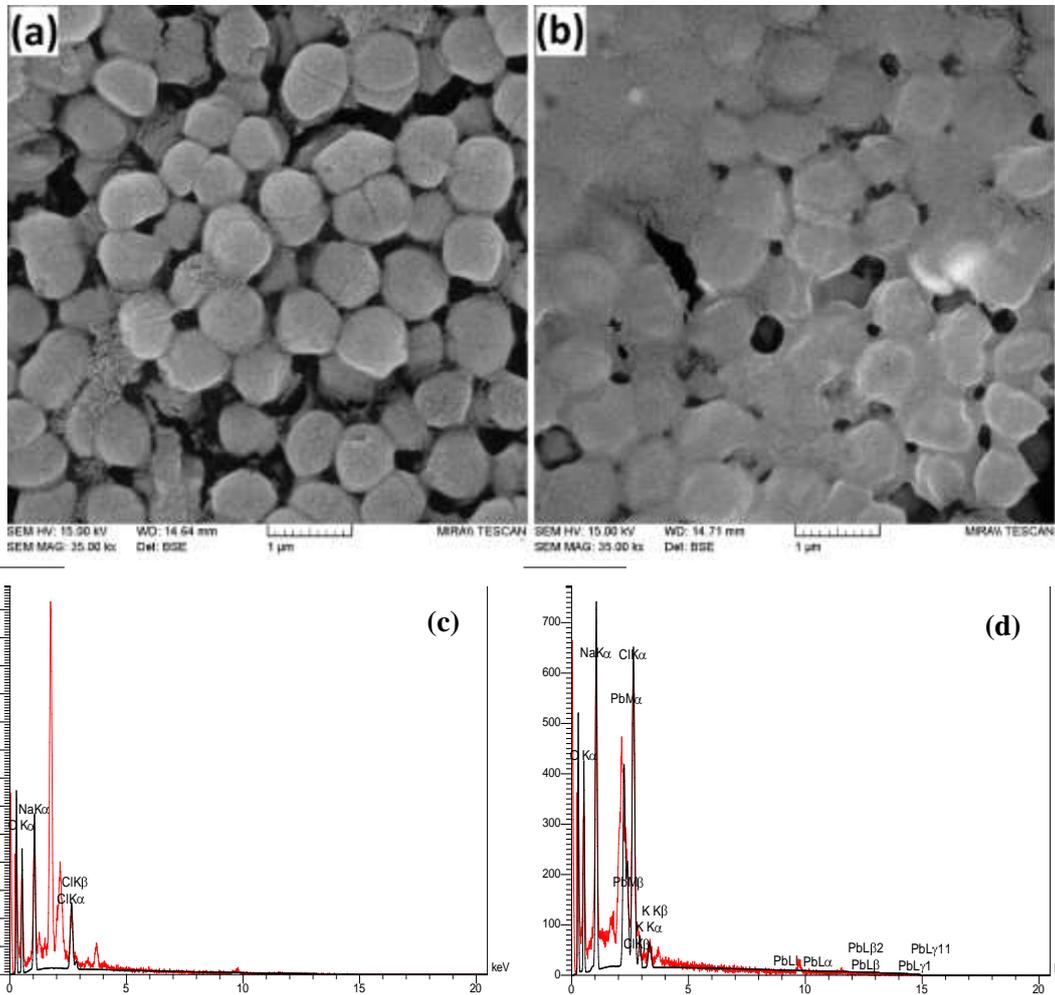
اثر فلزات سنگین بر ویژگی‌های مورفولوژی و ساختاری

سطح سلول‌های باکتریایی

تأثیر یون‌های فلزات سنگین بر روی سطوح سلولی در حالت جذب فعال و جذب غیر فعال با استفاده از تصاویر میکروسکوپ الکترونی (SEM) ارزیابی شد. طبق نتایج مرحله درون تنی^۱ باکتری *Ent. Faecium* دارای بیشترین ظرفیت جذب فعال هر سه فلز مورد بررسی

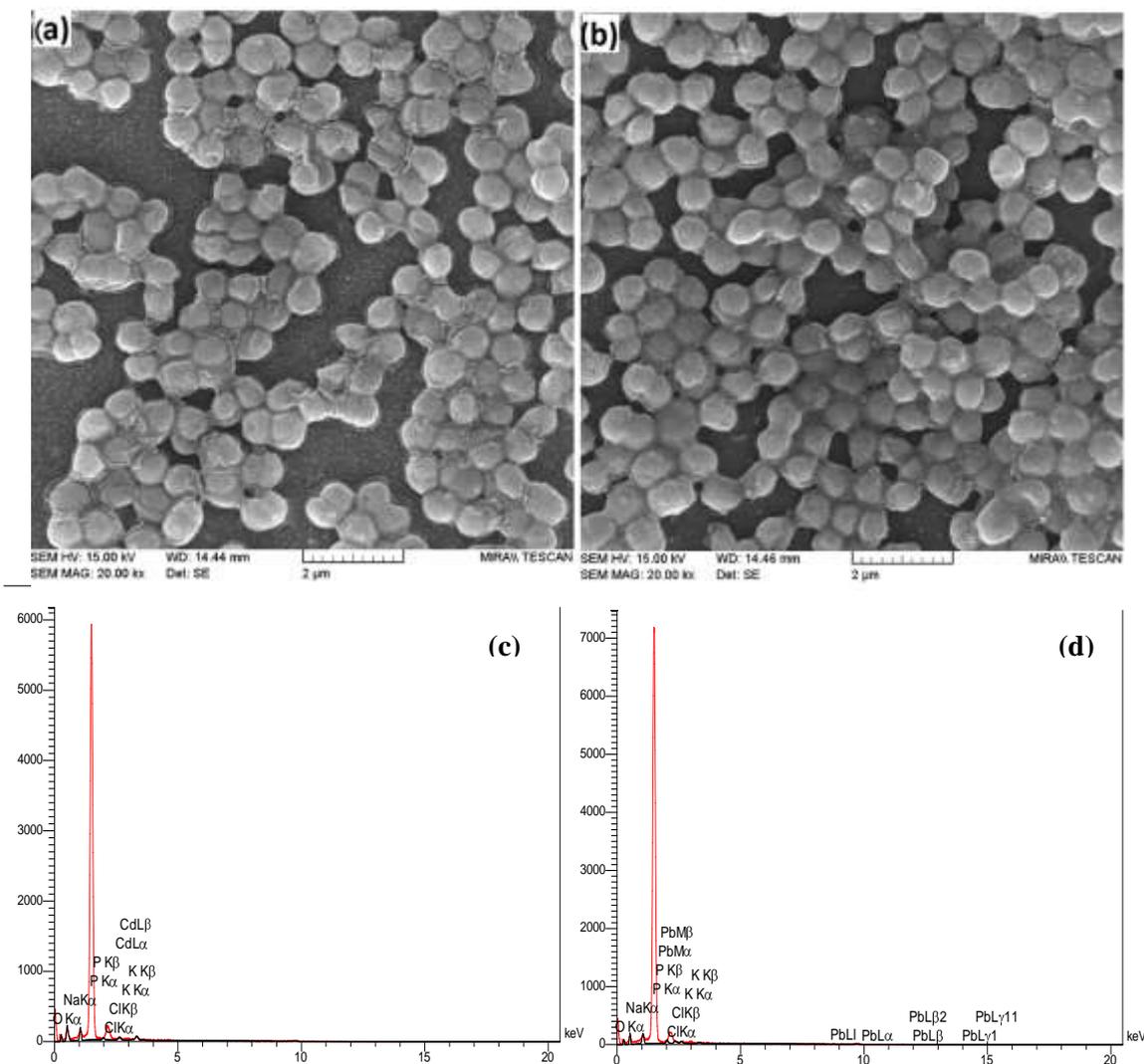
و ۲-d)، که نشان‌دهنده وجود سرب به دلیل جذب بیولوژیکی است. به عبارت دیگر، طیف EDX پیک اضافی سلول‌های تیمار شده با سرب را تایید کرد که در نمونه شاهد وجود نداشت.

در سلول‌های تیمار نشده (کنترل) هم در حالت جذب فعال و هم جذب غیر فعال قابل تشخیص نبود (شکل ۱-c و ۱-c)، اما یک پیک واضح برای سرب در سلول‌های تیمار شده با سرب مشاهده شد (شکل ۱-d-۱)



شکل ۱- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی باکتری *Ent. faecium* زنده قبل و بعد از جذب فعال سرب (a) زیست‌توده تیمار نشده (b) زیست‌توده پس از اتصال سرب (c) طیف پرتو ایکس پراکنده انرژی (EDX) از زیست‌توده تیمار نشده و (d) طیف EDX زیست‌توده پس از اتصال سرب

Fig. 1. Scanning electron microscopy images of live *Ent. faecium* before and after Pb binding. (a) Untreated biomass, (b) Biomass after Pb binding, (c) Energy dispersive X-ray (EDX) spectra of untreated biomass and (d) EDX spectra of biomass after Pb binding



شکل ۲- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی باکتری *Ent. faecium* غیرفعال قبل و بعد از جذب غیر فعال سرب (a) زیست‌توده تیمار نشده (b) زیست‌توده پس از اتصال سرب (c) طیف پرتو ایکس پراکنده انرژی (EDX) از زیست‌توده تیمار نشده و (d) طیف EDX زیست‌توده پس از اتصال سرب

Fig. 2. Scanning electron microscopy images of inactivated *Ent. faecium* before and after Pb binding. (a) Untreated biomass, (b) Biomass after Pb binding, (c) Energy dispersive X-ray (EDX) spectra of untreated biomass and (d) EDX spectra of biomass after Pb binding

اثر باکتری‌های مورد مطالعه بر جذب فلزات سنگین در سبزیجات

با توجه به اینکه بیشترین درصد جذب زیستی عناصر سنگین در سه باکتری *Ent. faecium*، *L. plantarum* و *L. fermentum* مشاهده شد، بنابراین اثر ترکیبی این سه باکتری به نسبت ۱:۱:۱ بر جذب فلزات سنگین سرب، کادمیوم و نیکل مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دهنده اثر هم‌افزایی این سه نوع باکتری بر جذب فلزات سنگین بود، به طوری که درصد جذب فعال سرب، کادمیوم و نیکل در محلول آبی به ترتیب $۹۹/۹۴ \pm ۰/۰۲$ ، $۹۹/۹۱ \pm ۰/۰۱$ و $۹۳/۷۵ \pm ۰/۰۴$

تغییرات مورفولوژیکی سطح زیست‌توده *Ent. faecium* مشاهده شده توسط SEM پس از قرار گرفتن در معرض سرب با مطالعات انجام شده توسط هالتونن و همکاران (Halttunen et al., 2008)، آمین و همکاران (Ameen et al., 2020) و ژای و همکاران (Zhai et al., 2016)، که به ترتیب رسوبات عمده سرب را بر روی سطح *Bifidobacterium* و *Lactobacillus fermentum* ME3 *L. plantarum* *longum* 46 رسوبات نیکل و کروم را بر روی سطح *L. plantarum* MF042018 و رسوبات Cd را بر روی سطح *L. plantarum* CCFM8610 پس از اتصال یافتند، مطابقت داشت.

درصد بود که به‌طور قابل توجهی بالاتر از جذب تکی این باکتری‌ها بود (جدول ۱). بنابراین، با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در این مرحله، از ترکیب این سه باکتری اسید لاکتیک در مرحله *in vitro* برای جذب فعال و غیر فعال فلزات سنگین از سبزیجات برگ‌دار خوراکی استفاده شد. سبزیجات بخش عمده‌ای از رژیم غذایی انسان در تقریباً هر نقطه از جهان هستند و مواد مغذی مورد نیاز، فیبرها، آنتی‌اکسیدان‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی را تأمین می‌کنند. بسته به ماهیت سبزیجات، برخی از آن‌ها پتانسیل بالایی برای تجمع غلظت بالاتر فلزات سنگین دارند (Yang et al., 2009). در این تحقیق بعد از گرفتن نتیجه مطلوب در مرحله آزمایشگاهی در جذب فلزات سنگین از محلول‌های آبی بصورت فعال و غیر فعال، جهت تأیید کردن کارایی بالای این سویه‌ها در حذف این فلزات از مواد غذایی، سه نوع سبزی برگی خوراکی شامل گشنیز، تره‌فرنگی و جعفری انتخاب و پس از اندازه‌گیری مقدار اولیه فلزات سنگین در آن‌ها، اثر ترکیبی این سویه‌ها به مدت ۱۵ و ۳۰ دقیقه بر میزان کاهش فلزات سنگین مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۳ و ۴). مقدار اولیه سرب در سبزیجات گشنیز، تره‌فرنگی و جعفری به ترتیب برابر ۱/۳۱۴، ۲/۱۴۸ و ۱/۸۵۶ پی‌پی‌ام اندازه‌گیری شد و با تیمار این سبزیجات به مدت ۱۵ دقیقه توسط محلول باکتری‌های زنده LAB این مقادیر به ترتیب تا ۰/۰۳۸، ۰/۰۲۸ و ۰/۰۰۸۶ پی‌پی‌ام کاهش پیدا کرد که معادل ۹۹/۷۱، ۹۹/۸۳ و ۹۹/۵۰ درصد کاهش در میزان این فلزات سنگین می‌باشد. با افزایش مدت زمان تماس بین محلول شستشوی حاوی باکتری و سبزیجات به ۳۰ دقیقه میزان حذف سرب اگرچه روند افزایش داشت ولی چندان قابل توجه نبود و علت آن این است که جذب اصلی سرب در همان ۱۵-۱۰ دقیقه اول و با سرعت بالایی صورت گرفت (جدول ۳). با مقایسه روش جذب فعال و غیر فعال در فلز سرب مشاهده می‌شود که در ۱۵ دقیقه اول، سرعت جذب در روش غیر فعال کمتر از فعال بود بطوری‌که برای سبزیجات گشنیز، تره‌فرنگی و جعفری میزان جذب سرب به ترتیب ۹۲/۹۳، ۹۶/۹۴ و ۸۸/۷۹ درصد اندازه‌گیری شد و با افزایش مدت زمان تماس تا ۳۰ دقیقه مقدار جذب به ۹۴/۰۴ الی ۹۸/۴۸ درصد رسید که نسبت به ۱۵ دقیقه اول، افزایش معنی‌داری بود. نتایج جذب فعال فلز کادمیوم توسط زیست‌توده زنده باکتری‌ها نیز حاکی از جذب بالای ۹۹/۹۰ درصدی در طول ۱۵ دقیقه اول تماس در هر سه نوع سبزی مورد بررسی در این مطالعه بود بنابراین مشابه نتایج جذب سرب، در این مورد نیز افزایش زمان تماس تا ۳۰ دقیقه تأثیر چشمگیری بر تغییرات جذب نداشت چرا که کادمیوم با سرعت بسیار بالا و در مدت زمان کوتاهی جذب زیست‌توده شد. ارزیابی اثر توده غیرزنده بر جذب کادمیوم نیز روند مشابهی نشان داد بطوری‌که در مدت زمان کمتر از ۱۵ دقیقه بیش از ۹۷ درصد کادمیوم جذب توده غیر فعال گردید و با افزایش زمان تماس تا ۳۰ دقیقه تنها

حدود ۲ درصد دیگر بر میزان جذب افزوده شد (جدول ۴). حد مجاز سرب و کادمیوم در سبزیجات برگ‌دار خوراکی طبق استاندارد سازمان جهانی WHO و FAO به ترتیب برابر ۰/۳ و ۰/۲ پی‌پی‌ام (Codex, 2001) و طبق استاندارد ایران ۰/۲ و ۰/۱ پی‌پی‌ام می‌باشد (استاندارد ملی، ۱۳۹۰) که طبق نتایج بدست آمده از این مطالعه زیست‌توده باکتری هم بصورت زنده و هم کشته شده قادر بود در مدت زمان ۱۵ دقیقه غلظت سرب و کادمیوم در سبزیجات را به کمتر از حد مجاز برساند (جدول ۳ و ۴). در تحقیقاتی مشابه دیزلی و همکاران (Daisley et al., 2019) بیان کردند که کشتن باکتری توسط گرما، تفاوت معنی‌داری در اتصال سرب و کادمیوم، نسبت به باکتری زنده نشان نداد.

طبق استاندارد WHO و FAO میزان مجاز فلز نیکل در سبزیجات برگ‌دار خوراکی ۶۷ پی‌پی‌ام اعلام شده است در حالی که میزان نیکل اندازه‌گیری شده در سبزیجات خوراکی مورد بررسی در این مطالعه شامل گشنیز، تره‌فرنگی و جعفری به ترتیب ۳۶/۱۱، ۳۳/۱۸ و ۳۱/۸۸ پی‌پی‌ام بود که کمتر از حد مجاز و قابل قبول بود بنابراین برخلاف سرب و کادمیوم که مقدار اولیه آن‌ها خارج از دامنه استاندارد بود و توسط حذف بیولوژیکی در محدوده مجاز قرار گرفت، در مورد نیکل مقدار اولیه این فلز قبل از جداسازی بیولوژیکی در حد مجاز و استاندارد بود و با استفاده از حذف بیولوژیکی ۹۱-۸۵ درصد آن در مدت زمان ۳۰ دقیقه کاهش پیدا کرد. طبق نتایج بدست آمده اثر مدت زمان تماس در مورد نیکل مؤثرتر از دو فلز سرب و کادمیوم بود بدین معنی که در روش جذب فعال بعد از ۱۵ دقیقه ۷۸-۶۸ درصد فلز نیکل از سبزیجات حذف گردید و با افزایش مدت زمان تماس تا ۳۰ دقیقه میزان حذف به ۹۱-۸۵ درصد افزایش پیدا کرد. در روش جذب غیر فعال نیز در ۱۵ دقیقه اول میزان جذب ۵۷-۳۵ درصد و در ۱۵ دقیقه دوم به ۶۹-۶۱ درصد افزایش یافت. نکته قابل توجه این است که در هر دو روش فعال و غیر فعال بیشترین درصد حذف نیکل مربوط به سبزی گشنیز در طول ۳۰ دقیقه تماس بود که یکی از دلایل آن بالاتر بودن غلظت اولیه عنصر نیکل در گشنیز نسبت به دو سبزی دیگر بود. برخی از محققان دریافته‌اند که گروه‌های کربوکسیل، آمین و فسفریل مولکول‌های سطح باکتری در فرآیند اتصال مهم هستند و منجر به جذب سریع و کافی در زمان تماس کوتاه می‌شوند (Bhakta et al., 2022).

اگرچه سطح فلزات سنگین در میوه‌ها و سبزیجات نسبتاً پایین است، ولی نمی‌توان اثر تجمعی ناشی از مصرف زیاد آنها را نادیده گرفت. بسیاری از مطالعات بر روی خطر سلامتی ناشی از آلودگی فلزات سنگین در خاک متمرکز شده‌اند. برخی از محققین نشان دادند که در مناطق آلوده ژاپن و چین قرار گرفتن مادام‌العمر در معرض Cd در سطح پایین می‌تواند باعث اختلال عملکرد کلیه و دستگاه گوارش برای ساکنان

توانایی اتصال Cd از ۴۸/۱۶٪ به ۵/۹۵٪ منجر شد، این نوع کاهش همچنین هنگامی که گروه‌های کربوکسیل خنثی شدند نیز مشاهده شد و این موضوع نشان‌دهنده اهمیت گروه‌های عاملی موجود در دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت در پاک‌سازی زیستی فلزات سنگین می‌باشد (Yang et al., 2009). مشاهدات میکروسکوپ الکترونی و طیف پرتو ایکس پراکنده انرژی (EDX) تایید کرد که بخش عمده Cd به سطح سلول باکتری متصل شده است.

جذب زیستی فرآیندی وابسته به انرژی است و از این رو دما نقش مهمی در راندمان حذف فلز توسط آن ایفا می‌کند. این راندمان با تغییر دما که بر دیواره سلولی و بخش‌های عملکردی آن تأثیر می‌گذارد افزایش یا کاهش می‌یابد و با تغییر پایداری و ترکیب دیواره سلولی و وضعیت یونیزاسیون گروه‌های عاملی تأثیر می‌گذارد (Bhakta et al., 2022). بسیاری از محققان بیان کرده‌اند که جذب زیستی و تجمع زیستی فلزات سنگین توسط LAB هر دو استراتژی‌های سم‌زدایی موفق هستند زیرا از قرار گرفتن فلزات سنگین در سلول‌ها و بافت‌های بدن جلوگیری می‌کنند (Karami et al., 2020; Fakhri et al., 2020).

محلی شود (Filannino et al., 2015). ژای و همکاران (Zhai et al., 2016) سویه *L. plantarum* CCFM8610 را بعنوان یک پروبیوتیک با خواص اتصال نسبتاً خوب به Cd مورد بررسی قرار دادند و کاربرد بالقوه آن را در آب میوه و سبزیجات برای محافظت از انسان در برابر قرار گرفتن در معرض Cd ارزیابی کردند. در مطالعه آنها، سلول‌های باکتریایی زنده *L. plantarum* به آب میوه و سبزیجات شامل سیب، خیار و گوجه فرنگی برداشت شده از منطقه آلوده در چین با غلظت نهایی ۱۰^۷ cfu/mL اضافه شد و کلنی‌ها پس از ۳۶ ساعت گرمخانه‌گذاری شمارش شدند. پس از آن، مایع رویی برای اندازه‌گیری محتوای کادمیوم توسط اسپکتروفتومتری جذب اتمی شعله جمع‌آوری شد و نتایج نشان داد که میزان حذف کادمیوم در آب میوه‌های مختلف پس از تیمار ۳۶ ساعته با *L. plantarum* از ۵۶/۱۸ تا ۸۱/۷۹ درصد متغیر است. تحقیقات بیشتر نشان داد که ۴۰/۵۴ درصد کادمیوم در بیرون دیواره سلولی تجمع می‌یابد و ۵۴/۳۰ درصد کادمیوم بین غشای سیتوپلاسمی سلولی و دیواره سلولی قرار دارد. میزان کادمیوم وارد شده به پروتوپلاست نیز تقریباً ۷ درصد است. علاوه بر این، این تحقیق همچنین نشان داد که وقتی برخی از گروه‌های عاملی واقع در سطح سلولی باکتری اصلاح شوند، توانایی اتصال Cd آن مختل می‌شود. به عنوان مثال، متیلاسیون گروه‌های آمینه در سطح سلول به کاهش

جدول ۳- مقادیر فلزات سنگین در سبزیجات برگ‌دار خوراکی قبل و بعد از قرار گرفتن در معرض ترکیبی از سویه‌های فعال LAB منتخب (*L. fermentum*, *L. plantarum* و *E. faecium*) بعنوان محلول شستشو

Table 3. Amounts of heavy metals in edible leafy vegetables before and after exposure to selected LAB isolates (*L. plantarum*, *L. fermentum* and *E. faecium*) when used in combination for washing solution (mgkg⁻¹)

Sample	Pb			Cd			Ni		
	Time (min)								
	Control	15	30	Control	15	30	Control	15	30
Coriander	1.314	0.0038 ^{b,C}	0.0012 ^{a,AB}	1.118	0.0008 ^{a,B}	0.0003 ^{a,A}	36.111	7.631 ^{a,E}	3.182 ^{a,D}
گشنیز	±0.005	±0.0003	±0.0001	±0.001	±0.0001	±0.0001	±0.009	±0.004	±0.003
Leek	2.148	0.0028 ^{a,C}	0.0011 ^{a,B}	1.053	0.0009 ^{a,B}	0.0003 ^{a,A}	33.183	10.414 ^{c,E}	4.803 ^{c,D}
تره فرنگی	±0.009	±0.0002	±0.0001	±0.002	±0.0000	±0.0001	±0.008	±0.002	±0.003
Parsley	1.856	0.0086 ^{c,D}	0.0039 ^{b,C}	1.021	0.0006 ^{a,B}	0.0032 ^{a,A}	31.879	9.111 ^{b,F}	4.002 ^{b,E}
جعفری	±0.012	±0.0001	±0.0004	±0.002	±0.0001	±0.0002	±0.005	±0.005	±0.004

* حروف کوچک غیر مشترک در هر ستون و حروف بزرگ غیر مشترک در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۹۵ درصد می‌باشد ($p < 0.05$). همچنین اعداد انحراف معیار کمتر از ۰/۰۰۱ ذکر نشده است.

* Different small letters in each column and uppercase letters in each row indicate statistically significant differences between groups as determined by the Duncan test ($p < 0.05$)

جدول ۴- مقادیر فلزات سنگین در سبزیجات برگ‌دار خوراکی قبل و بعد از قرار گرفتن در معرض ترکیبی از توده غیرفعال سویه‌های LAB منتخب (*E. faecium* و *L. fermentum*, *L. plantarum*) بعنوان محلول شستشو (mgkg^{-1})

Table 4- Amounts of heavy metals in edible leafy vegetables before and after exposure to selected inactivated LAB isolates (*L. plantarum*, *L. fermentum* and *E. faecium*) when used in combination for washing solution (mgkg^{-1})

Sample	Pb			Cd			Ni		
	Time (min)								
	مدت زمان تماس								
	Control	15	30	Control	15	30	Control	15	30
Coriander	1.314 ^{c,A}	0.0928 ^{b,B}	0.0448 ^{a,C}	1.118 ^{a,A}	0.0286 ^{b,B}	0.0191 ^{a,C}	36.111 ^{a,A}	15.483 ^{c,B}	10.846 ^{c,C}
گشنیز	± 0.005	± 0.0002	± 0.0001	± 0.008	± 0.0003	± 0.0001	± 0.009	± 0.002	± 0.003
Leek	2.148 ^{a,A}	0.0656 ^{a,B}	0.0324 ^{b,C}	1.053 ^{b,A}	0.0342 ^{a,B}	0.0171 ^{b,C}	33.183 ^{b,A}	19.407 ^{b,B}	11.506 ^{b,C}
تره فرنگی	± 0.009	± 0.0003	± 0.0001	± 0.006	± 0.0001	± 0.0001	± 0.008	± 0.004	± 0.001
Parsley	1.856 ^{b,A}	0.0209 ^{c,B}	0.0192 ^{c,C}	1.021 ^{c,A}	0.0231 ^{c,B}	0.0132 ^{c,C}	31.879 ^{c,A}	20.418 ^{a,B}	12.118 ^{a,C}
جعفری	± 0.012	± 0.0004	± 0.0001	± 0.005	± 0.0002	± 0.0000	± 0.005	± 0.002	± 0.001

* حروف کوچک غیر مشترک در هر ستون و حروف بزرگ غیر مشترک در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۹۵ درصد می‌باشد ($p < 0.05$). همچنین اعداد انحراف معیار کمتر از ۰/۰۰۱ ذکر نشده است.

* Different small letters in each column and uppercase letters in each row indicate statistically significant differences between groups as determined by the Duncan test ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری

که در مورد زیست‌توده غیر زنده تغییرات سطح دیواره بسیار ناچیز بود. بطور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که زیست‌توده زنده و همچنین غیر زنده سویه‌های LAB دارای کارایی بسیار بالایی در حذف فلزات سنگین از محیط‌های آبی و مواد غذایی می‌باشد ولی استفاده از زیست توده غیر زنده مزایایی دارد که بطور خلاصه اشاره می‌گردد؛ وقتی از سلول‌های زنده استفاده می‌شود، همیشه این خطر وجود دارد که فلز بتواند در داخل سلول جمع شده و زباله‌های جدیدی ایجاد شود. همچنین، پیش‌بینی رفتار سلول زنده در حضور یک فلز سنگین دشوارتر است، در صورتی‌که زیست‌توده برای تهیه جاذب در زمان کشت یکسان جداسازی نشود، ظرفیت جذب سلول‌ها می‌تواند متفاوت باشد. همچنین آسیب جدی سلول‌های زنده باعث کاهش ظرفیت فرآیند و عدم امکان استفاده مجدد از زیست‌توده می‌شود. مزیت بزرگ دیگر استفاده از زیست‌توده مرده امکان تثبیت آن در ساختارهای جامد است که باعث می‌شود ماده‌ای با اندازه مناسب، استحکام مکانیکی، سختی و تخلخل مناسب برای استفاده در ستون‌های جذب ضروری باشد. به این دلیل، زیست‌توده مرده به جاذب زیستی مناسب‌تری برای فلزات سنگین تبدیل شده است.

نتایج این تحقیق نشان داد که سویه‌های مورد استفاده در این مطالعه توانایی بسیار خوبی در جذب فلزات سرب، کادمیوم و نیکل از محلول آبی داشتند. به‌طور کلی، فرآیند جداسازی فلزات سنگین از محلول توسط سلول‌های زنده بسیار سریع بود و با بکار بردن زیست توده غیر فعال سرعت جذب این فلزات سمی افزایش قابل توجهی نشان داد بطوری‌که در مدت زمان کمتر از یک ساعت حدود ۹۸ درصد سرب، ۸۶ درصد نیکل و ۸۱ درصد کادمیوم از محلول‌های آزمایشگاهی جذب این باکتری‌های غیر زنده گردید. طبق نتایج مرحله برون تنی که از ترکیب سه سویه منتخب با بالاترین درصد جذب شامل *L. plantarum*، *E. faecium* و *L. fermentum* استفاده شد، راندمان حذف فلزات سنگین توسط سلول‌های زنده در مدت زمان ۳۰ دقیقه تا حدودی بالاتر از ارگانایسم‌های کشته شده بود ولی در هر دو حالت در مدت زمان بسیار کوتاهی سطح فلزات سنگین موجود در سبزیجات برگ‌دار خوراکی به کمتر از حد مجاز و استاندارد جهانی و داخلی رسید. نتایج تصاویر SEM و EDX حاکی از تجمع فلز سرب بر روی سطح باکتری *E. faecium* زنده و آسیب بیشتر به دیواره سلولی بود در حالی

References

- Afraz, V., Younesi, H., Bolandi, M., & Hadiani, M.R. (2021). Assessment of resistance and biosorption ability of *Lactobacillus paracasei* to remove lead and cadmium from aqueous solution. *Water Environment Research*, 93(9), 1589-1599. <https://doi.org/10.1002/wer.1540>
- Ameen, F.A., Hamdan, A.M., & El-Naggar, M.Y. (2020). Assessment of the heavy metal bioremediation efficiency of the novel marine lactic acid bacterium, *Lactobacillus plantarum* MF042018. *Scientific Reports*, 10(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-57210-3>
- Arivalagan, P., Singaraj, D., Haridass, V., & Kaliannan, T. (2014). Removal of cadmium from aqueous solution by batch studies using *Bacillus cereus*. *Ecological Engineering*, 71, 728-735. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.08.005>

4. Astolfi, M. L., Protano, C., Schiavi, E., Marconi, E., Capobianco, D., Massimi, L., & Mastromarino, P. (2019). A prophylactic multi-strain probiotic treatment to reduce the absorption of toxic elements: In-vitro study and biomonitoring of breast milk and infant stools. *Environment International*, 130, 104818. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.05.012>
5. Bhakta, J. N., Ohnishi, K., Tsunemitsu, Y., Ueno, D., & Manna, K. (2022). Assessment of arsenic sorption properties of lactic acid bacteria isolated from fecal samples for application as bioremediation tool. *Applied Water Science*, 12, 116. <https://doi.org/10.1007/s13201-022-01634-2>
6. Codex Alimentarius commission (WHO/FAO). (2001). Food additives and contaminants joint, (WHO/FAO). Food standard program. ALINORM 01/12A, Geneva: Jo, 1-289.
7. Daisley, B.A., Monachese, M., Trinder, M., Bisanz, J.E., Chmiel, J.A., Burton, J.P., & Reid, G. (2019). Immobilization of cadmium and lead by *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 mitigates apical-to-basolateral heavy metal translocation in a Caco-2 model of the intestinal epithelium. *Gut Microbes*, 10(3), 321-333. <https://doi.org/10.1080/19490976.2018.1526581>
8. Delgado, A., Anselmo, A.M., & Novais, J.M. (1998). Heavy metal biosorption by dried powdered mycelium of *Fusarium flocciferum*. *Water Environment Research*, 70(3); 370-376. <https://doi.org/10.2175/106143098X125019>
9. Elahian, F., Moghimi, B., Dinmohammadi, F., Ghamghami, M., Hamidi, M., & Mirzaei, S.A. (2013). The anticancer agent prodigiosin is not a multidrug resistance protein substrate. *DNA and Cell Biology*, 32(3), 90-97. <https://doi.org/10.1089/dna.2012.1902>
10. Elsanhoty, R.M., Al-Turki, I.A., & Ramadan, M.F. (2016). Application of lactic acid bacteria in removing heavy metals and aflatoxin B1 from contaminated water. *Water Science and Technology*, 74(3), 625-638. <https://doi.org/10.2166/wst.2016.255>
11. Fakhri, Y., Djahed, B., Toolabi, A., Raoofi, A., Gholizadeh, A., Eslami, H., Taghavi, M., Alipour, M.R., & Mousavi Khaneghah, A. (2020). Potentially toxic elements (PTEs) in fillet tissue of common carp (*Cyprinus carpio*): a systematic review, meta-analysis and risk assessment study. *Toxin Reviews*, 40(4), 1505-1517. <https://doi.org/10.1080/15569543.2020.1737826>
12. Filannino, P., Bai, Y., Di Cagno, R., Gobetti, M., & Gänzle, M.G. (2015). Metabolism of phenolic compounds by *Lactobacillus* spp. during fermentation of cherry juice and broccoli puree. *Food Microbiology*, 46, 272-279. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.08.018>
13. Folligné, B., Daniel, C., & Pot, B. (2013). Probiotics from research to market: the possibilities, risks and challenges. *Current Opinion in Microbiology*, 16(3), 284-292. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2013.06.008>
14. Goyal, P., Belapurkar, P., & Kar, A. (2019). A review on in vitro and in vivo bioremediation potential of environmental and probiotic species of *Bacillus* and other probiotic microorganisms for two heavy metals, Cadmium and Nickel. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 16(1), 1-13. <https://doi.org/10.13005/bbra/2714>
15. Halttunen, T., Salminen, S., & Tahvonon, R. (2007). Rapid removal of lead and cadmium from water by specific lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 114(1), 30- 35. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.10.040>
16. Halttunen, T., Salminen, S., Meriluoto, J., Tahvonon, R., & Lertola, K. (2008). Reversible surface binding of cadmium and lead by lactic acid and bifidobacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 125, 170-175. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.03.041>
17. Hossain, A., & Aditya, G. (2013). Cadmium biosorption potential of shell dust of the fresh water invasive snail *Physaacuta*. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 1(3), 574-580. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2013.06.030>
18. ISIRI (Institute of Standards and Industrial Research of Iran), 2011. Food & feed-maximum limit of heavy metals. Iranian National Standard 12968 (1st revision).
19. Jain, A.N., Udayashankara, T.H., Lokesh, K.S., & Sudarshan, B.L. (2017). Bioremediation of lead, nickel and copper by metal resistant *Bacillus licheniformis* isolated from mining site: optimization of operating parameters under laboratory conditions. *International Journal of Engineering Research & Technology*, 5, 13-32.
20. Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B.B., & Beeregowda, K.N. (2014). Toxicity mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscip Toxicol*, 7, 60-72. <https://doi.org/10.2478/intox-2014-0009>
21. Kaduková, J., & Virčíková, E. (2005). Comparison of differences between copper bioaccumulation and biosorption. *Environment International*, 31, 227- 232. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2004.09.020>
22. Karami, H., Shariatifar, N., Nazmara, S., Moazzen, M., Mahmoodi, B., & Mousavi Khaneghah, A. (2020). The concentration and probabilistic health risk of potentially toxic elements (PTEs) in edible mushrooms (wild and cultivated) samples collected from different cities of Iran. *Biological Trace Element Research*, 199, 389-400. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02130-x>

23. Kinoshita, H., Sohma, Y., Ohtake, F., Ishida, M., Kawai, Y., Kitazawa, H., & Kimura, K. (2013). Biosorption of heavy metals by lactic acid bacteria and identification of mercury binding protein. *Research in Microbiology*, 164(7), 701-709. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2013.04.004>
24. Kirillova, A.V., Danilushkina, A.A., Irisov, D.S., Bruslik, N.L., Fakhrullin, R.F., Zakharov, Y.A., Bukhmin, V.S., & Yarullina, D.R. (2017). Assessment of resistance and bioremediation ability of *Lactobacillus* strains to Lead and Cadmium. *International Journal of Microbiology*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/9869145>
25. Majlesi, M., Shekarforoush, S.S., Ghaisari, H.R., Nazifi, S., & Sajedianfard, J. (2017). Effect of *Bacillus coagulans* and *Lactobacillus plantarum* as probiotic on decreased absorption of cadmium in rat. *Journal of Food Hygiene*, 6(22), 25-33.
26. Massoud, R., Khosravi-Darani, K., Sharifan, A., Asadi, G., & Zoghi, A. (2020). Lead and cadmium biosorption from milk by *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. *Food Science & Nutrition*, 8, 5284-5291. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1825>
27. Mirza Alizadeh, A., Hosseini, H., Mohseni, M., Eskandari, S., Sohrabvandi, S., Hosseini, M.J., Tajabadi-Ebrahimi, M., Mohammadi-Kamrood, M., & Nahavandi, S. (2021). Analytic and chemometric assessments of the native probiotic bacteria and inulin effects on bioremediation of lead salts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(12), 5142-5153. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11160>
28. Mrvčić, J., Stanzer, D., Šolić, E. & Stehlik-Tomas, V. (2012). Interaction of lactic acid bacteria with metal ions: opportunities for improving food safety and quality. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28, 2771-2782. <https://doi.org/10.1007/s11274-012-1094-2>
29. Özdemir, S., Kılınc, E., Poli, A., & Nicolaus, B. (2013). Biosorption of heavy metals (Cd^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , and Mn^{2+}) by thermophilic bacteria, *Geobacillus thermantarcticus* and *Anoxybacillus amylolyticus*: equilibrium and kinetic studies. *Bioremediation Journal*, 17(2), 86-96. <https://doi.org/10.1080/10889868.2012.751961>
30. Pakdel, M., Soleimani-Zad, S., & Akbari-Alavijeh, S. (2019). Screening of Lactic acid bacteria to detect potent biosorbents of lead and cadmium. *Food Control*, 100, 144-150. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.12.044>
31. Priyalaxmi, R., Murugan, A., Raja, P., & Raj, K.D. (2014). Bioremediation of cadmium by *Bacillus safensis* (JX126862), a marine bacterium isolated from mangrove sediments. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(12), 326-335.
32. Rathinam, A., Maharshi, B., Janardhanan, S.K., Jonnalagadda, R.R., & Nair, B.U. (2010). Biosorption of cadmium metal ion from simulated wastewaters using *Hypnea valentiae* biomass: a kinetic and thermodynamic study. *Bioresource Technology*, 101(5), 1466-1470. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.08.008>
33. Sardar, K., Ali, S., Hameed, S., Afzal, S., Fatima, S., Shakoor, M.B., & Tauqeer, H.M. (2013). Heavy metals contamination and what are the impacts on living organisms. *Greener Journal of Environmental Management and Public Safety*, 2(4), 172-179.
34. Shamim, S. (2018). Biosorption of heavy metals. *Biosorption*, 2, 21-49. <https://doi.org/10.5772/intechopen.72099>
35. Sulaymon, A.H., Mohammed, A.A., & Al-Musawi, T.J. (2013). Competitive biosorption of lead, cadmium, copper, and arsenic ions using algae. *Environmental Science and Pollution Research*, 20, 3011-3023. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1208-2>
36. Xiao, X., Luo, S., Zeng, G., Wei, W., Wan, Y., Chen, L., Guo, H., Cao, Z., Yang, L., Chen, J., & Xi, Q. (2010). Biosorption of cadmium by endophytic fungus (EF) *Microsphaeropsis* sp. LSE10 isolated from cadmium hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. *Bioresource Technology*, 101(6), 1668-1674. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.09.083>
37. Yang, Y., Zhang, F.S., Li, H.F., & Jiang, R.F. (2009). Accumulation of cadmium in the edible parts of six vegetable species grown in Cd-contaminated soils. *Journal of Environmental Management*, 90(2), 1117-1122. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2008.05.004>
38. Zahedifar, M., Moosavi, A.A., Zarei, Z., Shafiq, M., & Karimian, F. (2019). Heavy metals content and distribution in basil (*Ocimum basilicum* L.) as influenced by cadmium and different potassium sources. *International Journal of Phytoremediation*, 21(5), 435-447. <https://doi.org/10.1080/15226514.2018.1537253>
39. Zhai, Q., Tian, F., Wang, G., Zhao, J., Liu, X., Cross, K., & Chen, W. (2016). The cadmium binding characteristics of a lactic acid bacterium in aqueous solutions and its application for removal of cadmium from fruit and vegetable juices. *RSC Advances*, 6(8), 5990-5998. <https://doi.org/10.1039/C5RA24843D>
40. Zhai, Q., Xiao, Y., Tian, F., Wang, G., Zhao, J., Liu, X., & Chen, W. (2015). Protective effects of lactic acid bacteria-fermented soymilk against chronic cadmium toxicity in mice. *RSC Advances*, 5(6), 4648-4658. <https://doi.org/10.1039/C4RA12865F>
41. Zoghi, A., Khosravi-Darani, K., & Sohrabvandi, S. (2014). Surface binding of toxins and heavy metals by probiotics. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 14(1), 84-98.



Production and Evaluation of Caffeine Nanochitosome and Instant Drink Powder Enriched with It

R. Shaddel^{1*}, Sh. Rajabi-Moghaddam²

1 and 2- Associate Professor and M.Sc Graduated in Food Science & Technology, Department of Food Science & Technology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran, respectively.

(*- Corresponding Author Email: r.shaddel@uma.ac.ir)

How to cite this article:

Received: 15.01.2023
Revised: 09.05.2023
Accepted: 10.05.2023
Available Online: 13.05.2023

Shaddel, R., & Rajabi-Moghaddam, Sh. (2024). Production and evaluation of caffeine nanochitosome and instant drink powder enriched with it. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 20(1), 135-152. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.80391.1231>

Introduction

Caffeine is one of the most common bioactive compounds in the world that can enhance mental and physical performance. However, its bitter taste has created challenges for the use of this compound in food. Nano-encapsulation technology, such as the use of liposomes, is one of the simplest ways to overcome this issue. In this research, caffeine was encapsulated in nanoliposomes coated with chitosan and then the drink powder enriched with caffeine nanochitosome was produced.

Materials and methods

In this research, pure caffeine powder was purchased and stored in dry environment at room temperature. Ethanol (96%) and acetic acid were obtained from Mojallali Company, Tween 80 from Merck Company (Germany), lecithin (P3556), cholesterol (C8667), and chitosan (medium molecular weight) purchased from Sigma Aldrich Company (Germany). Sugar, essential oil and citric acid used in the formulation of the drink were purchased from a local store.

First, nanochitosomes in ratios of 9:1, 8:2 and 7:3 lecithin-cholesterol, were prepared using thin-layer hydration method. Then, the particle size and zeta potential were measured to determine the characteristics of the produced particles. Encapsulation efficiency was measured for 9:1, 8:2 and 7:3 lecithin-cholesterol ratios. The stability of the chitosomal sample with a ratio of 9:1 lecithin-cholesterol was evaluated through visual observation of precipitation formation and the amount of release of encapsulated caffeine during 60 days of storage at ambient temperature was calculated. FTIR was performed for each of the components of the wall of chitosomes, caffeine powder, chitosomal solution containing caffeine and chitosomal solution without caffeine with a ratio of 9:1 lecithin-cholesterol. Nanochitosomes with 9:1 lecithin-cholesterol ratio were used in the formulation of beverages due to having the smallest particle size, favorable zeta potential, the highest microencapsulation efficiency, and high stability during storage. The drink samples were prepared in different formulations (samples containing 3 and 5% free caffeine solution, samples containing 3 and 5% chitosomal caffeine solution and the control sample). Then, the drinks were evaluated in terms of sensory characteristics and other physico-chemical characteristics (pH, acidity, Brix degree, etc.). The drinks produced were turned into powder with a freeze-dryer machine, and two important characteristics of powdered products, i.e. water solubility index and their hygroscopicity, were evaluated.

Results and Discussion



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.80391.1231>

The average particle size and zeta potential for different ratios of lecithin -cholesterol were obtained in the range of 133.3-443.6 nm and +40.96 to +48.36, respectively. The encapsulation efficiency for 9:1, 8:2 and 7:3 lecithin-cholesterol ratios were 91.2%, 86.18% and 79.09 %, respectively. The chitosomal sample with 9:1 lecithin-cholesterol ratio showed good stability during 60 days of storage at ambient temperature. FTIR results showed that caffeine was loaded in nanochitosomes. The results of the sensory evaluation of the prepared beverages showed the acceptability of the taste of the samples containing caffeine nanochitosome compared to the samples containing free caffeine, which indicates the success of chitosomal nanocarriers in covering the bitter taste of caffeine. The results of measuring the color of different drink samples showed that there is no significant difference between the color of samples. The results of measuring pH and acidity did not show significant differences between different drink samples. The results of measuring the solubility of different drink powder samples showed that the samples containing caffeine nanochitosomes have low solubility compared to other drink powder samples. Also, the hygroscopic amount of the drink powder containing caffeine nanochitosomes was lower than the other samples, which is considered as an advantage for powdered products.

The results obtained in this research showed that nanochitosomes are an efficient system in covering the bitter taste of caffeine. Therefore, with the production of caffeine nanochitosomes and its usage in the formulation of powder drinks, it is possible to produce energizing and desirable drinks without the need to use high amounts of sucrose.

Keywords: Bioactive compounds, Chitosan, Encapsulation, Instant drink powder

مقاله پژوهشی

جلد ۲۰، شماره ۱، فروردین-اردیبهشت ۱۴۰۳، ص. ۱۳۵-۱۵۲

تولید و ارزیابی نانوکیتوزوم کافئین و پودر نوشیدنی فوری غنی‌سازی شده با آن

رضوان شاددل^{۱*} - شادی رجیبی مقدم^۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۲۰

چکیده

در این پژوهش، ریزپوشانی کافئین در نانولیپوزوم‌های پوشش‌داده شده با کیتوزان به منظور کاهش طعم تلخ این ترکیب، و سپس تولید پودر نوشیدنی غنی‌شده با آن صورت گرفت. ابتدا نانوکیتوزوم‌ها، در نسبت‌های ۱:۹، ۲:۸ و ۳:۷ لستین-کلیسترو، با روش هیدراتاسیون لایه نازک تهیه شدند. میانگین اندازه ذرات و پتانسیل زتا برای نسبت‌های مختلف لستین-کلیسترو، به ترتیب در محدوده ۴۴۳/۶-۱۳۳/۳ نانومتر و ۴۰/۹۶+ تا ۴۸/۳۶+ بدست آمد. نمونه کیتوزومی با نسبت ۱:۹ لستین-کلیسترو، پایداری خوبی را در طول ۶۰ روز نگهداری نشان داد. نانوکیتوزوم‌های دارای نسبت ۱:۹ لستین-کلیسترو در فرمولاسیون نوشیدنی‌ها استفاده شدند. نمونه‌های نوشیدنی پس از تهیه شدن در فرمولاسیون‌های مختلف (نمونه‌های حاوی ۳ و ۵٪ محلول آزاد کافئین، نمونه‌های حاوی ۳ و ۵٪ محلول کیتوزومی کافئین و نمونه‌ی شاهد)، مورد ارزیابی حسی قرار گرفتند که نتایج نشان‌دهنده‌ی مقبولیت طعم نمونه‌های حاوی نانوکیتوزوم کافئین در مقایسه با نمونه‌های حاوی کافئین آزاد بود. سپس، نوشیدنی‌ها از نظر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی (pH، اسیدیته، درجه بریکس و رنگ) ارزیابی شدند. در ادامه، نوشیدنی‌ها با استفاده از دستگاه خشک‌کن انجمادی به شکل پودر درآمدند تا ویژگی‌های شاخص انحلال‌پذیری آب و هیگروسکوپی آن‌ها مورد ارزیابی قرار گیرند. نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان انحلال‌پذیری و هیگروسکوپی پودر نوشیدنی‌ها، نشان داد که نمونه‌های حاوی نانوکیتوزوم کافئین انحلال‌پذیری و هیگروسکوپی پایینی نسبت به سایر نمونه‌ها دارند. نتایج کلی این پژوهش، نشان‌دهنده‌ی کارآمد بودن نانوکیتوزوم‌ها در پوشش‌دهی طعم تلخ کافئین بود. لذا با تولید نانوکیتوزوم‌های کافئین و استفاده از آن در فرمولاسیون پودر نوشیدنی‌ها، می‌توان نوشیدنی‌های انرژی‌زا، بدون نیاز به استفاده از مقادیر بالای ساکارز تولید کرد.

واژه‌های کلیدی: پودر نوشیدنی فوری، ترکیبات زیست فعال، ریزپوشانی، کیتوزان

مقدمه

بیشتر شده و فرد فعال تر و پرانرژی‌تر می‌شود (Chow et al., 2019). نوشیدنی‌های انرژی‌زا، چای و قهوه معمولاً حاوی مقادیر زیادی کافئین هستند (Ilgaz et al., 2018). کافئین خالص، به شکل پودر کریستالی سفید رنگ، با طعم و مزه‌ی تلخ است (Sivrikaya, 2020). به‌طور معمول، در محصولات غذایی از ساکارز همراه با سایر طعم‌دهنده‌ها، برای پوشاندن طعم تلخ این ترکیب استفاده می‌شود (Islam et al., 2016). علاوه‌براین، مصرف دوزهای بالای کافئین باعث ایجاد اثرات منفی مانند اضطراب، بی‌قراری، بی‌خوابی و بیماری‌های قلبی-عروقی

طی سالیان اخیر، محققان به دنبال راهی برای افزایش سطح هوشیاری افراد در طول عملیات‌های سخت و طولانی مدت هستند. کافئین (۱، ۳، ۷-تری متیل گزانتین)، یکی از رایج‌ترین ترکیبات زیست فعال در جهان است که می‌تواند عملکرد ذهنی را افزایش داده، خستگی را از بین برده و افسردگی را کاهش دهد (Seyedabadi et al., 2021). مصرف مقادیر متوسط کافئین (۲۰۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم) با کاهش غلظت آدنوزین در مغز همراه است که در نتیجه‌ی آن هوشیاری مصرف‌کننده

۱ و ۲- به ترتیب دانشیار و دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و مهندسی صنایع غذایی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

(* - نویسنده مسئول: r.shaddel@uma.ac.ir (Email:))

غنی‌سازی شده با نانوکیتوزوم کافئین و بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نوشیدنی‌های تولید شده است.

مواد و روش‌ها

مواد

پودر کافئین خالص از شرکت نیکوشیمی خریداری و در محیط عاری از رطوبت در دمای اتاق نگهداری گردید. اتانول ۹۶٪ و اسید استیک از شرکت مجلی، توپین ۸۰ از شرکت مرک آلمان، لستین (P3556) و کلاسترول (C8667) و نیز کیتوزان (50000-190000) (Da) از شرکت سیگما آلدريج آلمان تهیه شدند. شکر، اسانس خوراکی و اسیدسیتریک مورد استفاده در فرمولاسیون نوشیدنی از فروشگاه محلی خریداری گردید.

روش‌های تولید محصول و آزمون‌ها

محتوای کافئین

غلظت کافئین با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (BEL PHOTONICS مدل UV-M51، ایتالیا) در طول موج ۲۷۶ نانومتر تعیین، و منحنی استاندارد کافئین رسم شد ($y = 0.0035x + 0.0112$ ، $R^2 = 0.9988$) (Seyedabadi et al., 2021).

آماده‌سازی کیتوزوم‌های حاوی کافئین

از روش هیدراتاسیون لایه نازک مشابه روش سرابندی و همکاران (Sarabandi et al., 2019a)، با اعمال برخی تغییرات برای آماده سازی نانوکیتوزوم‌ها استفاده شد. برای این منظور نانوکیتوزوم‌های حاوی کافئین در نسبت‌های وزنی ۱:۹، ۲:۸ و ۳:۷ لستین-کلاسترول آماده شدند. در ادامه، مقادیر مختلف لستین در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول به مدت ۲ ساعت روی همزن مغناطیسی هیتردار (آلفا مدل D500، ایران) همزده شد و یک شب در یخچال نگهداری گردید تا به خوبی هیدراته شود. سپس مقادیر ذکر شده کلاسترول همراه با ۰/۰۲ گرم توپین ۸۰ به نمونه‌های لستین هیدراته افزوده شد. محلول‌های نهایی پس از اختلاط کامل، به فلاسک ته‌گرد انتقال یافتند و با استفاده از دستگاه روتاری اوپراتور (Ika مدل RV 05 basic، آلمان) در دمای ۴۰ درجه‌ی سانتی‌گراد، مدت زمان ۲۰ دقیقه و در دور چرخشی ۶۰ rpm حلال آن‌ها تبخیر گردید. پس از تبخیر حلال، لایه‌ی نازکی در دیواره‌ی فلاسک ته‌گرد ایجاد شد. در ادامه، جهت هیدراته کردن لایه‌ی خشک شده، ۱۰ میلی‌لیتر بافر سدیم استات ۲۵۰ میلی‌مولار (جدول ۱) حاوی ۲۵ میلی‌گرم کافئین، به آن افزوده شد. پس از هیدراتاسیون کامل لایه‌ی لیپیدی تحت عمل همزنی، محلول لیپوزومی تهیه شده برای

می‌گردد (Ilgaz et al., 2018). با توجه به طعم تلخ کافئین و عوارض ناشی از مصرف مقادیر بالای آن، طراحی سیستمی برای پوشاندن طعم و آزادسازی کنترل شده این ترکیب، طی مدت زمان طولانی ضروری است. یکی از بهترین راه‌ها برای غلبه بر این چالش، فناوری ریزپوشانی است (Solghi et al., 2020). امروزه لیپوزوم‌ها یکی از کاربردی‌ترین سیستم‌های ریزپوشانی ترکیبات زیست‌فعال می‌باشند. نانولیپوزوم‌ها (نسخه‌ی نانومتری لیپوزوم‌ها)، حامل‌های کلئیدی با ساختار توده‌ای (وزیکولی) هستند که از یک هسته آبی محصور شده توسط یک دولایه لیپیدی آبگریز (فسفولیپیدها) ایجاد می‌شوند (Pezeshky et al., 2016). این ساختارها با استفاده از فسفولیپیدها (عمدتاً لستین) از طریق روش‌های مختلف تولید می‌شوند. دو روش اصلی عبارتند از: روش هیدراتاسیون لایه نازک، که نیاز به مقداری کلاسترول و تبدیل محلول فسفولیپید به یک لایه نازک از طریق تبخیر حلال دارد، و نیز روش بدون کلاسترول که استفاده از کلاسترول را از طریق جایگزین کردن آن با حلال‌هایی مانند گلیسرول و حرارت دادن در حمام آب، حذف می‌کند (Ghorbanzade et al., 2016). امکان تولید در مقیاس بالا با استفاده از مواد طبیعی (تخم‌مرغ، سویا و شیر)، امکان محصورسازی همزمان ترکیبات محلول در آب و محلول در چربی در یک ساختار، قابلیت هدف‌گذاری ترکیبات زیست‌فعال و بازده ریزپوشانی بالا از مهم‌ترین مزیت‌های سیستم‌های لیپوزومی در مقایسه با سایر سیستم‌های محصورسازی می‌باشند (Ghorbanzade et al., 2016). با این وجود، پایداری فیزیکی پایین و آزادسازی سریع ترکیبات محصور شده در مدت زمان نگهداری، از محدودیت‌های اصلی سیستم‌های لیپوزومی هستند (Muhamad et al., 2019; Sarabandi & Jafari, 2020). لذا به منظور افزایش پایداری و ثبات نانولیپوزوم‌ها و نیز افزایش ماندگاری ترکیبات محصور شده، ترکیباتی مانند کربوهیدرات‌ها و یا مشتقات پروتئین ممکن است در ساختار آن‌ها بکار گرفته شود (Subramani, 2020). در بین پلیمرهای زیستی رایج برای پوشش‌دهی سطحی نانولیپوزوم‌ها، کیتوزان گزینه‌ی مناسبی برای این امر است زیرا به علت سهولت در دسترسی و داشتن بار مثبت می‌تواند به‌عنوان لایه‌ای در سطح خارجی نانولیپوزوم‌ها استفاده شود. کیتوزان با کاهش سیالیت غشا و سرعت همجوشی نانو ساختارها، ثبات آن‌ها را افزایش می‌دهد (Seyedabadi et al., 2021). بنابراین، با ریزپوشانی کافئین در نانولیپوزوم‌های پوشش داده شده با کیتوزان (نانوکیتوزوم) و استفاده از آن در فرمولاسیون پودر نوشیدنی فوری، می‌توان نوشیدنی‌های انرژی‌زا تولید کرد. هدف از این پژوهش، ابتدا ریزپوشانی کافئین در نانوکیتوزوم‌ها و بررسی ویژگی‌های نانوذرات تولیدی، و سپس به‌منظور بهبود ارزش تغذیه‌ای فرآورده‌های غذایی، تولید پودر نوشیدنی

داده شدند. سپس، محلول آماده شده کیتوزان (۱٪ (وزنی/حجمی) در اسید استیک) برای بدست آوردن لیپوزوم‌های پوشش داده شده با کیتوزان، به نانو ساختارهای تولید شده اضافه گردید.

کاهش اندازه‌ی ذرات تا مقیاس نانو توسط هموژنایزر Ika مدل T25 digital (آلمان) به مدت زمان ۵ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد (بالاتراز دمای انتقال فاز لستین) و در دور ۲۰ هزار هموژن گردید. در مرحله بعد، محلول‌های آماده شده به مدت ۱۵ دقیقه (۴۵ ثانیه روشن و ۱۵ ثانیه خاموش)، در حمام اولتراسونیک با فرکانس ۵۰ کیلوهرتز قرار

جدول ۱- غلظت سدیم استات و استیک اسید جهت تهیه بافر سدیم استات (حجم ۱ لیتر، غلظت ۱ مولار)

Table 1- Concentration of sodium acetate and acetic acid to prepare sodium acetate buffer (1L,1M)

pH	غلظت استیک اسید	غلظت سدیم استات
	Acetic acid concentration (gr/l)	Sodium acetate concentration (gr/l)
3.5	5.7	0.72

پایداری محلول کیتوزومی کافئین در طی ۶۰ روز نگهداری

تعیین پایداری فیزیکی محلول کیتوزومی با نسبت بهینه لستین-کلیسترو، در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) به‌طور بصری و بررسی دو فاز شدن آن‌ها (ایجاد رسوب) در طی ۶۰ روز نگهداری، جهت بررسی ثبات سیستم کیتوزومی، صورت گرفت. همچنین، پایداری شیمیایی محلول با اندازه‌گیری مقدار کافئین آزاد و ریزپوشانی شده (بعد از تخریب دیواره‌ی کیتوزومی) در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) و در روزهای ۱-۳۰ و ۶۰ مطابق روش ۲-۲-۱ از طریق رابطه‌ی (۲) محاسبه گردید (Pezeshky et al., 2016).

$$(۲) \quad \text{مقدار کافئین کپسوله شده در روز اول} \times 100 = \frac{\text{مقدار کافئین کپسوله شده (در روز } n \text{ ام)}}{\text{مقدار کافئین کپسوله شده در روز اول}} \text{ پایداری (\%)}$$

طیف‌سنجی مادون قرمز^۲ (FTIR)

طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR مدل TENSOR 27، کمپانی بروکر) جهت بررسی واکنش‌های احتمالی بین کافئین-فسفولپید، برای هر یک از مواد دیواره شامل لستین، کلیسترو و کیتوزان و نیز برای نمونه‌های پودر کافئین خالص، محلول کیتوزومی فاقد کافئین و محلول کیتوزومی حاوی کافئین با نسبت بهینه لستین-کلیسترو در دامنه‌ی طول موج $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ صورت گرفت.

آماده‌سازی نمونه‌های پودر نوشیدنی فوری

نمونه‌های پودر نوشیدنی با اختلاط شکر، اسید سیتریک، کنسانتره آیموه و اسانس میوه‌ای تهیه شدند (Kamel Rahimi et al., 2014). ترکیبات پودر نوشیدنی فوری مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۴۷۱۴ می‌باشند. فرمولاسیون چهار تیمار نوشیدنی در جدول ۲ آورده شده است. نمونه‌ها با افزودن محلول آزاد کافئین در غلظت‌های ۳ و ۵٪ (حجمی/حجمی) و محلول نانوکیتوزومی کافئین در غلظت‌های ۳ و ۵

ارزیابی نانوکیتوزوم‌های حاوی کافئین

اندازه‌ی ذرات، توزیع اندازه ذرات و پتانسیل زتا

تعیین اندازه ذرات و پتانسیل زتای نانوکیتوزوم‌های کافئین، جهت تعیین نسبت بهینه لستین-کلیسترو، توسط دستگاه DLS (HORIBA مدل ZS100، ژاپن) صورت گرفت. به‌منظور افزایش فاصله بین ذرات و جلوگیری از اثرات پراکندگی مختلف، نمونه‌های کیتوزومی به نسبت ۱ به ۱۰ با آب مقطر رقیق شدند. اندازه‌گیری برای تمامی نمونه‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و طی سه مرحله تکرار انجام گرفت (Homayoonfal et al., 2021).

بازده ریزپوشانی^۱ (EE) کافئین

برای تعیین مقادیر بازده ریزپوشانی، در ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر از محلول نانوکیتوزومی، به منظور جداسازی کافئین آزاد (ریزپوشانی نشده) به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید (Hettich مدل universal centrifuge (آلمان)). سپس جداسازی مایه‌رویی از لیپوزوم‌های ته‌نشین شده و اندازه‌گیری حجم آن‌ها صورت گرفت. در ادامه ۲ میلی‌لیتر از مایه‌رویی با ۱ میلی‌لیتر کلروفرم (نسبت ۲ به ۱) ترکیب شده و به مدت ۱۰ دقیقه با دستگاه شیکر به خوبی تکان داده شد تا غشای لیپوزومی به خوبی تخریب شده و کافئین آزاد گردد. در ادامه فیلتراسیون محلول با استفاده از فیلتر سرسرنگی ۰/۴۵ میکرومتری انجام شد و میزان کافئین ریزپوشانی شده و ریزپوشانی نشده (آزاد) با استفاده از دستگاه اسپکتوفوتومتر در طول موج ۲۷۶ نانومتر اندازه‌گیری گردید (Tavakoli et al., 2018). با استفاده از رابطه‌ی (۱) درصد ریزپوشانی محاسبه گردید:

$$(۱) \quad \text{ریزپوشانی (\%)} = \frac{\text{میزان کافئین کپسوله شده در کیتوزوم}}{\text{میزان کافئین موجود در کل محلول کیتوزومی}} \times 100$$

محلول بنزوات سدیم ۰/۰۵٪ به آن‌ها افزوده گردید. در ادامه، مقداری آب جوش به منظور حل کردن کامل مواد و رسیدن به حجم نهایی ۱۰۰ میلی‌لیتر، به ترکیبات نوشیدنی‌ها افزوده شد. محلول‌های نوشیدنی تهیه شده در دمای ۴ °C نگهداری شدند.

٪ (حجمی/حجمی) تهیه شدند. نمونه شاهد شامل تمام مواد تشکیل دهنده نوشیدنی، بجز کافئین به صورت آزاد یا کیتوزومی می‌باشد. پس از توزین و مخلوط کردن شکر، اسانس میوه‌ای و کنسانتره آب پرتغال، محلول کیتوزومی یا آزاد کافئین به ترکیب نوشیدنی‌ها اضافه شد و سپس pH نمونه‌ها با استفاده از اسید سیتریک روی ۴ تنظیم شده و

جدول ۲- فرمولاسیون تیمارهای مختلف نوشیدنی*

Table 2- Formulation of different drink treatments*

ترکیبات نوشیدنی Drink ingredients	شاهد Control sample	F3	N3	F5	N5
شکر Sugar (g)	25	25	25	25	25
کنسانتره آبمیوه Juice concentrate (ml)	40	40	40	40	40
اسانس میوه‌ای Fruit essential oil (g)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
سیتریک اسید Citric acid (ml)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
محلول کافئین Caffeine solution (ml)	0	3	3	5	5
محلول سدیم بنزوات ۰/۰۵٪ benzoate solution 0.05% (ml) Sodium	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1

N3: تیمار دارای ۳٪ محلول نانوکیتوزومی کافئین، F3: تیمار دارای ۳٪ محلول کافئین آزاد، N5: تیمار دارای ۵٪ محلول نانوکیتوزومی کافئین، F5: تیمار دارای ۵٪ محلول آزاد کافئین.

N3: treatment with 3% nanoliposomal caffeine solution, F3: treatment with 3% free caffeine solution, N5: treatment with 5% nanoliposomal caffeine solution, F5: treatment with 5% free caffeine solution.

* همه نمونه‌ها با آب جوش به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شدند.

All the treatments has been adjusted with boiled water to 100 mL volume.

(بد)، امتیاز ۳ (متوسط)، امتیاز ۴ (خوب) و امتیاز ۵ (بسیار خوب) می‌باشد.

رنگ نوشیدنی

رنگ نمونه‌های نوشیدنی به منظور بررسی تفاوت رنگ بین نمونه‌های حاوی نانوکیتوزوم کافئین با سایر نمونه‌ها، از طریق تعیین دو شاخص a^* (redness) و b^* (yellowness) توسط دستگاه رنگ‌سنج لاویباند (مدل PFX880، انگلیس) در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) و طی سه مرحله تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت.

تعیین pH نوشیدنی

به منظور بررسی تأثیر واکنش‌های احتمالی بین مواد تشکیل‌دهنده نوشیدنی‌ها بر pH، طی یکماه نگهداری نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، اندازه‌گیری pH با استفاده از دستگاه pH سنج (Testo، مدل ۲۰۵، آلمان) در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد)

ارزیابی نمونه‌های نوشیدنی غنی شده با کافئین

پس از تهیه نمونه‌های نوشیدنی ویژگی‌های حسی، رنگ، pH، اسیدیته کل و بریکس (میزان مواد جامد محلول) آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. سپس، نوشیدنی‌های تولید شده با استفاده از دستگاه خشک‌کن انجمادی (ZiRBUS مدل Vaco5، آلمان) به شکل پودر درآمدند تا ویژگی‌های شاخص انحلال‌پذیری آب و هیگروسکوپي آن‌ها مورد ارزیابی قرار گیرد.

ارزیابی حسی نوشیدنی

جهت تعیین سطح پذیرش و مقبولیت عصاره‌ی آزاد یا نانوکیتوزومی اضافه شده، نمونه‌ها مورد ارزیابی حسی قرار گرفتند. به این منظور ۱۰ نفر آموزش دیده در رنج سنی ۲۰ تا ۴۰ سال شامل ۵ زن و ۵ مرد برای شرکت در ارزیابی حسی برگزیده شدند. این افراد (مزه، طعم)، (بو، عطر)، (رنگ)، (احساس دهانی) و (پذیرش کلی) را بررسی کرده و براساس مقیاس هدونیک ۵ نقطه‌ای امتیاز دادند. امتیاز ۱ (بسیار بد)، امتیاز ۲

شدند (در سه مرحله تکرار). میزان هیگروسکوپي به صورت مقدار رطوبت جذب شده (بر حسب گرم) در هر ۱۰۰ گرم مواد جامد خشک بیان گردید (Cai & Corke, 2000).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه‌ی میانگین آن‌ها با آزمون LSD ($P < 0.05$) توسط نرم‌افزار آماری SAS صورت گرفت.

بحث و نتایج

ویژگی نانوکیتوزوم‌های حاوی کافئین

اندازه ذرات توزیع اندازه ذرات و پتانسیل زتا

متوسط اندازه و توزیع اندازه ذرات (شاخص پراکندگی ذرات) مهمترین مشخصه‌های نانوذرات هستند که بر پایداری فیزیکی، حالیت، عملکرد بیولوژیکی، سرعت انتشار و پایداری شیمیایی آن‌ها اثرگذارند (Tamjidi et al., 2013). نتایج حاصل از DLS برای نمونه‌های کیتوزومی تهیه شده با نسبت‌های مختلف لستین-کسترویل در جدول ۳ بیان شده است.

همانگونه که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، افزایش مقدار کسترویل در ساختار کیتوزوم، منجر به افزایش اندازه ذرات گردید. در طول فرایند تبدیل ساختارهای لایه‌ای فسفولیپیدی به دو لایه‌های توده‌ای، کسترویل در میان حفره‌ها و فضاهای مولکولی ایجاد شده، ساکن شده و لذا باعث افزایش معناداری در اندازه‌ی وزیکول‌ها می‌گردد (Pezeshky et al., 2016). همچنین، کسترویل برای تصاحب بخش‌های لیپوفیل (چربی‌دوست) در ساختار لیپوزوم، با مولکول‌های فسفولیپید رقابت کرده و در نتیجه باعث کاهش پیوستگی و انسجام غشا و افزایش اندازه نانوذرات می‌شود (Fang et al., 2001). در مطابقت با نتیجه بدست آمده، در تحقیقی گزارش شد که با افزایش نسبت کسترویل به لستین، در تولید نانولیپوزوم‌های حاوی ویتامین C اندازه وزیکول‌ها افزایش می‌یابد (Liu & Park, 2010). در پژوهشی دیگر عنوان شد که میانگین قطر لیپوزوم‌های حاوی سفوکستین، با افزودن کسترویل به ساختار لیپوزومی افزایش می‌یابد (Wu et al., 2004). همچنین، در تحقیق صورت گرفته توسط مالیروس و همکاران (2004)، گزارش شد که افزودن کسترویل به ساختارهای لیپوزومی حاوی نایسین، با افزایش اندازه ذرات همراه است.

و طی سه مرحله تکرار انجام گرفت (طبق استاندارد ملی ایران شماره ۲۶۸۵).

تعیین اسیدیته کل نوشیدنی

به منظور بررسی تأثیر واکنش‌های احتمالی بین مواد تشکیل‌دهنده‌ی نوشیدنی‌ها بر اسیدیته کل، طی یک‌ماه نگهداری نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، اندازه‌گیری اسیدیته کل با استفاده از دستگاه pH سنج (Testo، مدل ۲۰۵، آلمان) به روش پتانسیومتری در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) و طی سه مرحله تکرار صورت گرفت (طبق استاندارد ملی ایران شماره ۲۶۸۵).

اندازه‌گیری مقدار مواد جامد محلول (بریکس) نوشیدنی

به منظور تعیین میزان مواد جامد محلول موجود در نمونه‌های مختلف نوشیدنی طی مدت یک‌ماه نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، اندازه‌گیری بریکس نوشیدنی‌ها توسط دستگاه رفرکتومتر چشمی (huixia، مدل SBRA90، چین)، در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) و طی سه مرحله تکرار صورت گرفت (طبق استاندارد ملی ایران شماره ۲۶۸۵).

ارزیابی پودر نوشیدنی حاوی کافئین

شاخص انحلال‌پذیری پودر نوشیدنی در آب

به منظور تعیین شاخص انحلال‌پذیری در آب، ۲/۵ گرم پودر نوشیدنی آماده شده با ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر در یک فالكون ۵۰ میلی‌لیتری به مدت زمان یک دقیقه توسط دستگاه ورتکس هم‌زده شد. در ادامه نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری 37°C حرارت داده شده و سپس به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شدند (۳۵۰۰ rpm). مایه‌روی در یک پلیت ریخته شد و درون آون 105°C تا رسیدن به وزن ثابت خشک گردید (این آزمایش در سه مرحله تکرار صورت گرفت). شاخص انحلال‌پذیری در آب (WSI) با استفاده از رابطه (۳) محاسبه گردید (Jafari et al., 2017):

$$\text{WIS (\%)} = \frac{\text{وزن مایع رویی خشک شده (گرم)}}{\text{وزن نمونه اولیه (گرم)}} \times 100 \quad (3)$$

هیگروسکوپي (میزان جذب رطوبت) پودر نوشیدنی

برای تعیین میزان هیگروسکوپي ۲ گرم از هر نمونه درون پلیت ریخته شده و داخل ظرف حاوی محلول اشباع سدیم کلرید با رطوبت نسبی ۷۵/۲۹٪ قرار داده شد. نمونه‌ها تا رسیدن به وزن ثابت توزین

جدول ۳- اندازه ذرات، توزیع اندازه ذرات و پتانسیل زتا نمونه‌های کیتوزومی حاوی کافئین تهیه شده با نسبت‌های مختلف لستین-کلیسترول
Table 3- Particle size, polydispersity index and zeta potential of chitosomal samples containing caffeine prepared with different Lecithin-Cholesterol ratios

نسبت لستین-کلیسترول Lecithin: cholesterol (w:w)	میانگین وزنی قطر ذرات Z-Average (nm)	پتانسیل زتا zeta potential (mv)	توزیع اندازه ذرات Polydispersity index (PI)
9:1	133.3 ± 7.27 ^b	40.96 ± 0.46 ^b	0.419 ± 0.04 ^a
8:2	298.3 ± 10.33 ^a	45.16 ± 1.02 ^a	0.360 ± 0.03 ^{ab}
7:3	443.6 ± 6.76 ^b	48.36 ± 0.55 ^b	0.318 ± 0.02 ^b

میانگین‌های با حرف کوچک متفاوت در هر ستون تفاوت معنی‌دار دارند ($P < 0.05$).
Different letters in same column represent significant differences ($P < 0.05$)

گروه کولین به داخل غشای لیپیدی کشیده می‌شود؛ در نتیجه بار منفی و به دنبال آن دفع الکترواستاتیک بین ذرات نیز افزایش می‌یابد (Miller, 2007). با این حال، پوشش‌دهی نمونه‌ها با محلول کیتوزان، با سطحی لیپوزوم‌ها را به دلیل وجود گروه‌های آمین آزاد (بار مثبت)، به مقادیر مثبت تغییر داد (Shin et al., 2013).

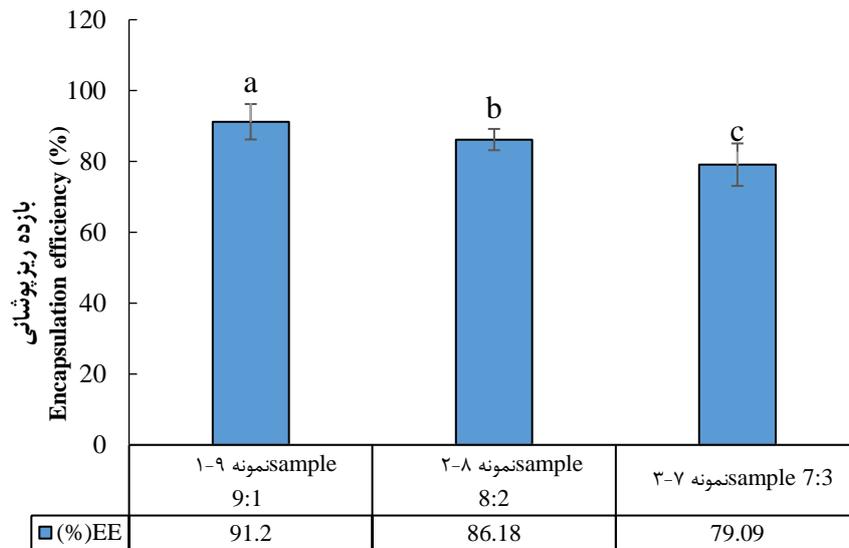
با توجه به نتایج جدول ۳، با وجود این که افزودن کلیسترول به ساختار کیتوزومی با افزایش اندازه نانوذرات همراه است، با این حال تأثیر مثبتی روی PI ایجاد نموده و سبب کاهش اختلاف اندازه ذرات گردید. مقدار PI معمولاً از ۰ تا ۱ متغیر است. مقادیر $PI \leq 0.1$ نشانگر بالاترین کیفیت توزیع پراکندگی، مقادیر $PI \leq 0.3$ نشانگر مقادیر بهینه پراکندگی و مقادیر $PI \leq 0.5$ نیز مقدار قابل قبول است (Shah et al., 2014). در این پژوهش، مقادیر PI در محدوده قابل قبول قرار گرفت. در این پژوهش، نانوکیتوزوم‌های دارای نسبت ۱:۹ لستین-کلیسترول به علت داشتن کوچکترین اندازه ذرات و پتانسیل زتا مطلوب، به عنوان نسبت بهینه لستین-کلیسترول برای آزمون‌های بعدی انتخاب شد.

بازده ریزپوشانی (EE) کافئین

بازده ریزپوشانی، مهمترین پارامتر نشان‌دهنده کارایی نانوحامل‌ها در حفظ و تثبیت اجزای هسته است (Sarabandi et al., 2019b). مقادیر بازده ریزپوشانی به اندازه و اجزای لیپوزوم‌ها از جمله فسفولیپیدها و تثبیت‌کننده‌ها (کلیسترول) بستگی دارد (Shin et al., 2013). در این پژوهش بازده ریزپوشانی برای نسبت بهینه لستین-کلیسترول (نسبت ۱:۹) و نیز سایر نسبت‌ها جهت بررسی تأثیر کلیسترول بر این پارامتر، محاسبه گردید. نتایج حاصله در شکل ۱ گزارش شده است.

با این حال، نتایج پژوهش‌های گذشته نشان‌دهنده عدم وجود روند یکسان در مورد تأثیر کلیسترول بر اندازه نهایی نانولیپوزوم‌ها می‌باشند. به طور مثال؛ در تحقیقی از نسبت‌های مختلف لستین-کلیسترول برای تولید نانولیپوزوم‌های حاوی بتاکاروتن، استفاده شد؛ نتایج بدست آمده نشان داد که افزایش نسبت کلیسترول به لستین تأثیر معنی‌داری در اندازه وزیکول‌ها ندارد (Pezeshky et al., 2016). از سوی دیگر در تحقیقی، افزودن کلیسترول به ساختار لیپوزوم‌ها باعث کاهش اندازه ذرات گردید (Chorilli et al., 2013).

از دیگر پارامترهای مهم در خصوصیات لیپوزوم‌ها، پتانسیل زتا می‌باشد. آگاهی از پتانسیل زتا در کنترل تجمع و همجوشی لیپوزوم‌ها که از عوامل مهم مؤثر بر پایداری فرمولاسیون نانولیپوزومی هستند، مفید است (Mozafari, 2014). بطور کلی، نانوذرات با پتانسیل زتا بالاتر از ± 30 میلی‌ولت، از دافعه الکترواستاتیک کافی بین ذرات برخوردار بوده و پایداری فیزیکی خوبی را از خود نشان می‌دهند (Sarabandi et al., 2019a). همانطور که در جدول ۳ مشخص است، نمونه‌های تهیه شده پتانسیل زتای بالایی دارند و با افزایش نسبت کلیسترول به لستین، پتانسیل زتا افزایش قابل توجهی داشته است که بیانگر افزایش دافعه الکترواستاتیکی و پایداری بیشتر است. در تحقیقات مختلفی ذکر شده است که افزایش مقادیر کلیسترول باعث افزایش پتانسیل زتا و بهبود پایداری نانولیپوزوم‌ها می‌شود (Foteini et al., 2016; Pezeshky et al., 2019; Mohammadi et al., 2014). در حقیقت افزایش پایداری نانوکیتوزوم، با افزایش مقادیر کلیسترول را می‌توان به این واقعیت نسبت داد که گروه هیدروکسیل موجود در کلیسترول، با گروه کولین موجود در سرقطبی لستین، پیوند هیدروژنی تشکیل می‌دهد و



شکل ۱- بازده ریزپوشانی نمونه‌های کیتوزومی حاوی کافئین تهیه شده با نسبت‌های مختلف لستین-کلسترول

Fig. 1. Encapsulation efficiency of chitosomal samples containing caffeine prepared with different lecithin-cholesterol ratios

میانگین‌های با حرف کوچک متفاوت در هر ستون تفاوت معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).

Different letters in same column represent significant differences ($P < 0.05$)

منجر می‌شود که علت آن را کاهش میل ترکیبی نایسین به دو لایه لیپیدی، در حضور مقادیر بالای کلسترول دانستند. همچنین، ژیان وو و همکاران (Wu et al., 2016) نیز به این نتیجه رسیدند که میزان بازده ریزپوشانی لیپوزوم‌های حاوی لیزوزیم، با افزایش نسبت کلسترول به فسفاتیدیل کولین کاهش می‌یابد.

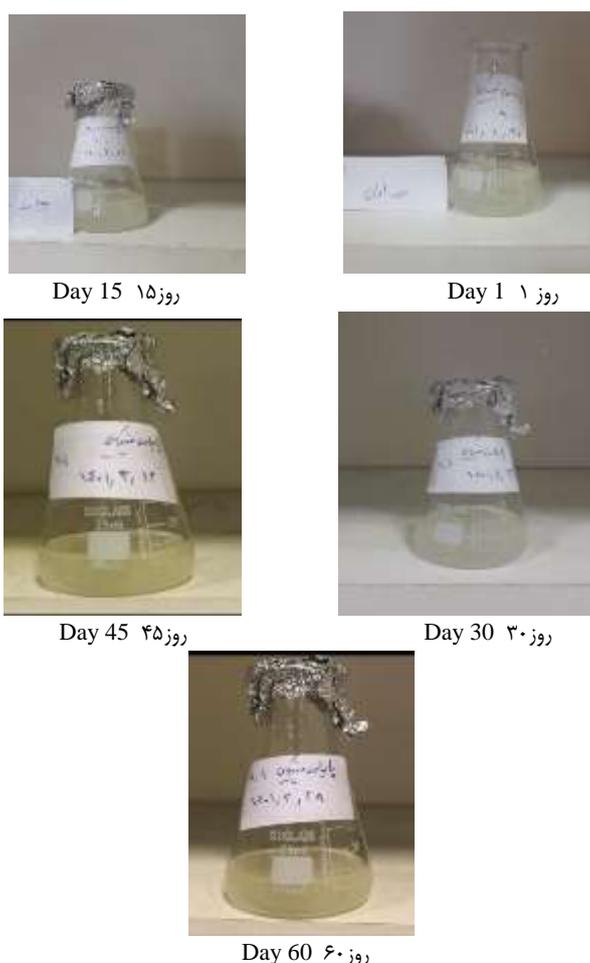
پایداری فیزیکی محلول کیتوزومی کافئین در طی ۶۰ روز نگهداری در دمای اتاق

پایداری فیزیکی محلول نانوکیتوزوم کافئین در شکل ۲ ارائه شده است. با توجه به شکل ۲ مشخص است که محلول نانوکیتوزومی کافئین با نسبت ۱:۹ لستین/ کلسترول، پایداری خوبی را در طول مدت زمان نگهداری در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) از خود نشان داد. اندازه‌ی کوچکتر ذرات، سفتی غشا و ارتقاء پتانسیل زتا به علت استفاده از مقادیر بهینه کلسترول و همچنین ایجاد دافعه‌ی الکترواستاتیکی بالا به دلیل پوشش‌دهی با کیتوزان از دلایل اصلی این امر می‌توانند در نظر گرفته شوند. در این نمونه‌ی مورد بررسی، دوفازه شدن و ایجاد رسوب به میزان بسیار جزئی و در روز ۶۰ ام نگهداری مشاهده شد (شکل ۲). به دلیل اختلاف دانسیته ناچیز بین فسفولیپیدها (دولایه‌های لیپوزومی) و فاز پیوسته (محیط آبی)، جداسازی گرانشی در لیپوزوم‌ها بسیار آهسته است و اغلب رخ نمی‌دهد (Pezeshky et al., 2016). در مقابل، از جمله دلایل اصلی ناپایداری فیزیکی سیستم‌های لیپوزومی، ادغام دو لایه‌های لیپوزومی در اثر برخورد آن‌ها به یکدیگر و همجوشی غشاهای

همانگونه که اشاره شد ماهیت ماده فعال از عوامل اصلی تأثیرگذار بر کارایی ریزپوشانی لیپوزوم‌ها است. با توجه به این که بخش‌های آبدوست در ساختار لیپوزوم‌ها در مقایسه با بخش‌های آبگریز بیشتر است، کافئین به عنوان یک ترکیب هیدروفیل، می‌تواند در قسمت‌های آبدوست ساختار لیپوزوم یعنی سطح داخلی و خارجی غشا و نیز در فاز آبی فضای داخلی نانولیپوزوم‌ها قرار گیرد. در این تحقیق، در نسبت‌های مورد بررسی لستین- کلسترول، بازده ریزپوشانی کافئین بالا بود که می‌توان آن را به ماهیت آبدوستی بالای این ماده نسبت داد. همچنین مطابق شکل ۱، نسبت پایین کلسترول به لستین بیشترین میزان بازده ریزپوشانی را دارد و با افزایش این نسبت، بازده ریز پوشانی کاهش می‌یابد که نشان از کارایی پایین کلسترول در به دام انداختن کافئین است. در توضیح این پدیده می‌توان اظهار داشت که کلسترول تا مقادیر مشخصی به علت تقلیل سیالیت غشا سبب افزایش بازده ریزپوشانی می‌شود، اما اگر غلظت این ماده از حد معین فراتر رود، به علت گسستن غشای لیپوزومی، کاهش بازده ریزپوشانی و آزاد شدن مواد هسته را به دنبال دارد (Fan et al., 2008). در مطابقت با نتیجه‌ی این تحقیق، در پژوهشی بیان شد که افزایش غلظت کلسترول در ساختار لیپوزوم‌ها، به علت ایجاد محدودیت فضایی توسط این ماده و کاهش فضا برای بارگیری ماده فعال، میزان بازده ریزپوشانی را کاهش می‌دهد (Briuglia et al., 2015). در پژوهش صورت گرفته توسط لاریدی و همکاران (Laridi et al., 2003)، عنوان شد که افزایش محتوای کلسترول در ساختار لیپوزوم، به کاهش کارایی ریزپوشانی نایسین Z

۶۰ ام رسید؛ در حالی که؛ درصد پایداری کافئین در نمونه شاهد از ۷۸/۲۲٪ در روز ۳۰ ام به ۵۶/۵۱٪ در روز ۶۰ ام رسید. بالا بودن درصد پایداری کافئین در نانوکیتوزوم‌ها نشان‌دهنده مؤثر بودن روش ریزپوشانی در نگهداری هر چه بیشتر کافئین در طول زمان بوده است. در مطالعه انجام شده توسط سقاشیرپور (Saqashirpour., 2013)، درصد پایداری ویتامین E در نانولپیزوم‌ها از ۶۸٪ در روز ۳۰ ام به ۴۱٪ به روز ۶۰ ام رسید.

لیپوزومی است. پایداری فیزیکی لیپوزوم‌ها به عوامل متعدد نظیر؛ متوسط اندازه ذرات، تعداد لایه‌ها، ساختار فسفولیپید و روش تولید لیپوزوم‌ها بستگی دارد (Tavakoli et al., 2018). همچنین، نتایج پایداری شیمیایی محلول کیتوزومی کافئین نشان داد که پایداری کافئین در نانوکیتوزوم‌ها (نسبت ۱:۹ لستین-کلسترول)، طی ۶۰ روز نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، به‌طور معناداری از نمونه شاهد (کافئین ریزپوشانی نشده) بیشتر بوده است ($P < 0/05$). درصد پایداری کافئین در نانوکیتوزوم‌ها از ۸۹/۷۳٪ در روز ۳۰ ام به ۷۶/۸۶٪ در روز



شکل ۲- پایداری فیزیکی محلول نانوکیتوزوم حاوی کافئین (نسبت ۱:۹ لستین/ کلسترول) طی ۶۰ روز نگهداری در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد)

Fig. 2. Physical stability of nanoliposome solution containing caffeine (9:1 lecithin/cholesterol ratio) during 60 days of storage at ambient temperature (25°C)

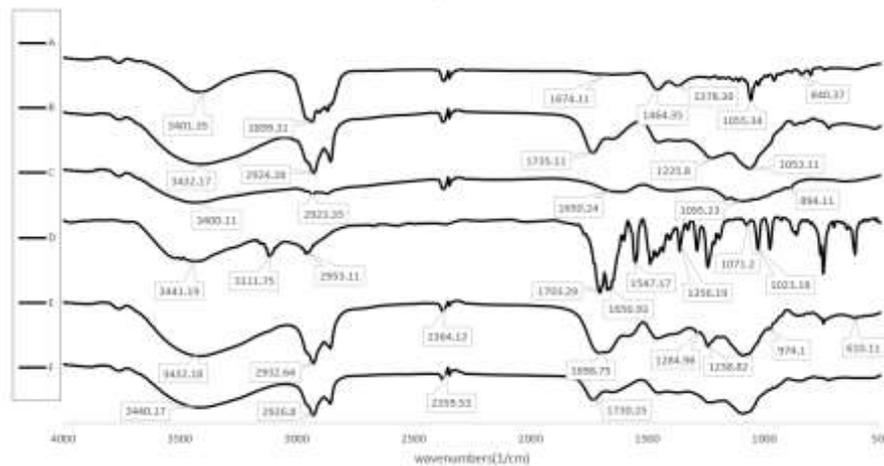
طیف سنجی مادون قرمز FTIR نتایج مربوط به آزمون FTIR، در شکل ۳ گزارش شده است. در کلسترول طیف وسیع در محدوده cm^{-1} ۳۴۰۰ به پیوند کششی OH نسبت داده می‌شود. پیک‌های ۲۸۹۹، ۱۶۷۴، ۱۴۶۴ و ۱۳۷۸ cm^{-1} به ترتیب به ارتعاشات کششی متقارن CH_2 ، پیوند $C=C$ در حلقه‌ی دوم کلسترول، ارتعاشات کششی نامتقارن گروه‌های CH_2 و CH_3 و ارتعاشات خمشی CH_2 و CH_3 مربوط می‌شوند. علاوه بر این، پیک‌های ۱۰۵۵ و 840 cm^{-1} نیز به ترتیب مربوط به تغییر شکل حلقه

طیف سنجی مادون قرمز FTIR

نتایج مربوط به آزمون FTIR، در شکل ۳ گزارش شده است. در کلسترول طیف وسیع در محدوده cm^{-1} ۳۴۰۰ به پیوند کششی OH نسبت داده می‌شود. پیک‌های ۲۸۹۹، ۱۶۷۴، ۱۴۶۴ و ۱۳۷۸ cm^{-1} به ترتیب به ارتعاشات کششی متقارن CH_2 ، پیوند $C=C$ در حلقه‌ی دوم کلسترول، ارتعاشات کششی نامتقارن گروه‌های CH_2 و CH_3 و ارتعاشات خمشی CH_2 و CH_3 مربوط می‌شوند. علاوه بر این، پیک‌های ۱۰۵۵ و 840 cm^{-1} نیز به ترتیب مربوط به تغییر شکل حلقه

پیوندهای C-H و C-H گروه متیل مربوط هستند. همچنین، پیک‌های ۱۷۰۳ و 1656 cm^{-1} مربوط به گروه‌های C=O در ناحیه امید می‌باشند. پیک‌های ۱۵۴۷، ۱۳۵۶، ۱۰۷۱ و 1023 cm^{-1} نیز به ترتیب با مناطق CH_3 ، C-C و C-OH در امید II مرتبط هستند. در مقایسه کیتوزوم‌های خالی با کیتوزوم‌های بارگیری شده توسط کافئین، مشاهده شد که با ورود کافئین به نانوکیتوزوم‌های دارای نسبت ۱:۹ لستین-کلیسترون، اکثر پیک‌های جذبی افزایش جذب را دارند. همچنین، پیک‌های جدید $1284/96$ ، $1238/82$ ، $1234/81$ و $1003/11$ احتمالاً می‌تواند در نتیجه برهمکنش بین مواد دیواره‌ی نانوکیتوزوم و کافئین باشد، که تأییدی بر بارگذاری موفقیت‌آمیز کافئین در نانوکیتوزوم‌ها است.

کلیسترون و پیوند کششی C-C-C در مولکول کلیسترون می‌باشند (Gupta et al., 2014). در رابطه با لستین، پیک‌های جذبی ۳۴۳۲، ۲۹۲۴، ۱۷۳۵، ۱۲۲۵ و 1053 cm^{-1} به ترتیب مربوط به ارتعاشات OH، ارتعاشات کششی نامتقارن CH_2 ، گروه C=O، گروه‌های PO_2^- نامتقارن و C-O در C-O-PO_2^- هستند (Mohan et al., 2020). همچنین در کیتوزان، پیک‌های ۳۴۰۰، ۲۹۲۳، ۱۶۵۰ و 1095 cm^{-1} به ترتیب مربوط به پیوند کششی OH، پیوند کششی CH، پیوند کششی C=O در ناحیه امید و پیوند کششی C-O هستند. همچنین، پیک $894/91\text{ cm}^{-1}$ نیز مربوط به پیوند گلیکوزیدی $\beta 1 \rightarrow 4$ می‌باشد (Kumirska et al., 2010; Wanule et al., 2014). در رابطه با کافئین خالص با توجه به نتایج سیدآبادی و همکاران (Seyedabadi et al., 2021)، پیک 3441 cm^{-1} مربوط به پیوند کششی OH و پیک‌های ۳۱۱۱ و 2953 cm^{-1} به ترتیب به ارتعاشات کششی



شکل ۳- نتایج FTIR (A= کلیسترون، B= لستین، C= کیتوزان، D= کافئین، E= نانولیپوزوم‌های نسبت ۱:۹ لستین-کلیسترون حاوی کافئین، F= نانولیپوزوم‌های نسبت ۱:۹ لستین-کلیسترون فاقد کافئین)

Fig. 3. FTIR analysis results. (A=cholesterol, B= lecithin, C=chitosan, D=caffeine, E=lecithin-cholesterol 9:1 ratio nanochitosome containing caffeine, F=lecithin-cholesterol 9:1 ratio nanochitosome without caffeine)

($P > 0.05$). طعم نمونه‌های دارای کافئین ریزپوشانی شده (N3 و N5) و نمونه شاهد، از نظر آماری تفاوت معناداری را با نمونه‌های دارای کافئین آزاد (F3 و F5) داشت ($P < 0.05$). در این میان، نمونه N3 طعم بهتری نسبت به نمونه N5 داشت و بیشترین امتیاز را نیز کسب کرد. در نمونه‌های F3 و F5، طعم تلخ احساس شد که این میزان تلخی در نمونه F5 به علت داشتن مقدار بیشتری از کافئین آزاد، بیشتر بود؛ درحالی‌که در نمونه‌های حاوی نانوکیتوزوم (N3 و N5)، به علت قرارگیری کافئین درون حامل‌های لیپیدی، این تلخی پوشش داده شده بود. تفاوت در پذیرش کلی نمونه‌های نوشیدنی نیز به علت تفاوت در طعم نمونه‌ها بود که نمونه F5 با بیشترین میزان کافئین آزاد، کمترین

ویژگی‌های نوشیدنی تهیه شده با کافئین

ارزیابی حسی نوشیدنی

نانوکیتوزوم‌های دارای نسبت ۱:۹ لستین-کلیسترون، به‌علت داشتن بیشترین بازده ریزپوشانی، کوچکترین اندازه ذرات، توزیع اندازه و پتانسیل زتای مناسب و همچنین پایداری بالا در طی مدت زمان نگهداری، برای استفاده در فرمولاسیون نوشیدنی انتخاب شدند. نوشیدنی‌ها پس از تهیه شدن در فرمولاسیون‌های مختلف (جدول ۲) از نظر ویژگی‌های حسی مورد ارزیابی قرار گرفتند. مطابق نتایج گزارش شده در جدول ۴ جز طعم و پذیرش کلی، تفاوت معناداری در سایر ویژگی‌های حسی نمونه‌ها (رنگ، بو، احساس دهانی) مشاهده نشد

امتیاز را در این رابطه کسب کرد. در مجموع، پذیرش طعم نمونه‌های دارای کافئین ریزپوشانی شده، بیشتر از نمونه‌های دارای کافئین آزاد بود که این امر نشانگر موفقیت نانوحامل‌ها در پوشش‌دهی طعم تلخ کافئین است.

جدول ۴- ارزیابی ویژگی‌های حسی نمونه‌های نوشیدنی حاوی کافئین بصورت آزاد یا نانوریزپوشانی شده

Table 4- Evaluation of the sensory characteristics of free or nano-coated caffeine-containing beverage samples

نمونه Samples	رنگ Color	طعم (مزه) Taste	بو Odor	احساس دهانی Mouth feeling	پذیرش کلی General acceptance
شاهد Control sample	3.5 ± 0.85 ^a	3.8 ± 0.70 ^a	4.1 ± 0.74 ^a	3.8 ± 0.63 ^a	4.1 ± 0.88 ^a
F3	3.6 ± 0.84 ^a	2.9 ± 0.67 ^b	3.8 ± 1.03 ^a	3.5 ± 0.71 ^a	3.9 ± 0.88 ^{ab}
N3	3.7 ± 0.82 ^a	4.1 ± 0.79 ^a	3.9 ± 0.74 ^a	4.1 ± 0.82 ^a	4.5 ± 0.71 ^a
F5	3.4 ± 1.07 ^a	2.6 ± 0.70 ^b	3.6 ± 0.84 ^a	3.4 ± 0.70 ^a	3.3 ± 0.82 ^b
N5	3.8 ± 1.14 ^a	3.9 ± 0.99 ^a	4.3 ± 0.82 ^a	3.9 ± 0.98 ^a	4.3 ± 0.67 ^a

F3: نوشیدنی دارای ۳٪ محلول کافئین آزاد، N3: نوشیدنی دارای ۳٪ محلول نانوکیتوزومی کافئین، F5: نوشیدنی دارای ۵٪ محلول کافئین آزاد، N5: نوشیدنی دارای ۵٪ محلول نانوکیتوزومی کافئین. میانگین‌های با حرف کوچک متفاوت در هر ستون تفاوت معنی داری دارند ($P < 0.05$).

F3: treatment with 3% free caffeine solution, N3: treatment with 3% nanoliposomal caffeine solution, F5: treatment with 5% free caffeine solution, N5: treatment with 5% nanoliposomal caffeine solution. Different letters in same column represent significant differences ($P < 0.05$).

جدول ۵- رنگ فرمولاسیون‌های مختلف نوشیدنی

Table 5- Color of different drink formulations

نمونه Samples	شاخص‌های رنگ Color indicators	
	Redness	Yellowness
شاهد Control sample	3.63 ± 0.36 ^a	12.67 ± 0.58 ^a
F3	3.72 ± 0.30 ^a	13.66 ± 0.58 ^a
N3	3.90 ± 0.06 ^a	13.82 ± 1.73 ^a
F5	3.81 ± 0.26 ^a	12.00 ± 1.00 ^a
N5	3.96 ± 0.10 ^a	13.93 ± 2.08 ^a

F3: نوشیدنی دارای ۳٪ محلول کافئین آزاد، N3: نوشیدنی دارای ۳٪ محلول نانوکیتوزومی کافئین، F5: نوشیدنی دارای ۵٪ محلول کافئین آزاد، N5: نوشیدنی دارای ۵٪ محلول نانوکیتوزومی کافئین. میانگین‌های با حرف کوچک متفاوت در هر ستون تفاوت معنی داری دارند ($P < 0.05$).

F3: treatment with 3% free caffeine solution, N3: treatment with 3% nanoliposomal caffeine solution, F5: treatment with 5% free caffeine solution, N5: treatment with 5% nanoliposomal caffeine solution. Different letters in same column represent significant differences ($P < 0.05$).

pH نوشیدنی

نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان pH نمونه‌های مختلف نوشیدنی در جدول ۶ گزارش شده است. با توجه به نتایج جدول ۶، مقدار میانگین pH برای تمامی نمونه‌ها پس از یک‌ماه نگهداری آن‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، در دامنه ۳/۵۴-۳/۵۷ بود که در محدوده‌ی استاندارد (۳-۴) برای پودر نوشیدنی‌های فوری قرار داشت. با توجه به یکسان بودن مقادیر مؤثر بر pH (اسانس میوه‌ای و اسید سیتریک)، تغییرات pH در نمونه‌ها جزئی است. در پژوهشی مقدار pH برای نمونه‌های نوشیدنی میوه‌ای تهیه شده با کنسانتره طبیعی میوه، بین ۳/۴۳-۳/۵۲ گزارش شد (Kamel Rahimi et al., 2014).

رنگ نمونه‌های نوشیدنی

نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های رنگ نمونه‌های مختلف نوشیدنی در جدول ۵ گزارش شده است. با توجه به نتایج جدول ۵، نمونه‌های دارای نانوکیتوزوم کافئین (N5 و N3) در هر دو شاخص مورد بررسی رنگ (قرمزی و زردی)، از نظر آماری تفاوت معنی داری با نمونه‌های حاوی کافئین آزاد (F5 و F3) و نمونه‌ی شاهد ندارند ($P > 0.05$). در توضیح این پدیده می‌توان عنوان کرد که عدم تفاوت در رنگ نمونه‌های مختلف نوشیدنی، می‌تواند مربوط به یکسان بودن مواد مؤثر بر رنگ نوشیدنی‌ها در نظر گرفته شود.

جدول ۶- pH نمونه‌های مختلف نوشیدنی
Table 6- pH of different drink samples

نمونه Samples	pH
شاهد Control sample	3.57 ± 0.005 ^a
F3	3.56 ± 0.01 ^a
N3	3.54 ± 0.01 ^a
F5	3.56 ± 0.01 ^a
N5	3.55 ± 0.02 ^a

F3: نوشیدنی دارای ۳٪ محلول کافئین آزاد، N3: نوشیدنی دارای ۳٪ محلول نانوکیتوزومی کافئین، F5: نوشیدنی دارای ۵٪ محلول کافئین آزاد، N5: نوشیدنی دارای ۵٪ محلول نانوکیتوزومی کافئین. عدم تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها با حروف مشابه نشان داده شده است ($P > 0.05$).

F3: treatment with 3% free caffeine solution, N3: treatment with 3% nanoliposomal caffeine solution, F5: treatment with 5% free caffeine solution, N5: treatment with 5% nanoliposomal caffeine solution. Similar letters in the same column indicate no significant differences ($P > 0.05$).

جدول ۷- اسیدیته کل نمونه‌های مختلف نوشیدنی
Table 7- Total acidity of different drink samples

نمونه Samples	اسیدیته کل Total acidity (grams of citric acid/100 grams of drink)
شاهد Control sample	3.36 ± 0.15 ^a
F3	3.34 ± 0.15 ^a
N3	3.31 ± 0.15 ^a
F5	3.26 ± 0.10 ^a
N5	3.29 ± 0.10 ^a

F3: نوشیدنی دارای ۳٪ محلول کافئین آزاد، N3: نوشیدنی دارای ۳٪ محلول نانوکیتوزومی کافئین، F5: نوشیدنی دارای ۵٪ محلول کافئین آزاد، N5: نوشیدنی دارای ۵٪ محلول نانوکیتوزومی کافئین. عدم تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها با حروف مشابه نشان داده شده است ($P > 0.05$).

F3: treatment with 3% free caffeine solution, N3: treatment with 3% nanoliposomal caffeine solution, F5: treatment with 5% free caffeine solution, N5: treatment with 5% nanoliposomal caffeine solution. Similar letters in the same column indicate no significant differences ($P > 0.05$).

فرمولاسیون بوده و از نظر آماری بین نمونه‌های مختلف نوشیدنی تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P < 0.05$). با توجه به محلول بودن کافئین در آب (Sivrikaya, 2020)، نمونه‌ی F5 به دلیل داشتن بیشترین غلظت کافئین به صورت آزاد، بیشترین مقدار بریکس را دارد. بالا بودن مقادیر بریکس نمونه‌های N3 و N5 در مقایسه با بریکس نمونه‌ی شاهد، نشان‌دهنده‌ی نشت و رهائش کافئین از نانوکیتوزوم‌ها طی یک‌ماه نگهداری نمونه‌ها می‌باشد. در تحقیقی بریکس نوشیدنی‌های تهیه شده از کنسانتره‌ی میوه‌ها بین ۱۱-۱۱/۲۵ گزارش گردید که بسته به غلظت مواد فرمولاسیون، متفاوت بود (Kamel Rahimi et al., 2014).

ویژگی‌های پودر نوشیدنی فوری تهیه شده با کافئین شاخص انحلال‌پذیری در آب (WSI) پودر نوشیدنی WSI شاخص رفتار محصول در فاز آبی و یک معیار کلی برای تعیین کیفیت بازسازی پودر است.

اسیدیته کل نوشیدنی

نتایج حاصل از اندازه‌گیری اسیدیته کل برحسب اسید سیتریک ($\text{g}/100\text{g}$)، برای نمونه‌های مختلف نوشیدنی در جدول ۷ گزارش شده است. مقدار میانگین اسیدیته کل برای تمامی نمونه‌ها پس از یک‌ماه نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، بین ۳/۳۶-۳/۲۶ قرار داشت که در محدوده‌ی استاندارد (۲-۴) برای پودر نوشیدنی‌های فوری است. تغییرات جزئی در میزان اسیدیته کل نمونه‌های نوشیدنی، می‌تواند به دلیل یکسان بودن مقادیر مواد مؤثر بر اسیدیته باشد. در پژوهشی، مقدار اسیدیته کل برای نوشیدنی تهیه شده از پودر آب انبه ۳/۸ گزارش گردید (Akhter et al., 2010).

میزان مواد جامد محلول (بریکس) نوشیدنی

جدول ۸ درصد مواد جامد محلول در آب نمونه‌های نوشیدنی را نشان می‌دهد، که برای نمونه‌های مختلف در دامنه‌ی ۹/۰۸-۱۰/۴۱ قرار داشت که در محدوده‌ی استاندارد (۸-۱۱) برای پودر نوشیدنی‌های فوری است. با توجه به نتایج جدول ۸، بریکس نوشیدنی تحت تاثیر

جدول ۸- درجه بریکس نمونه‌های مختلف نوشیدنی
Table 8- Brix degree of different drink samples

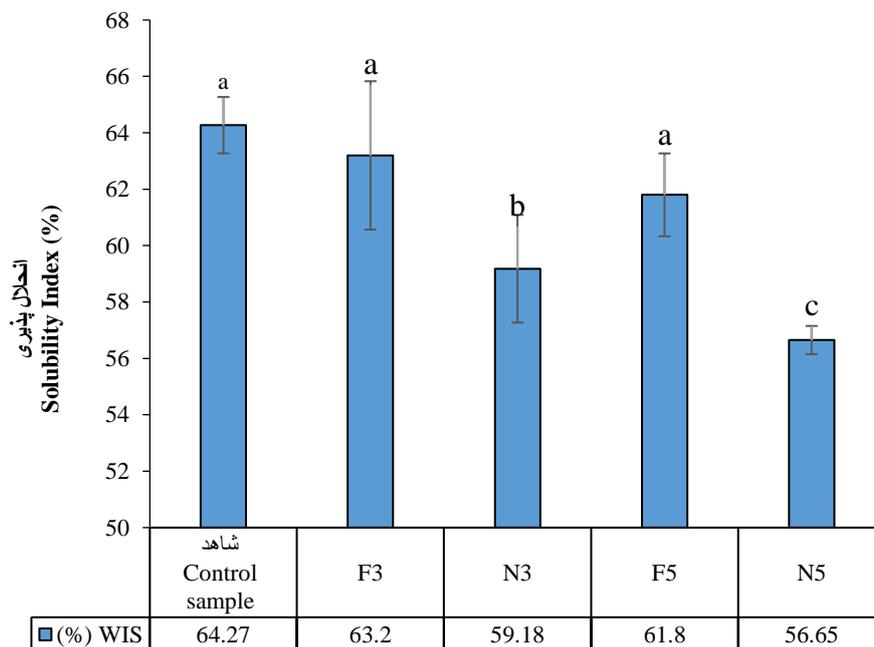
نمونه Samples	بریکس Brix
شاهد Control sample	9.08 ± 0.14 ^c
F3	10.33 ± 0.38 ^a
N3	9.41 ± 0.14 ^{bc}
F5	10.41 ± 0.29 ^a
N5	9.58 ± 0.14 ^b

F3: نوشیدنی دارای ۳٪ محلول کافئین آزاد، N3: نوشیدنی دارای ۳٪ محلول نانوکیتوزومی کافئین، F5: نوشیدنی دارای ۵٪ محلول کافئین آزاد، N5: نوشیدنی دارای ۵٪ محلول نانوکیتوزومی کافئین. میانگین‌های با حرف کوچک متفاوت در هر ستون تفاوت معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).

F3: treatment with 3% free caffeine solution, N3: treatment with 3% nanoliposomal caffeine solution, F5: treatment with 5% free caffeine solution, N5: treatment with 5% nanoliposomal caffeine solution. Different letters in same column represent significant differences ($P < 0.05$).

لیپیدهای سازنده دیواره کیتوزوم (لستین و کلسترول) و حلالیت پایین کیتوزان در آب، نسبت داد. در تحقیقی مقدار WIS، برای پودر ژله حاوی آنتوسیانین ریزپوشانی شده با حامل‌های کربوهیدراتی مختلف بین ۹۴-۹۶ درصد گزارش شد، دلیل بالا بودن مقادیر WIS در این تحقیق، حلالیت بالای مواد کربوهیدراتی در آب عنوان شد (Mahdavi et al., 2016).

برای مصرف کنندگان، بازسازی سریع و کامل محصولات پودری یکی از شاخص‌های اصلی جهت ارزیابی کیفیت می‌باشد (Jafari et al., 2017). مطابق نتایج حاصله در شکل ۴، شاخص انحلال‌پذیری آب نمونه‌های حاوی نانوکیتوزوم کافئین (N3 و N5)، از نظر آماری تفاوت معناداری را با سایر نمونه‌ها دارد ($P < 0.05$)؛ پایین بودن این شاخص در نمونه‌های N3 و N5 را می‌توان به ماهیت آبرگریزی

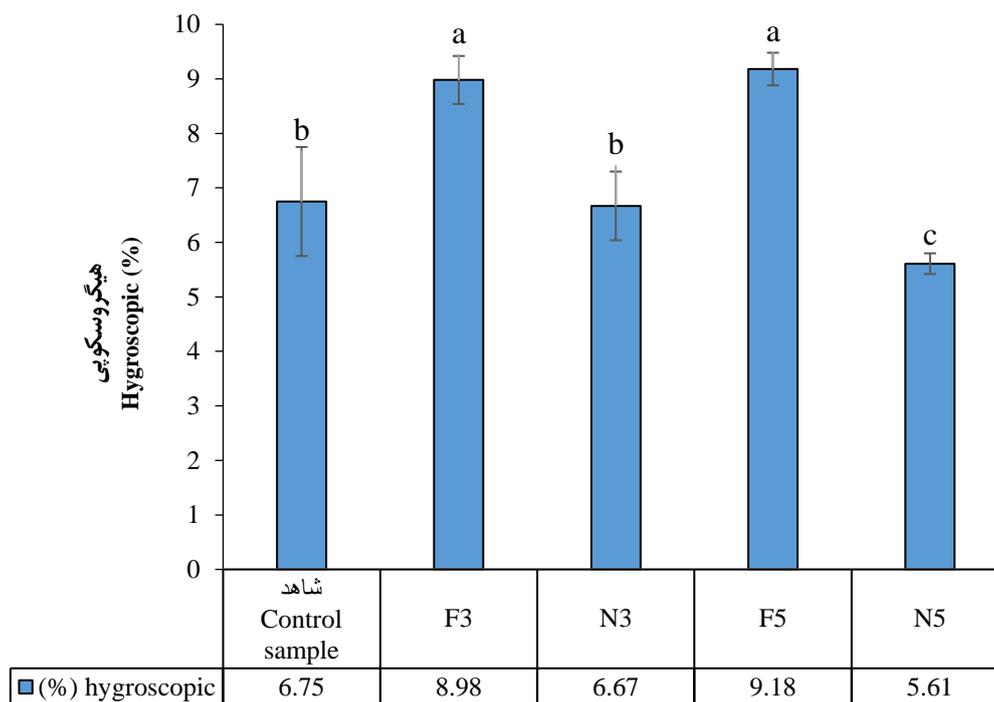


شکل ۴- انحلال پذیری نمونه‌های مختلف پودر نوشیدنی

Fig. 4. Solubility of different drink powder samples

F3: نوشیدنی دارای ۳٪ محلول کافئین آزاد، N3: نوشیدنی دارای ۳٪ محلول نانوکیتوزومی کافئین، F5: نوشیدنی دارای ۵٪ محلول کافئین آزاد، N5: نوشیدنی دارای ۵٪ محلول نانوکیتوزومی کافئین. میانگین‌های با حرف کوچک متفاوت در هر ستون تفاوت معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).

F3: treatment with 3% free caffeine solution, N3: treatment with 3% nanoliposomal caffeine solution, F5: treatment with 5% free caffeine solution, N5: treatment with 5% nanoliposomal caffeine solution. Different letters in same column represent significant differences ($P < 0.05$).



شکل ۵- هیگروسکوپی نمونه‌های مختلف پودر نوشیدنی

Fig. 5. Hygroscopicity of different samples of beverage powder

F3: نوشیدنی دارای ۳٪ محلول کافئین آزاد، N3: نوشیدنی دارای ۳٪ محلول نانوکیتوزومی کافئین، F5: نوشیدنی دارای ۵٪ محلول کافئین آزاد، N5: نوشیدنی دارای ۵٪ محلول نانوکیتوزومی کافئین. میانگین‌های با حرف کوچک متفاوت در هر ستون تفاوت معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).

F3: treatment with 3% free caffeine solution, N3: treatment with 3% nanoliposomal caffeine solution, F5: treatment with 5% free caffeine solution, N5: treatment with 5% nanoliposomal caffeine solution. Different letters in same column represent significant differences ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر، اثر نسبت‌های ۱:۹، ۲:۸ و ۳:۷ لستین-کسترویل بر تغییرات اندازه، پتانسیل زتا و توزیع اندازه ذرات معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که با افزایش مقادیر کسترویل، اندازه و پتانسیل زتا ذرات افزایش می‌یابد. افزودن نسبت پایین کسترویل سبب افزایش بازده ریزپوشانی شد، اما با افزایش مقادیر آن بازده ریزپوشانی کافئین کاهش یافت. نتایج مربوط به آزمون پایداری فیزیکی، نشان‌دهنده پایداری بالای کافئین ریزپوشانی شده طی دوماه نگهداری در دمای محیط بود و رسوب به میزان جزئی در روز ۶۰ام ایجاد شد. نتایج حاصل از آزمون FTIR نشان‌دهنده بارگذاری موفقیت‌آمیز کافئین درون نانوکیتوزوم‌ها بود. نتایج بدست آمده از ارزیابی حسی نمونه‌های مختلف نوشیدنی نشان داد که استفاده از فناوری نانوریزپوشانی، برای پوشاندن طعم تلخ کافئین با موفقیت همراه بوده است. در نتیجه با تولید نانوکیتوزوم‌های کافئین و استفاده از آن در فرمولاسیون نوشیدنی‌ها، می‌توان نوشیدنی‌های انرژی‌زا و مطلوب، بدون نیاز به استفاده از مقادیر بالای ساکارز برای پوشاندن طعم تلخ کافئین، تولید کرد.

خاصیت هیگروسکوپی پودر نوشیدنی

نتایج حاصل از آزمون هیگروسکوپی برای نمونه‌های مختلف پودر نوشیدنی در شکل ۵ گزارش شده است. همان گونه که در شکل ۵ نیز مشخص است، از نظر آماری تفاوت معناداری بین میزان هیگروسکوپی نمونه‌های حاوی کافئین آزاد (F3 و F5)، با سایر نمونه‌ها (نمونه‌های حاوی نانوکیتوزوم کافئین و شاهد) وجود دارد ($P < 0.05$)؛ که علت آن می‌تواند ناشی از وجود کافئین به صورت آزاد در این پودرها باشد، چرا که پودر کافئین میزان جذب رطوبت بالایی دارد (Mohammed, 2018). درحالی‌که، در نمونه‌های N3 و N5 قرارگیری کافئین در حامل‌های لیپیدی، میزان جذب رطوبت توسط این ماده را کاهش داده است. پایین بودن میزان هیگروسکوپی پودر نوشیدنی‌های حاوی کافئین ریزپوشانی شده، مزیت‌هایی مانند بسته‌بندی و حمل و نقل آسان را به دنبال دارد. چرا که مواد غذایی با درصد بالای جذب رطوبت، به شرایط حمل‌ونقل ویژه و بسته‌بندی کنترل شده (استفاده از ظروف غیرقابل نفوذ به رطوبت) به خصوص در مناطق با رطوبت نسبی بالا نیاز دارند.

References

1. Akhter, S., Abid, H., Yasmin, A., & Masood, S. (2010). Preparation and evaluation of physical and chemical characteristics of instant mango juice powder. *Pakistan Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 43(2), 58–60.
2. Briuglia, M.L., Rotella, C., McFarlane, A., & Lamprou, D.A. (2015). Influence of cholesterol on liposome stability and on in vitro drug release. *Drug Delivery and Translational Research*, 5(3), 231–242. <https://doi.org/10.1007/s13346-015-0220-8>
3. Cai, Y.-Z., & Corke, H. (2000). Production and properties of spray-dried *Amaranthus betacyanin* pigments. *Journal of Food Science*, 65(7), 1248–1252. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb10273.x>
4. Chow, C.H., Kan, Y.C., & Ho, K.S. (2019). A simple and rapid gas chromatographic method for routine caffeine determination in beverages using nitrogen phosphorus detector. *Journal of Analytical Chemistry*, 74(8), 764–770. <https://doi.org/10.1134/S1061934819080045>
5. Chorilli, M., Calixto, G., Rimério, T.C., & Scarpa, M.V. (2013). Caffeine encapsulated in small unilamellar liposomes: characterization and in vitro release profile. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 34(10), 1465–1470. <https://doi.org/10.1080/01932691.2012.739535>
6. Fan, M., Xu, S., Xia, S., & Zhang, X. (2008). Preparation of solidoside nano-liposomes by ethanol injection method and in vitro release study. *European Food Research and Technology*, 227(1), 167–174. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0706-9>
7. 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)
8. Foteini, P., Pippa, N., Naziris, N., & Demetzos, C. (2019). Physicochemical study of the protein–liposome interactions: Influence of liposome composition and concentration on protein binding. *Journal of Liposome Research*, 29(4), 313–321. <https://doi.org/10.1080/08982104.2018.1468774>
9. Ghorbanzade, T., Jafari, S.M., Akhavan, S., & Hadavi, R. (2016). Nano-encapsulation of fish oil in nano-liposomes and its application in fortification of yogurt. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.022>
10. Gupta, U., Singh, V.K., Kumar, V., & Khajuria, Y. (2014). *Spectroscopic Studies of Cholesterol : Fourier. August 2015*. <https://doi.org/10.1166/mat.2014.1161>
11. Homayoonfal, M., Mousavi, S.M., Kiani, H., Askari, G., Desobry, S., & Arab-Tehrany, E. (2021). Encapsulation of berberis vulgaris anthocyanins into nanoliposome composed of rapeseed lecithin: A comprehensive study on physicochemical characteristics and biocompatibility. *Foods*, 10(3). <https://doi.org/10.3390/foods10030492>
12. Ilgaz, S., Sat, I.G., & Polat, A. (2018). Effects of processing parameters on the caffeine extraction yield during decaffeination of black tea using pilot-scale supercritical carbon dioxide extraction technique. *Journal of Food Science and Technology*, 55(4), 1407–1415. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3055-8>
13. Islam, M.T., Alencar, M., Mata, A., Paz, M., Matos, L.A., Sousa, J.M.C., & Melo-Cavalcante, A.A.C. (2016). Coffee: A health fuel-blot popular drinking. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8(1), 1–7.
14. Jafari, S. M. (2017). An overview of nanoencapsulation techniques and their classification. In *Nanoencapsulation Technologies for the Food and Nutraceutical Industries*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809436-5.00001-X>
15. Jafari, S., Ghalegi, M., & Dehnad, D. (2017). Influence of spray drying on water solubility index, apparent density, and anthocyanin content of pomegranate juice powder. *Powder Technology*, 311, 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2017.01.070>
16. Kamel Rahimi, S., Elhami Rad, A., & Hemti Kakhki, A. (2014). Formulation and evaluation of fruit drink powder. *Innovations in Food Science and Technology*, 7(4). (In Persian)
17. Kumirska, J., Czerwicka, M., Kaczyński, Z., Bychowska, A., Brzozowski, K., Thöming, J., & Stepnowski, P. (2010). Application of spectroscopic methods for structural analysis of chitin and chitosan. *Marine Drugs*, 8(5), 1567–1636. <https://doi.org/10.3390/md8051567>
18. Laridi, R., Kheadr, E.E., Benech, R.O., Vuilleumard, J.C., Lacroix, C., & Fliss, I. (2003). Liposome encapsulated nisin Z: Optimization, stability and release during milk fermentation. *International Dairy Journal*, 13(4), 325–336. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00194-2](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00194-2)
19. Liu, N., & Park, H. J. (2010). Factors effect on the loading efficiency of Vitamin C loaded chitosan-coated nanoliposomes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 76(1), 16–19. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2009.09.041>

20. Mahdavi, S.A., Jafari, S.M., Assadpour, E., & Ghorbani, M. (2016). Storage stability of encapsulated barberry's anthocyanin and its application in jelly formulation. *Journal of Food Engineering*, 181, 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.03.003>
21. Malheiros, P., da S., Sant'Anna, V., Barbosa, M., de S., Brandelli, A., & Franco, B.D.G. de M. (2012). Effect of liposome-encapsulated nisin and bacteriocin-like substance P34 on *Listeria monocytogenes* growth in Minas frescal cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 156(3), 272–277. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.04.004>
22. Miller, W. L. (2007). Steroidogenic acute regulatory protein (StAR), a novel mitochondrial cholesterol transporter. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1771(6), 663–676. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2007.02.012>
23. Mohammadi, M., Ghanbarzadeh, B., & Hamishehkar, H. (2014). Formulation of nanoliposomal vitamin D3 for potential application in beverage fortification. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 4(Suppl 2), 569–575. <https://doi.org/10.5681/apb.2014.084>
24. Mohammed, O. (2018). *Determination of Caffeine Level in Brands of Instant Coffee Available in Ethiopian Market Using Uv-Vis Spectrophotometry*.
25. Mohan, V., Naske, C.D., Britten, C.N., Karimi, L., & Walters, K.B. (2020). Hydroxide-catalyzed cleavage of selective ester bonds in phosphatidylcholine: An FTIR study. *Vibrational Spectroscopy*, 109, 103055. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2020.103055>
26. Mozafari, M.R. (2014). Nanoliposomes: Preparation and Analysis Chapter 2 Nanoliposomes: Preparation and Analysis. *Methods in Molecular Biology*, 605(May), 29–50. <https://doi.org/10.1007/978-1-60327-360-2>
27. Muhamad, I.I., Abang Zaidel, D.N., Hashim, Z., Mohammad, N.A., & Abu Bakar, N.F. (2019). Improving the delivery system and bioavailability of beverages through nanoencapsulation. In *Nanoengineering in the Beverage Industry: Volume 20: The Science of Beverages*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816677-2.00010-7>
28. Pezeshky, A., Ghanbarzadeh, B., Hamishehkar, H., Moghadam, M., & Babazadeh, A. (2016). Vitamin A palmitate-bearing nanoliposomes: Preparation and characterization. *Food Bioscience*, 13, 49–55. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2015.12.002>
29. Sarabandi, K., & Jafari, S.M. (2020). Effect of chitosan coating on the properties of nanoliposomes loaded with flaxseed-peptide fractions: Stability during spray-drying. *Food Chemistry*, 310, 125951. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125951>
30. Saqashirpour, S. (2013). Nanoliposome production for simultaneous encapsulation of vitamin E and vitamin C by thermal method (Mozaffari). Tabriz University.
31. Sarabandi, K., Jafari, S.M., Mohammadi, M., Akbarbaglu, Z., Pezeshki, A., & Khakbaz Heshmati, M. (2019b). Production of reconstitutable nanoliposomes loaded with flaxseed protein hydrolysates: Stability and characterization. *Food Hydrocolloids*, 96, 442–450. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.05.047>
32. Sarabandi, K., Mahoonak, A.S., Hamishehkar, H., Ghorbani, M., & Jafari, S.M. (2019a). Protection of casein hydrolysates within nanoliposomes: Antioxidant and stability characterization. *Journal of Food Engineering*, 251, 19–28. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.02.004>
33. Seyedabadi, M.M., Rostami, H., Jafari, S.M., & Fathi, M. (2021). Development and characterization of chitosan-coated nanoliposomes for encapsulation of caffeine. *Food Bioscience*, 40(October 2020). <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100857>
34. Shah, R., Eldridge, D., Palombo, E., & Harding, I. (2014). Optimisation and stability assessment of solid lipid nanoparticles using particle size and zeta potential. *Journal of Physical Science*, 25(1), 59–75.
35. Shin, G.H., Chung, S. K., Kim, J.T., Joung, H.J., & Park, H.J. (2013). Preparation of chitosan-coated nanoliposomes for improving the mucoadhesive property of curcumin using the ethanol injection method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(46), 11119–11126. <https://doi.org/10.1021/jf4035404>
36. Sivrikaya, S. (2020). A deep eutectic solvent based liquid phase microextraction for the determination of caffeine in Turkish coffee samples by HPLC-UV. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 37(3), 488–495. <https://doi.org/10.1080/19440049.2020.1711972>
37. Solghi, S., Emam-Djomeh, Z., Fathi, M., & Farahani, F. (2020). The encapsulation of curcumin by whey protein: Assessment of the stability and bioactivity. *Journal of Food Process Engineering*, 43(6), e13403. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13403>
38. Subramani, T. (2020). An overview of liposomal nano-encapsulation techniques and its applications in food and nutraceutical. *Journal of Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04360-2>
39. Tamjidi, F., Shahedi, M., Varshosaz, J., & Nasirpour, A. (2013). Nanostructured lipid carriers (NLC): A potential delivery system for bioactive food molecules. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 19, 29–43. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.03.002>

40. Tavakoli, H., Hosseini, O., Jafari, S.M., & Katouzian, I. (2018). Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of yogurt enriched by olive leaf phenolics within nanoliposomes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(35), 9231–9240. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b02759>
41. Wanule, D., Balkhande, J.V., Ratnakar, P.U., Kulkarni, A.N., & Bhowate, C.S. (2014). Extraction and FTIR analysis of chitosan from American cockroach, *Periplaneta americana*. *International Journal of Engineering Science and Innovative Technology*, 3(3), 299–304.
42. Wu, P.C., Tsai, Y.H., Liao, C.C., Chang, J.S., & Huang, Y. Bin. (2004). The characterization and biodistribution of cefoxitin-loaded liposomes. *International Journal of Pharmaceutics*, 271(1–2), 31–39. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2003.10.034>
43. Wu, Z., Guan, R., Lyu, F., Liu, M., Gao, J., & Cao, G. (2016). Optimization of preparation conditions for lysozyme nanoliposomes using response surface methodology and evaluation of their stability. *Molecules*, 21(6). <https://doi.org/10.3390/molecules21060741>



Comparison of the Effect of Adding *Spirulina platensis* Powder on Sensory, Physical, Protein and Iron Properties of Three Different Industrial Products of Bread, Cake and Layered Sweets

Y. Moradi¹, M. Ghaeni², H. Hadaegh³

1- Associate Professor, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran

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

2- Associate Professor, Department of Aquaculture, Marine Science College, Ministry of Higher Education and Innovation, Oman

3- Ph.D Graduated, Department of Food Science and Technology, Tehran Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: 17.01.2023
Revised: 30.04.2023
Accepted: 04.05.2023
Available Online: 06.05.2023

How to cite this article:

Moradi, Y., Ghaeni, M., & Hadaegh, H. (2024). Comparison of the effect of adding *Spirulina platensis* powder on sensory, physical, protein and iron properties of three different industrial products of bread, cake and layered sweets. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 20(1), 153-164. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.80461.1232>

Introduction

Seaweeds contain a high amount of protein, essential amino acids, vitamins, minerals, unsaturated fatty acids such as arachidonic acid, eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA), natural pigments, macro and micro nutrient compounds. Microalgae *Spirulina* (*Spirulina platensis*) is a species with high nutritional value. About 60% to 70% of the dry weight (*Spirulina platensis*) is protein, which has all the essential amino acids. This is a cyanobacterial microalga that is cultivated all over the world and used as a supplement in the human diet in the form of tablets, powder and cookies, bread, salad and soup. Several studies have been conducted in the field of investigating the effect of microalgae addition in food products. The purpose of the current research was to investigate the effect of this microalgae powder on sensory, physical, protein and iron properties of three different products of bulk bread, cake and layered sweets with different formulations.

Materials and Methods

Spirulina microalgae dry powder in 0.25%, 0.5%, 0.75%, 1% and 1.25% was added to the formula of three products: bulk bread, layered pastry, and cake. From each product, a sample without microalgae powder was also prepared and considered as a control. The treatments were evaluated in terms of sensory, color, texture, protein and iron content. Sensory evaluation was carried out by 30 panelists using 7 hedonic points to evaluate the color, flavor, texture, smell and overall acceptance. The color of the surface of the samples was done with a Minolta Chroma Meter (CR-300 Minolta Japan). The results calculated based on L* (whiteness/darkness), a*(redness/greenness) and b*(blueness/yellowness). Hardness of samples was measured with Texture Analyzer TA-XT2 (Stable Micro Systems, Surrey, England) and P/0.5 cylindrical probe (12.5 mm diameter) with 30 kg load cell. Protein of the samples was measured by Kjeldahl method and the amount of iron was measured according to the standard method of AOAC 999.11. All analyses were performed in three repetitions and one-way ANOVA and Tukey's test were used to compare the means.



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.80461.1232>

Results and Discussion

The results showed that the behavior of spirulina microalgae in changing the characteristics of the three products is different, and this difference is especially significant in sensory characteristics. The addition of spirulina microalgae increased the amount of protein and iron in different treatments. This increase for protein in bread, cake and sweets was about 1, 0.6 and 1.2 percent, respectively. Also, the amount of iron in treatments containing microalgae in bread, cake, and layered sweets was 4, 5, and 3 mg/kg, respectively. Spirulina microalgae is basically known as an aquatic plant with high protein and iron. The microalgae used in this research contained a high amount of protein (67.97%) and 29.5 mg/100 grams of iron, so adding this microalga to the samples increased the amount of protein and iron. Sensory evaluation of the samples showed that all three products had an acceptable acceptance score. However, in comparison among the three products of bread, cake and layered sweets, bread had a lower score than the other two products. The instrumental analysis of L*, a*, b* color indices showed that the increase of spirulina caused green color in the treatments and this color change is more significant in the bread sample. Also, the results of texture analysis showed that the addition of spirulina reduces the hardness of samples containing spirulina. It can be concluded that spirulina microalgae can be used to improve texture, color, and also increase the amount of protein and iron in products.

Keywords: Bread, Cake, Cereals, Microalgae, Spirulina, Sweets



مقاله پژوهشی

جلد ۲۰، شماره ۱، فروردین-اردیبهشت ۱۴۰۳، ص. ۱۶۴-۱۵۳

مقایسه تأثیر افزودن پودر جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس (*Spirulina platensis*) روی خواص حسی، فیزیکی، پروتئین و آهن سه فرآورده مختلف صنعتی نان، کیک و شیرینی لایه‌ای

یزدان مرادی^{۱*} - منصوره قائنی^۲ - حاله حدائق^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۱۴

چکیده

ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس (*Spirulina platensis*) یک گونه‌ی گیاهی دریائی با ارزش غذائی بالا است که به صورت‌های مختلف از قبیل پودر، قرص و همچنین بمنظور غنی‌سازی سایر محصولات غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف از اجرای پژوهش حاضر بررسی تأثیر پودر این ریزجلبک روی خواص حسی، فیزیکی و تغذیه‌ای سه فرآورده مختلف بر پایه غلات بوده است. بدین منظور پودر خشک ریزجلبک اسپیرولینا با مقادیر ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱ و ۱/۲۵ درصد به فرمول سه فرآورده نان حجیم، شیرینی لایه‌ای و کیک اضافه گردید. از هر محصول یک نمونه بدون پودر ریز جلبک نیز بعنوان شاهد در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که رفتار ریزجلبک اسپیرولینا در ایجاد تغییر در ویژگی‌های سه محصول متفاوت است و این تفاوت بخصوص در ویژگی‌های حسی قابل توجه‌تر است. نتایج نشان داد که افزودن ریزجلبک اسپیرولینا موجب افزایش مقدار پروتئین و آهن در تیمارهای مختلف گردید. این افزایش برای پروتئین در نان، کیک و شیرینی به ترتیب حدود ۱، ۰/۶ و ۱/۲ درصد بوده است. همچنین افزایش مقدار آهن تیمارهای حاوی ریز جلبک در نان، کیک و شیرینی لایه‌ای به ترتیب ۴، ۵ و ۳ میلی‌گرم در کیلوگرم بود. ریزجلبک اسپیرولینا اساساً بعنوان یک گیاه آبی با پروتئین و آهن بالا شناخته شده است. ریزجلبک مورد استفاده در این پژوهش حاوی مقدار بالایی پروتئین (۶۷/۹۷ درصد) و ۲۹/۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم آهن بوده است، بنابراین افزودن این جلبک به نمونه‌ها موجب افزایش مقدار پروتئین و آهن گردید. آنالیز ارزیابی حسی نمونه‌ها نشان داد که هر سه محصول از امتیاز پذیرش قابل قبول برخوردار بودند. اما در مقایسه در بین سه محصول نان، کیک و شیرینی لایه‌ای، نان در مجموع از امتیاز کمتری برخوردار بود. آنالیز دستگاهی شاخص‌های L^* ، a^* ، b^* رنگ نشان داد که افزایش اسپیرولینا موجب ایجاد رنگ سبز در تیمارها گردید و این تغییر رنگ در نمونه نان قابل توجه‌تر است. همچنین نتایج آنالیز دستگاهی بافت نشان داد که افزودن اسپیرولینا موجب کاهش سختی و نرم‌تر شدن بافت تیمارهای حاوی پودر ریزجلبک می‌گردد. در مجموع می‌توان نتیجه‌گیری کرد که از ریزجلبک اسپیرولینا می‌توان به‌عنوان بهبود دهنده بافت، رنگ و همچنین افزایش مقدار پروتئین و آهن در محصولات استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: اسپیرولینا، ریز جلبک، شیرینی لایه‌ای، کیک، نان

۱- دانشیار مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
(* نویسنده مسئول: ymorady@yahoo.com (Email:))

۲- دانشیار گروه آبی‌پروری، دانشکده علوم دریایی وزارت آموزش عالی و نوآوری عمان

۳- دانش‌آموخته دکتری صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

مقدمه

حال حاضر ناچیز و به قرص‌های جلبک که در داروخانه‌ها عرضه می‌گردد محدود شده است. بنابراین تولید محصولات مختلف غذایی برای توسعه مصرف این مواد غذایی با ارزش امری ضروری است. این پژوهش با هدف بررسی امکان تولید محصولات با ارزش غذایی بالاتر با استفاده از ریز جلبک اسپیرولینا انجام شده است.

مواد و روش‌ها

پودر جلبک اسپیرولینا پلانتسیس

پودر ریز جلبک اسپیرولینا از شرکت ریز جلبک سینا قشم تهیه گردید. برخی ترکیبات غذایی این جلبک در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- فرمول درصد ترکیبات شیمیایی جلبک اسپیرولینا
Table 1- Chemical composition of *Spirulina platensis*

مواد مغذی Nutrition	Amount
پروتئین کل Total protein	67.92 (g/100g)
چربی کل Total fat	3.63 (g/100g)
رطوبت Moisture	4.01 (g/100g)
خاکستر Ash	6.67(g/a00g)
کلروفیل Chlorophyll	1.44 (g/100g)
آهن Iron	29.5 (mg/100g)

تولید محصول تحقیقاتی

نمونه‌های تحقیقاتی شامل نان حجیم، کیک و شیرینی لایه‌ای در یک شرکت نان صنعتی با روش استاندارد تولید گردید که ترکیب مواد تشکیل دهنده آنها در جدول ۲ نشان داده شده است. پنج تیمار به ترتیب با افزودن (A) ۰/۲۵، (B) ۰/۵، (C) ۰/۷۵، (D) ۱ و (E) ۱/۲۵ درصد از پودر ریز جلبک اسپیرولینا به مواد تشکیل دهنده هر یک از محصولات تهیه شد. تیمار بدون ریز جلبک (۰٪) نیز بعنوان شاهد در نظر گرفته شد.

ارزیابی حسی

ارزیابی حسی و قابلیت پذیرش محصولات تحقیقاتی توسط ۳۰ نفر انجام شد. از ارزیابان خواسته شده ضمن تست کردن نمونه‌ها امتیاز خود را در فاکتورهای رنگ، طعم، بافت، بو و پذیرش کلی از ۱ تا ۷ در فرم

جلبک‌های دریایی حاوی مقدار بالایی پروتئین، اسیدهای آمینه ضروری، ویتامین‌ها، مواد معدنی، اسیدهای چرب غیراشباع مانند آراشیدونیک اسید، ایکوساپنتانوئیک اسید (EPA) و دوکوساهگزانوئیک اسید (DHA) رنگ‌های طبیعی و خوراکی (Batista *et al.*, 2010) و ترکیبات مغذی ماکرو و میکرو هستند (Hoseini *et al.*, 2013). این ریز جلبک و مشتقات آن می‌تواند به بسیاری از غذاها افزوده شود (Beheshripur *et al.*, 2010). حدود ۶۰٪ تا ۷۰٪ وزن خشک اسپیرولینا پلانتسیس (*Spirulina platensis*) پروتئین است که همه اسیدهای آمینه ضروری را دارد. هرچند مقادیر متیونین، سیستئین و لیزین آن در مقایسه با پروتئین گوشت، تخم مرغ و شیر کمتر است با این حال نسبت به پروتئین‌های گیاهی معمول مانند حبوبات برتر است (Ciferri & Tiboni, 1985). این ریز جلبک سیانوباکتری است که در سراسر جهان کشت می‌شود و به‌عنوان مکمل در رژیم غذایی انسان بصورت قرص، پودر (Belay, 2002) و کلوچه، نان، سالاد و سوپ استفاده می‌شود. مطالعات متعددی در زمینه بررسی تأثیر افزودن ریز جلبک در محصولات غذایی انجام شده است. افزودن گونه‌های کلرلا و سنه دسموس به ترکیب نان زنجبیلی، کیک شکلاتی و کلوچه طعم جلبک که مشابه طعم اسفناج و یا چای سبز است در غذاهای فوق غلبه پیدا کرد و رنگ غذا را تغییر داد (Powell *et al.*, 2011). میتوان از ریز جلبک اسپیرولینا پلانتسیس برای غنی‌سازی پروتئین محصولات نانوائی استفاده کرد، بدون آن که تغییر قابل ملاحظه‌ای در بافت، ضریب انبساط، درصد ترکیب و پذیرش حسی محصول ایجاد شود (Danesi *et al.*, 2010). غنی سازی پاستا با مقادیر متفاوت از ریز جلبک کلرلا و لگاریس و اسپیرولینا ماکسیما موجب بهبود شاخص‌های کیفی نمونه‌های غنی شده در مقایسه با نمونه‌ی شاهد شد و رنگ پاستای حاوی ریز جلبک پس از پخت نسبتاً پایدار باقی ماند. بعلاوه پاستاهای ریز جلبک‌دار نسبت به نمونه شاهد در ارزیابی حسی امتیاز پذیرش بالاتری داشتند (Fradique *et al.*, 2010). همچنین در پژوهش دیگری افزودن پودر جلبک *Wakame* باعث بهبود قابل توجه پروتئین و چربی پاستا شد (Prabhasankar & Kadam, 2010). صالحی فر و همکاران (Salehi far *et al.*, 2013) کاربرد ریز جلبک اسپیرولینا پلانتسیس با درصد‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ را در تولید کلوچه صنعتی بررسی کردند و آنها گزارش دادند که افزودن ریز جلبک اسپیرولینا فاقد اثر منفی روی ارزیابی حسی محصول بوده اما افزایش مقدار آهن و پروتئین را موجب شده است (Salehi far *et al.*, 2013). اگرچه مصرف ریز جلبک‌ها در برخی از کشورها معمول و روبه گسترش است اما مصرف آنها در کشور در

استاندارد توسط دستگاه طیف‌سنج جذب اتمی (مدل Thermo 5-M) استفاده از داده‌های دستگاه، منحنی استاندارد رسم و معادله خط آن تعیین گردید و نهایتاً میزان آهن موجود نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (AOAC 999.11, 2006).

آنالیز آماری

آنالیز آماری با نرم‌افزار (Minitab 16) انجام شد. مقدار $P < 0.05$ و مقایسه میانگین‌ها از One-way ANOVA انجام و از تست توکی برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد. کلیه آنالیزها در سه تکرار انجام گردید.

نتایج

ارزیابی حسی

نتایج ارزیابی حسی نمونه‌های مختلف نان، کیک و شیرینی لایه ای به ترتیب در شکل‌های ۱، ۲ و ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بجز امتیاز دو شاخص طعم و بو که در تیمار ۱/۲۵ درصد اسپیرولینا در محصول نان که به ترتیب ۳/۴۳ و ۳/۵۰ بود امتیاز مابقی تیمارها در هر سه محصول بالاتر از ۳/۵ بوده است. در مقایسه بین تیمارها، تیمار حاوی ۰/۷۵ درصد ریزجلبک، در هر سه محصول نان، شیرینی و کیک از امتیاز بالاتری نسبت به سایر تیمارها برخوردار بودند. مقایسه ارزیابی حسی بین سه محصول نان، کیک و شیرینی نشان داد که تیمارهای کیک و شیرینی لایه‌ای نسبت به نان از پذیرش بالاتری برخوردار هستند.

امتیاز بالاتر کیک و شیرینی نسبت به نان می‌تواند بدلیل وجود برخی طعم دهنده‌ها در این دو محصول باشد که بو و طعم خاص ریزجلبک را تحت‌الشعاع قرار داده است (جدول ۲). افزودن اسپیرولینا با درصدهای ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱ و ۱/۲۵ به محصولات باعث ایجاد رنگ سبز شده است. بیشترین امتیاز پذیرش مربوط به تیمار ۰/۷۵ در هر سه محصول بوده است. صالحی فر و همکاران (Salehi far et al., 2013) بررسی امکان کلوچه صنعتی را با افزودن مقدار ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد اسپیرولینا در فرمول کلوچه مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که تیمارهای ۱ و ۱/۵ درصد پس از شاهد بیشترین امتیاز را بخود اختصاص داده‌اند (Salehi far et al., 2013). اختلاف پژوهش حاضر با پژوهش آنها از نظر بیشترین امتیاز درصد افزودن ریزجلبک می‌تواند به ترکیب مواد تشکیل دهنده محصولات مورد بررسی باشد.

ارزیابی حسی درج نمایند. امتیازهای داده شده توسط ارزیاب‌ها برای تیمارهای مختلف آنالیز و تجزیه تحلیل شد.

جدول ۲- ترکیب فرمولاسیون سه محصول مختلف
Table 2- Ingerints composition of three different products

شیرینی لایه‌ای Layerd sweets	کیک Cake	نان Bread
آرد گندم Wheat flour	آرد گندم Wheat flour	آرد گندم Wheat flour
شکر Sugar	شکر Sugar	نمک Salt
روغن Oil	روغن Oil	شکر Sugar
خمیرمایه Lavening	طعم دهنده Flavouring	خمیرمایه Leavening
روغن Oil	بیکنینگ پودر Baking powder	روغن Oil
مارگارین Margarin		مارگارین Margarin
طعم دهنده Flavouring		

آنالیز رنگ

رنگ سطح نمونه‌ها با دستگاه (CR-) Minolta Chroma Meter (300 Minolta Japan) انجام شد و نتایج براساس L^* (whiteness/darkness)، a^* (redness/greenness) و b^* (blueness/yellowness) محاسبه گردید.

آنالیز بافت

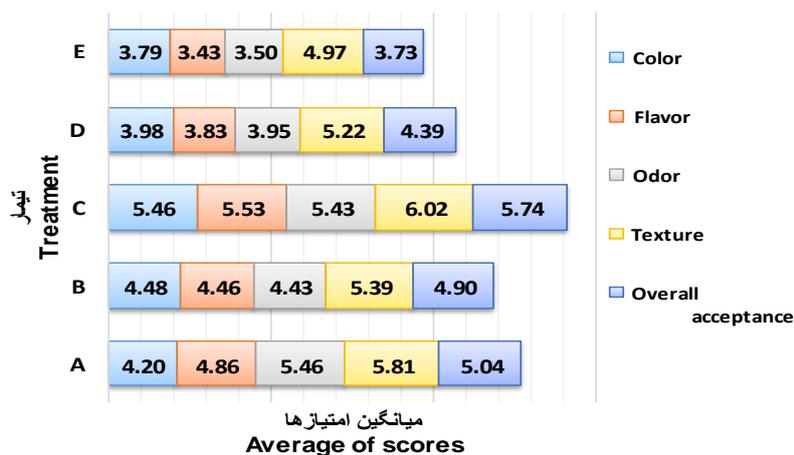
فاکتور سختی (Hardness) نمونه‌ها با دستگاه Texture Analyzer TA-XT2 (Stable Micro Systems, Surrey, England) و پروب استوانه‌ای (P/0.5 (12.5 mm diameter) با load cell 30 kg اندازه‌گیری شد (Salheifar et al., 2013).

تعیین مقدار پروتئین

مقدار پروتئین نمونه‌ها از روش کج‌لدال تعیین گردید (AOAC, 2002).

تعیین مقدار آهن

مقدار آهن بر اساس روش استاندارد AOAC 999.11 اندازه‌گیری شد. ۵ گرم از هر نمونه آسیاب شده به مدت ۲ ساعت در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفت تا خشک شد. یک گرم از نمونه های خشک شده در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به خاکستر تبدیل شد و سپس میزان جذب مربوط به محلول بلانک و محلول‌های

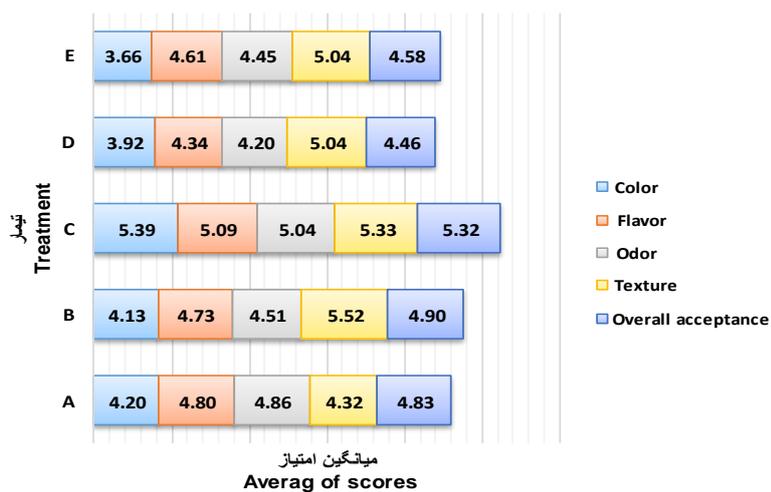


شکل ۱- نمایش میانگین امتیازات ارزیابی حسی نمونه‌های نان

(A: 0.25%, B:0.05%, C:0.75%, C: 1%, E:1.25%)

Fig. 1. Showing the average score of sensory evaluation of bread samples

(A: 0.25%, B:0.05%, C:0.75%, C: 1%, E:1.25%)

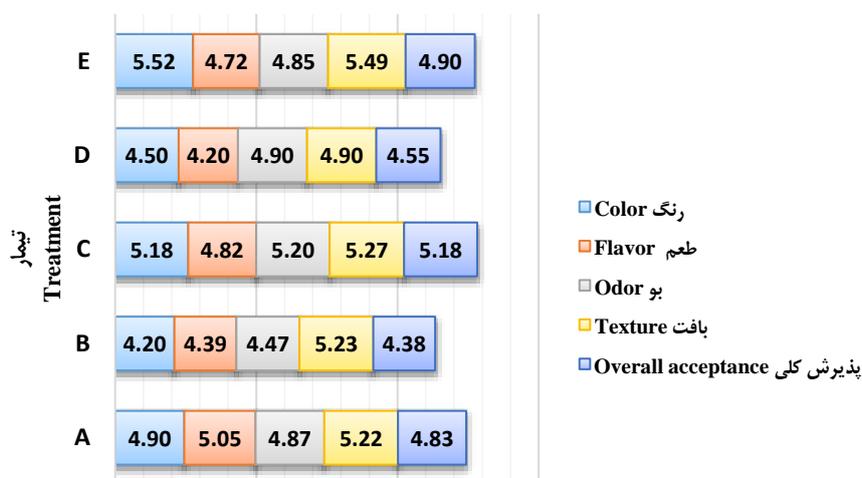


شکل ۲- نمایش میانگین امتیازات ارزیابی حسی نمونه‌های کیک

(A: 0.25%, B:0.05%, C:0.75%, C: 1%, E:1.25%)

Fig. 2. Showing the average score of sensory evaluation of cake samples

(A: 0.25%, B:0.05%, C:0.75%, C: 1%, E:1.25%)



میانگین امتیازها

Average of scores

شکل ۳- نمایش میانگین امتیازات ارزیابی حسی نمونه‌های شیرینی لایه‌ای

(A: 0.25%, B:0.05%, C:0.75%, C: 1%, E:1.25%)

Fig. 3. Showing the average score of sensory evaluation of layered cookies samples

(A: 0.25%, B:0.05%, C:0.75%, C: 1%, E:1.25%)

پروتئین

مقدار پروتئین در تیمارهای مختلف نمونه‌ها در جدول ۳ نشان داده شده است. مقایسه مقدار پروتئین تیمارهای شاهد سه محصول نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای شاهد سه محصول وجود دارد. مقدار پروتئین شاهد در نان، کیک و شیرینی به ترتیب ۹/۲، ۴/۹ و ۶/۶ درصد است. نتایج نشان می‌دهد که افزودن ریزجلبک اسپیرولینا به فرمول تشکیل دهنده سه محصول باعث افزایش مقدار پروتئین در همه تیمارها شده است. اما این افزایش در همه تیمارها معنی‌دار نبوده است. افزودن اسپیرولینا به مقدار ۰/۷۵، ۱ و ۱/۲۵ درصد باعث افزایش معنی‌دار پروتئین در محصول نان و کیک شده است حال آنکه در محصول شیرینی لایه‌ای علاوه بر مقادیر (۰/۷۵، ۱ و ۱/۲۵ درصد)، ۰/۵ درصد اسپیرولینا نیز در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌دار را نشان داده است. در تیمار (E) که حاوی بیشترین درصد اسپیرولینا (۱/۲۵ درصد) بوده است مقدار پروتئین به ترتیب در نان، کیک و شیرینی حدود ۱، ۰/۶ و ۱/۲ درصد افزایش یافته است. نتیجه مشابهی در پروژه تحقیقاتی تولید کلوچه صنعتی با استفاده از ریزجلبک اسپیرولینا مشاهده شد که در اثر افزودن ۰/۵، ۱، ۱/۵٪ اسپیرولینا به فرمول کلوچه مقدار پروتئین به ترتیب ۰/۳، ۱ و ۱/۵ درصد افزایش یافته است (Salehifar et al., 2013). همچنین گزارش شده است که می‌توان به منظور غنی‌سازی پروتئین در محصولات نانویی از ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس استفاده کرد، بدون آن که تغییر قابل ملاحظه‌ای در بافت، ضریب انبساط، درصد ترکیب و پذیرش حسی محصول ایجاد شود (Danesi et al., 2010).

مستولی‌زاده و همکاران (Moatolizadeh et al., 2017) در پژوهش بررسی تأثیر افزودن ریزجلبک اسپیرولینا به فرمول پاستا گزارش کردند که تیمارهای حاوی اسپیرولینا در مقایسه با شاهد مقدار پروتئین بیشتری داشته‌اند (Moatolizadeh et al., 2017).

آهن

تغییرات مقدار آهن در نمونه‌های مختلف در جدول ۴ نشان داده شده است. مقدار آهن موجود در نمونه‌های شاهد سه محصول نان، کیک و شیرینی به ترتیب ۲/۵، ۴/۹ و ۶/۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم بوده است که اختلاف معنی‌دار بین آنها وجود دارد. مقدار آهن در هر سه محصول با افزودن ریزجلبک اسپیرولینا افزایش یافت. اما افزایش در تمام تیمارها معنی‌دار نبوده است. افزایش معنی‌دار مقدار آهن در محصول نان و شیرینی در هر سه تیمار ۰/۵، ۰/۷۵، ۱ و ۱/۲۵ درصد اتفاق افتاد اما در محصول کیک اختلاف معنی‌دار صرفاً در دو تیمار ۱ و ۱/۲۵ درصد مشاهده شد ($P < 0.05$). بیشترین افزایش مقدار آهن در تیمار (E) که حاوی بیشترین مقدار اسپیرولینا (۱/۲۵ درصد) بود اتفاق افتاد این افزایش در نان، کیک و شیرینی لایه‌ای به ترتیب ۴، ۵ و ۳ میلی‌گرم در کیلوگرم بود. افزایش آهن در نمونه‌های حاوی اسپیرولینا به دلیل مقدار بالای آهن (۲۹/۵ میلی‌گرم میلی در ۱۰۰ گرم) در این ریزجلبک بوده است. افزایش معنی‌دار مقدار آهن در کلوچه‌های حاوی ریزجلبک اسپیرولینا مشاهده شد (Salehifar et al., 2013). پژوهش دیگری گزارش شده است که با استفاده از جلبک دریایی

ریزجلبک اسپیرولینا به مقادیر ۰,۵، ۰,۷۵ و ۱ درصد به فرمول پاستا در مقایسه با شاهد توانست به ترتیب ۷، ۱۰ و ۱۷ میلی‌گرم در صد گرم مقدار آهن تیمارهای حاوی اسپیرولینا را افزایش دهد (Moatolizadeh *et al.*, 2017).

انترومورفا کمپرسا توانستند مقدار آهن، کلسیم و پروتئین را در اسنک افزایش دهند (Mamatha *et al.*, 2007). همچنین مستولی‌زاده و همکاران (Moatolizadeh *et al.*, 2017) گزارش کردند که افزودن

جدول ۳- تأثیر اسپیرولینا روی مقدار پروتئین نمونه‌ها

Table 3- Effects of *Spirulina platensis* on protein content of the samples (%)

نمونه Sample	شاهد Control	A	B	C	D	E
نان Bread	9.22±1.22 ^{Aa}	9.40±0.40 ^{Aa}	9.45±1.45 ^{Aa}	9.80±0.80 ^{Ab}	9.70±0.70 ^{Ab}	10.10±1.10 ^{Ac}
کیک Cake	4.90±1.02 ^{Ba}	5.40±0.10 ^{Ba}	5.45±1.05 ^{Ba}	6.40±0.90 ^{Bb}	5.35±1.70 ^{Bb}	5.55±1.15 ^{Bb}
شیرینی لایه‌ای Layered sweets	6.62±0.20 ^{Ca}	6.40±0.70 ^{Ca}	7.35±1.56 ^{Cb}	8.50±0.55 ^{Cb}	8.70±2.35 ^{Cc}	8.08±2.10 ^{Cd}

(A: 0.25%, B:0.05%, C:0.75%, C: 1%, E:1.25%)

حروف انگلیسی کوچک مختلف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین نتایج در تیمارها در یک ردیف می‌باشد (P<0.05)

حروف انگلیسی بزرگ مختلف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین نتایج در تیمارها در یک ستون می‌باشد (P<0.05)

Mean under the same column bearing different Lowercase letters are different significantly (p < 0.05).

Mean under the same row bearing different capital letters are different significantly (p < 0.05).

جدول ۴- تأثیر اسپیرولینا روی مقدار آهن نمونه‌ها (میلی‌گرم در ۱۰۰ کیلوگرم)

Table 4- Effects of *Spirulina platensis* on Iron content of the samples (mg/kg)

نمونه Sample	شاهد Control	A	B	C	D	E
نان Bread	2.50±0.05 ^{Aa}	3.01±0.22 ^{Aa}	5.00±0.55 ^{Ab}	6.60±0.65 ^{Ac}	5.01±0.50 ^{Ab}	6.70±0.85 ^{Ac}
کیک Cake	4.90±0.65 ^{Ba}	5.20±0.87 ^{Ba}	5.00±1.22 ^{Ba}	5.10±0.85 ^{Ba}	6.70±0.65 ^{Bb}	9.10±1.35 ^{Bc}
شیرینی لایه‌ای Layered Sweets	6.60±1.55 ^{Ca}	6.90±1.76 ^{Ca}	10.50±1.75 ^{Cb}	9.73±1.85 ^{Cb}	9.11±1.90 ^{Cb}	9.90±1.55 ^{Cc}

(A: 0.25%, B:0.05%, C:0.75%, C: 1%, E:1.25%)

حروف انگلیسی کوچک مختلف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین نتایج در تیمارها در یک ردیف می‌باشد (P<0.05)

حروف انگلیسی بزرگ مختلف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین نتایج در تیمارها در یک ستون می‌باشد (P<0.05)

Mean under the same column bearing different Lowercase letters are different significantly (p < 0.05).

Mean under the same row bearing different capital letters are different significantly (p < 0.05).



شیرینی لایه‌ای
Layered sweets



کیک
Cake



نان
Bread

شکل ۴- نمونه‌های نان، کیک، شیرینی لایه‌ای

Fig. 4. Samples of bread, Cake, Layered sweets

تغییرات رنگ

مقدار عددی دو شاخص دیگر a^* (جدول ۶) و b^* (جدول ۷) نیز کاهش یافته است. کاهش شاخص روشنی L^* (Lightness) قرمزی a^* (Redness) و سبزی b^* (Greenness) نشان‌دهنده کاهش روشنی و ایجاد رنگ سبز در نمونه‌های شاهد در اثر افزایش ریزجلبک اسپیرولینا است.

بررسی رنگ توسط دستگاه هانتز لب بر مبنای L^*, a^*, b^* نشان‌دهنده این مطلب است که با افزایش اسپیرولینا رنگ سطح محصولات سبز شده است. بروز رنگ سبزی در تیمارها با افزایش مقدار اسپیرولینا بطور معنی‌داری $P < 0.05$ افزایش می‌یابد. این تغییر رنگ در مقایسه با شاهد در نمونه نان قابل توجه‌تر است. این اختلاف در نان با دو محصول دیگر بدلیل برخی ترکیبات طعم‌دهنده و خاص است که در این دو محصول اضافه شده است اما در نان وجود ندارد.

ویژگی‌های رنگ براساس شاخص‌های روشنی L^* (Lightness) قرمزی a^* (Redness) و سبزی b^* (Greenness) در سطح تیمارهای مختلف برای هر یک از محصولات (نان، کیک و شیرینی لایه‌ای) تعیین شد. تغییرات ظاهری رنگ هر سه محصول نان، کیک و شیرینی لایه‌ای در شکل ۴ و تغییرات شاخص‌های L^* (a^*), (b^*)، در تیمارهای مختلف به ترتیب در جدول‌های ۵، ۶ و ۷ نشان داده شده است.

همان‌طوری که در جدول ۵ قابل مشاهده است شاخص روشنی (L^*) در نمونه شاهد نان، کیک و شیرینی به ترتیب ۵۶/۹۳، ۴۳/۹۳ و ۳۹/۸۳ بوده است با افزایش پودر ریزجلبک اسپیرولینا مقدار روشنی در هر سه محصول کاهش یافته است. همزمان با کاهش مقدار روشنی

جدول ۵- تأثیر اسپیرولینا شاخص (L^*) رنگ نمونه‌ها

Table 5- Effect of spirulina index (L^*) of the samples

	نان Bread	کیک Cake	شیرینی لایه‌ای Layerd Sweets
شاهد Control	56.93 ± 0.94 ^{Ac}	43.93 ± 1.30 ^{Ab}	39.83 ± 1.20 ^{Aa}
A	50.86 ± 2.17 ^{Bc}	43.67 ± 3.93 ^{Ab}	40.67 ± 2.83 ^{Aa}
B	47.55 ± 0.73 ^{Cc}	38.12 ± 2.86 ^{Bb}	37.12 ± 1.86 ^{Ba}
C	46.13 ± 1.37 ^{Dc}	34.60 ± 1.00 ^{Cb}	32.50 ± 1.00 ^{Ca}
D	45.82 ± 2.42 ^{Db}	33.75 ± 1.62 ^{Ca}	33.62 ± 1.32 ^{Ca}
E	44.42 ± 2.46 ^{Eb}	33.75 ± 0.67 ^{Da}	33.80 ± 0.67 ^{Da}

(A: 0.25%, B: 0.05%, C: 0.75%, C: 1%, E: 1.25%)

حروف انگلیسی کوچک مختلف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین نتایج در تیمارها در یک ردیف می‌باشد ($P < 0.05$)

حروف انگلیسی بزرگ مختلف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین نتایج در تیمارها در یک ستون می‌باشد ($P < 0.05$)

Mean under the same column bearing different Lowercase letters are different significantly ($p < 0.05$).

Mean under the same row bearing different capital letters are different significantly ($p < 0.05$).

جدول ۶- تأثیر اسپیرولینا شاخص (a^*) رنگ نمونه‌ها

Table 6- Effect of spirulina index (a^*) of the samples

	نان Bread	کیک Cake	شیرینی لایه‌ای Layerd Sweets
شاهد Control	10.70 ± 0.52 ^{Ab}	2.60 ± 0.80 ^{Aa}	2.60 ± 0.80 ^{Aa}
A	9.82 ± 0.72 ^{Ab}	2.40 ± 1.81 ^{Aa}	1.61 ± 1.40 ^{Aa}
B	8.75 ± 0.40 ^{Cb}	2.22 ± 0.87 ^{Ba}	1.22 ± 0.87 ^{Ba}
C	7.24 ± 1.48 ^{Dc}	2.73 ± 0.35 ^{Bb}	1.73 ± 0.25 ^{Aa}
D	5.77 ± 1.84 ^{Eb}	1.40 ± 0.85 ^{Ca}	1.40 ± 0.89 ^{Ba}
E	4.40 ± 0.96 ^{Fc}	1.80 ± 0.70 ^{Da}	1.40 ± 0.80 ^{Ca}

حروف انگلیسی کوچک مختلف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین نتایج در تیمارها در یک ردیف می‌باشد ($P < 0.05$)

حروف انگلیسی بزرگ مختلف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین نتایج در تیمارها در یک ستون می‌باشد ($P < 0.05$)

Mean under the same column bearing different Lowercase letters are different significantly ($p < 0.05$).

Mean under the same row bearing different capital letters are different significantly ($p < 0.05$).

جدول ۷- تأثیر اسپیرولینا شاخص رنگ نمونه‌ها
Table 7- Effect of spirulina index (b*) of the samples

	نان Bread	کیک Cake	شیرینی لایه‌ای Layerd Sweets
شاهد Control	25.87 ±0.60 ^{Ab}	18.90 ±1.03 ^{Aa}	17.70 ±1.02 ^{Aa}
A	22.84±0.88 ^{Ac}	19.98±0.91 ^{Ab}	18.23±0.91 ^{Aa}
B	21.08±0.25 ^{Ab}	16.93±2.07 ^{Ba}	16.93±2.07 ^{Aa}
C	20.98±0.28 ^{BCc}	14.78±0.66 ^{Cb}	15.71±0.63 ^{Ba}
D	17.60±2.32 ^{Dc}	14.22±2.11 ^{Cb}	16.22±1.11 ^{Ba}
E	19.90±0.76 ^{Dc}	13.58±0.53 ^{Db}	14.55±0.56 ^{Ca}

حروف انگلیسی کوچک مختلف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین نتایج در تیمارها در یک ردیف می‌باشد (P<0.05)

حروف انگلیسی بزرگ مختلف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین نتایج در تیمارها در یک ستون می‌باشد (P<0.05)

Mean under the same column bearing different Lowercase letters are different significantly (p < 0.05).

Mean under the same row bearing different capital letters are different significantly (p < 0.05).

آرد گردید و فاکتور روشنی را در محصول کاهش داده‌اند (Salehfar *et al.*, 2013)

تغییرات سختی

سختی (Hardness) در نمونه‌های نان، کیک و شیرینی لایه‌ای در تیمارهای مختلف در جدول ۸ نشان داده شده است. مقایسه نمونه‌های شاهد سه محصول نشان داد که بیشترین سختی با ۵۸,۴۲ نیوتن مربوط به شیرینی لایه‌ای پس از آن نان با ۱۲,۳۲ و کیک با ۱۰,۴۲ قرار دارد. همانطوری که در جدول دیده می‌شود افزودن پودر ریزجلبک اسپیرولینا باعث کاهش سختی در هر سه محصول در مقایسه با شاهد شده است. بیشترین کاهش سختی در محصول شیرینی لایه‌ای (از ۵۸,۴۲ به ۳۰)، پس از آن در نان (از ۱۲/۳۲ به ۷/۷۷) و کمترین کاهش مربوط به کیک (از ۱۰/۴۲ به ۸/۷۷) دیده شده است.

بنابراین نمونه شاهد نان از سفیدی بیشتری برخوردار و به همین دلیل در اثر افزودن ریزجلبک اسپیرولینا تحت تأثیر بیشتری قرار می‌گیرد (جدول ۵). از طرف دیگر همانطوری که در جدول ۶ و ۷ نشان داده شده است نمونه‌های شاهد کیک و شیرینی از شاخص سبزی و قرمزی بیشتری نسبت به نان برخوردار هستند. تایج به‌دست آمده در جدول‌های ۵، ۶ و ۷ نشان می‌دهد که در مقایسه با نمونه شاهد افزودن ریزجلبک اسپیرولینا موجب کاهش شاخص روشنی (L*) در هر سه محصول نان، کیک و شیرینی شده است. کاهش شاخص روشنی با افزایش شاخص های a* و b* همراه بوده و رنگ سبز در محصول قالب شده است. صالحی‌فر و همکاران (Salehfar *et al.*, 2013) نتیجه مشابهی را در پژوهش صورت گرفته روی تأثیر افزودن ریزجلبک اسپیرولینا روی کلوچه صنعتی بدست آوردند. آنها بیان کردند که افزودن اسپیرولینا به فرمول کلوچه صنعتی موجب کاهش معنی‌دار شاخص روشنی و ایجاد رنگ سبز در محصول شده است عامل ایجاد سبزی وجود رنگدانه‌های سبز و سبز- آبی کلروفیل و فیکوسیانین است که جایگزین بخشی از

جدول ۸- تأثیر اسپیرولینا فاکتور سختی نمونه‌ها (نیوتن نیرو)
Table 8- Effect of spirulina hardness of the samples (Force N)

	نان Bread	کیک Cake	شیرینی لایه‌ای Layerd Sweets
شاهد Control	12.32 ±2.1 ^{Ac}	10.42 ±1.15 ^{Ab}	58.42 ±4.50 ^{Aa}
A	10.30±0.90 ^{Ab}	7.40±0.80 ^{Bb}	58.77±8.30 ^{Aa}
B	9.70±0.08 ^{Bc}	7.60±0.02 ^{Bb}	47.60±5.60 ^{Ba}
C	8.80±1.00 ^{Bb}	8.70±1.00 ^{Bb}	48.97±3.60 ^{Ba}
D	8.75±0.30 ^{Bc}	7.75±0.07 ^{Bb}	32.21±0.93 ^{Ca}
E	7.77±1.21 ^{Cc}	8.77±1.41 ^{Bb}	30.01±4.96 ^{Ca}

حروف انگلیسی کوچک مختلف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین نتایج در تیمارها در یک ردیف می‌باشد (P<0.05)

حروف انگلیسی بزرگ مختلف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین نتایج در تیمارها در یک ستون می‌باشد (P<0.05)

Mean under the same column bearing different Lowercase letters are different significantly (p < 0.05).

Mean under the same row bearing different capital letters are different significantly (p < 0.05).

تیمارها در هر سه محصول از امتیاز پذیرش قابل قبول (بالای ۵۰ درصد) برخوردار بوده‌اند. همچنین در مقایسه بین سه محصول نان از امتیاز حسی کمتری برخوردار بوده است. امتیاز بالاتر کیک و شیرینی نسبت به نان را می‌توان به وجود برخی طعم‌دهنده که در این محصولات بکار رفته و طعم خاص ریزجلبک را تحت‌الشعاع قرار می‌دهد ارتباط داد (جدول ۲). باتوجه به بو و طعم خاص اسپیرولینا که ممکن است برای برخی افراد قابل پذیرش نباشد افزودن این ریزجلبک به محصولاتی که در تولید آنها طعم‌دهنده استفاده می‌گردد بیشتر قابل توصیه است. همچنین از نقطه نظر رنگ، اسپیرولینا بعنوان رنگ دهنده طبیعی در محصولاتی که سابقه تولید و حضور در بازار به رنگ سبز را دارند و همچنین بعنوان جایگزین رنگ طبیعی با رنگ مصنوعی قابل استفاده است. بررسی مقدار سختی تیمارها در سه محصول با دستگاه آنالیز بافت (Texture Analyser) نیز نشان داد که افزودن ریزجلبک اسپیرولینا باعث کاهش سختی و نرم‌تر شده محصول می‌گردد. همچنین نتایج نشان داد که مقدار پروتئین در تیمارهای مختلف سه محصول در مقایسه با شاهد افزایش یافت (جدول ۲). این افزایش بعلا وجود مقدار قابل توجه پروتئین (۶۷،۹۷ درصد) در اسپیرولینا است. ریزجلبک اسپیرولینا اساساً بعنوان یک ماده غذایی با مقدار پروتئین بالا شناخته شده است. بنابراین افزودن این جلبک می‌تواند بعنوان یک غنی‌کننده با هدف افزایش پروتئین مورد استفاده قرار گیرد. همچنین افزودن ریزجلبک اسپیرولینا به مواد تشکیل‌دهنده موجب افزایش معنی‌دار ($P < 0.05$) مقدار آهن در تیمارها در مقایسه با شاهد شده است. این افزایش به دلیل مقدار بالای آهن (۲۹/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) در اسپیرولینا بوده است. بنابراین از ریزجلبک اسپیرولینا با درصدهای فوق می‌توان بعنوان رنگ‌دهنده طبیعی، بهبود دهنده بافت، افزایش مقدار پروتئین و آهن در محصولات مورد بررسی استفاده کرد. اما با توجه به نتایج ارزیابی حسی افزودن ۱/۲۵ درصد اسپیرولینا به محصول نان که عامل دریافت امتیاز کمتر در شاخص‌های طعم و بو نسبت به دو محصول کیک و شیرینی بوده است توصیه نمی‌گردد.

سپاسگزاری

از شرکت نان سحر که شرایط اجرای این پروژه تحقیقاتی را فراهم کردند تشکر و قدردانی می‌گردد.

رفتار غیر یکسان افزودن اسپیرولینا در کاهش سختی در سه محصول به ترکیب مواد تشکیل‌دهنده آنها بستگی دارد. شهباز زاده و همکاران (Shahbazizade et al., 2015) نتیجه مشابهی را در اثر افزودن اسپیرولینا به کلوچه گزارش کرده‌اند. در مطالعه دیگری توسط دنکا و روزن (Denka & Rosen, 2019) روی تأثیر افزودن پودر ریزجلبک اسپیرولینا روی سختی پودر نان (Bread crumb) گزارش شده است که افزودن ریزجلبک اسپیرولینا به فرمول محصول باعث ایجاد نرمی در نمونه گردید و بیشترین نرمی تیمار حاوی ۴٪ اسپیرولینا مشاهده شد. مهمترین عوامل مؤثر بر بافت نمونه‌های مختلف محصول، میزان رطوبت و فعالیت آبی است که تا حد زیادی تحت تأثیر برهمکنش گروه‌های هیدروکسیل موجود در ماتریکس قرار دارند (Danesi et al., 2010) ذرات بزرگ ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس، موجب ایجاد کسستگی در شبکه خمیر و نرم شدن بافت محصولات می‌شوند. در پژوهشی که روی تأثیر اسپیرولینا روی خواص حسی و بافت نان باگت انجام شد نتیجه مشابهی بدست آمده و دیده شد که سختی نمونه‌های نان باگت حاوی اسپیرولینا در مقایسه با شاهد کاهش یافته است (Sanjari et al., 2018). کاهش سختی نمونه‌های حاوی اسپیرولینا می‌تواند به ترکیبات فیبری ریزجلبک نسبت داده شود. این ترکیب به وسیله جذب آب از خارج شدن رطوبت جلوگیری کرده و موجب نرم‌تر شدن محصول گردد (Nikouzad et al., 2011). برخلاف سایر ریزجلبک‌ها، سلول‌های پروکاریوت اسپیرولینا پلاتنسیس فاقد دیواره سخت سلولی هستند که به جذب سریع آب توسط محتویات سلولی آن به‌خصوص پروتئین‌ها منجر می‌شود. در واقع مولکول‌های پروتئینی اسپیرولینا پلاتنسیس به سبب دارا بودن خاصیت آب‌دوستی بر سر جایگاه‌های اتصال با آب با مولکول‌های نشاسته به رقابت می‌پردازند (Batista et al., 2010).

نتیجه‌گیری

در مقاله حاضر شش تیمار از هر سه محصول نان، کیک و شیرینی لایه ای آماده شد که پنج تیمار آن حاوی ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱ و ۱/۲۵ درصد ریزجلبک اسپیرولینا و یک تیمار نیز بدون ریزجلبک (بعنوان شاهد) در نظر گرفته شد. نتایج ارزیابی حسی (شکل‌های ۱، ۲ و ۳) نشان داد که بجز فاکتور طعم و بو در تیمار ۱/۲۵ درصد نان، مابقی

References

1. AOAC Official Method 999.11. (2006). Determination of lead, cadmium, copper, iron, and zinc in foods atomic absorption spectrophotometry after dry ashing first Action 1999.
2. AOAC. (2002). *Association of Official Analytical Chemists*, 16 Edition, Washington.

3. Batista, A.P., Raymundo, A., Bandarra, N.M., Sousa, I., Empis, J., & Gouveia L. (2010). *Healthier food products with naturally encapsulated functional ingredients-microalgae*. 2nd International Conference on Food Innovation, Valencia, October 25-29.
4. Beheshtipour, H., Haratian, P., Mortazavian, A.M., & Khosravi-Darani, K. (2012). Effects of *Chlorella vulgaris* and *Arthrospira platensis* addition on viability of probiotic bacteria in yogurt and its biochemical properties. *European Food Research and Technology*, 235, 719-728. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1798-4>
5. Ciferri, O., & Tiboni, O. (1985). The biochemistry and industrial potential of Spirulina. *Annual Review of Microbiology*, 39, 503-26. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.39.100185.002443>
6. Danesi, E., Navacchi, M., Takeuchi, K., Frata, M., Carlos, J., & Carvalho, M. (2010). Application of *Spirulina platensis* in protein enrichment of Manico based bakery products. *Journal Biotechnology*, 150(311), DC, USA.
7. Denka, Z., & Rosen, C. (2019). Effect of *Spirulina platensis* on the crumb firming of wheat bread during storage. *Food Technology*, 851-859. <https://doi.org/10.24263/2304-974X-2019-8-4-15>
8. Fradique, M., Batista, A., Nunes, M., Gouveia, L., Bandarra, N., & Raymundo A. (2010). Incorporation of *Chlorella vulgaris* and *Spirulina maxima* biomass in pasta products. Part I: Preparation and evaluation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(10), 1656-64. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3999>
9. Hoseini, S.M., Khosravi-Darani, K., & Mozafari, M.R. (2013). Nutritional and medical applications of spirulina microalgae. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 13, 1231-1237. <https://doi.org/10.2174/1389557511313080009>
10. Gouvei, L., Raymundo, A., Batista, A., Sousa, I., & Empis, J. (2005). *Chlorella vulgaris* and *Haematococcus pluvialis* biomass as colouring and antioxidant in food emulsions. *European Food Research and Technology*, 8, 433-436. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0105-z>
11. Mamathaa, B.S., Namithab, K.K., Amudha, S., Smithac, J.G.A., & Ravishankar, G.A. (2007). Studies on use of Enteromorpha in snack food. *Food Chemistry*, 101, 1707-1713. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.04.032>
12. Maria, C.M., Francesca, Cuomo, L., Falasca, M., Carmela, T., Elisa De, A., & Emanuele, M. (2021). Nutritional and technological quality of high protein Pasta. *Foods*, 10(589), 1-11. <https://doi.org/10.3390/foods10030589>
13. Mostolizade, S., Moradi, Y., Mortazavi, M.S., Motalbi, A.A., & Ghaeni, M. (2020). Effects of incorporation *Spirulina platensis* (Gomont, 1892) powder in wheat flour on chemical, microbial and sensory properties of pasta. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 19(1), 410-420. <https://doi.org/10.22092/ijfs.2019.119107>
14. Nikouzad, H.T.A., & Azizi, M. (2011). Effect of adding oat bran on rheological properties of bread and quality of Sangak bread. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 8(1), 1-10.
15. Powell, R., Nevels, E., & McDowell, M. (2011). Algae Feeding in Human. *Journal Nutrition*, 75, 7-12. <https://doi.org/10.1093/jn/75.1.7>
16. Prabhasankar, P., Ganesan, P., & Bhaskar, N. (2009). Influence of Indian brown seaweed (*Sargassum marginatum*) as an ingredient on quality, biofunctional and microstructure characteristics of pasta. *Food Science and Technology International*. <https://doi.org/10.1177/1082013209350267>
17. Rafael, G., Tyri, V., Kolbrun, S., & Helgi, T. (2004). Effects of rearing temperature and strain on sensory characteristics, texture, color and fat of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Journal of Food Quality and Preference*, 15, 177-185. [https://doi.org/10.1016/S0950-3293\(03\)00056-9](https://doi.org/10.1016/S0950-3293(03)00056-9)
18. Salehifar, M., Shahbazizadeh, S., Khosravi-Darani Hosravi-Darani, K., Behmadi, H., & Ferdowsi, R. (2013). Possibility of using microalgae *Spirulina platensis* powder in industrial production of Iranian traditional cookies. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 7, 63-72.
19. Sanjari, S., Sarhadi, H., & Shahdadi, F. (2018). Investigating the effect of *Spirulina platensis* microalgae on textural and sensory properties of baguette bread. *Journal of Nutrition and Food Security (JNFS)*, 4, 218-225.



A Review of the Use of Microscopic Algae as Biological Sensors for Identifying Environmental Pollutants and Smart Packaging of Food Materials

B. Nowruzi ^{1*}

1- Assistant Professor, Department of Biotechnology, Faculty of Converging Sciences and Technologies, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

(* - Corresponding Author Email: bahareh.nowruzi@srbiau.ac.ir)

Received: 20.04.2023	How to cite this article:
Revised: 05.08.2023	Nowruzi, B. (2024). A review of the use of microscopic algae as biological sensors for identifying environmental pollutants and smart packaging of food materials. <i>Iranian Food Science and Technology Research Journal</i> , 20(1), 165-181. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.81939.1250
Accepted: 10.08.2023	
Available Online: 12.08.2023	

Introduction

Intelligent food packaging as a new technology can maintain the quality and safety of food during its shelf life. This technology uses indicators and sensors that are used in packaging and detects physiological changes in food (due to microbial and chemical degradation). These indicators usually provide information that can be easily identified by the food distributor and the consumer. However, most of the markers currently used are non-renewable and non-degradable synthetic materials. Microalgae that live in both marine and freshwater are a versatile solution for building new biosensors to detect pollutants such as herbicides or heavy metals. These photosynthetic microorganisms are very sensitive to their environmental changes and allow the detection of pollutants. In the past few years, several studies have been conducted in relation to the development, evaluation and application of biosensors using natural compounds in smart food packaging, and some of them are reported and summarized in [Table 2](#).

Materials and Methods

In these studies, examples are mainly focused on biosensors related to biopolymers, but some other synthetic polymers that are easily degraded have also been used as examples. In [Table 2](#), it is also specified what the function and application of the sensor is and how it reacts to the loss of freshness of food. Most sensors are sensitive to the change in pH caused by the release of volatile nitrogen compounds, and this change is characterized by a colorimetric response. Sensors are usually placed in the space above the food container, avoiding direct contact with the food, but close enough to detect changes in the environment and respond to changes in food quality. When these biosensors are integrated with biopolymers, they are usually incorporated into the polymer structure, and the color change of the layers (film) indicates changes in food quality in the packed product. The collected information also clearly shows that extracts rich in chemical compounds of pigments that change color with pH and especially anthocyanins have been used in these biosensors. In addition, most studies of biosensors have been conducted on fish, meat, and seafood, which is probably because their quality degradation is an important economic loss and also because the pH of the surrounding environment is changed during the degradation process. , and this change is easily detected through pH-sensitive biosensors. Smart food packaging technology has made it possible to monitor food quality by incorporating markers, sensors and radio frequency identification (RFID) into packaging. The technology also allows producers and consumers to trace the history of a product through important points in the food supply chain. Interestingly, some compounds applied and tested in the sensor



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](#), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.81939.1250>

not only provide a pH-sensitive dye, but also have other bioactive properties, for example, antimicrobial properties, and its presence in the polymer matrix can also increase the storage activity of packaging materials.

Results and Discussion

This paper shows that microalgae can be used as biosensors to detect pollutants such as herbicides, heavy metals and volatile organic compounds. These biosensors are very sensitive and reproducible for physical or chemical analysis. One of the main advantages of these microalgal biosensors is that repeated measurements can be performed without extensive sample preparation. They can also be selective, for example chlorophyll fluorescence emitted from photosynthetic activity allows the detection of herbicides, while inhibition of alkaline phosphatase and esterase allows the determination of heavy metals and organophosphate insecticides. Recently, great progress has been made in the identification of genes and related pathways in microalgae, and powerful techniques for genetic engineering have been developed. Collectively, the progress achieved in these areas will rapidly increase our ability to genetically optimize the production of more sensitive microalgae-based biosensors.

Keywords: Biosensors, Food preservation, Freshness of food, Microalgae, Smart packaging



مقاله مروری

جلد ۲۰، شماره ۱، فروردین-اردیبهشت ۱۴۰۳، ص. ۱۸۱-۱۶۵

"مروری بر استفاده از ریز جلبک‌ها به عنوان حسگرهای زیستی برای شناسایی آلاینده‌های زیست‌محیطی و بسته‌بندی‌های هوشمند مواد غذایی"

بهاره نوروزی *

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۳۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۱۹

چکیده

بسته‌بندی هوشمند مواد غذایی به عنوان یک فناوری جدید می‌تواند کیفیت و ایمنی مواد غذایی را در طول زمان ماندگاری حفظ کند. این فناوری از حسگرهایی استفاده می‌کند که در بسته‌بندی بکار رفته و تغییرات فیزیولوژیکی مواد غذایی (به دلیل تخریب میکروبی و شیمیایی) را تشخیص می‌دهد. این حسگرها، معمولاً اطلاعاتی را ارائه می‌دهند که به راحتی توسط توزیع‌کننده مواد غذایی و مصرف‌کننده قابل شناسایی است. با این حال، بیشتر حسگرهایی که در حال حاضر مورد استفاده قرار می‌گیرند، مواد مصنوعی تجزیه‌ناپذیر هستند. ریز جلبک‌هایی که در آب‌های دریایی و شیرین زندگی می‌کنند، راه‌حلی همه‌کاره برای ساخت حسگرهای زیستی جدید برای تشخیص آلاینده‌ها مانند علف‌کش‌ها یا فلزات سنگین هستند. این میکروارگانیسم‌های فتوسنتزی به تغییرات محیطی خود بسیار حساس هستند و امکان تشخیص آلاینده‌ها را فراهم می‌کنند. بنابراین، این مقاله با هدف بازنگری آخرین اطلاعات در مورد حسگرهای زیستی، براساس ترکیبات به‌دست آمده از عصاره‌های ریز جلبکی است که می‌توانند در ارتباط با پلیمرهای زیستی، به عنوان بسته‌بندی هوشمند مواد غذایی عمل کنند. با این حال، هنوز محدودیت‌هایی وجود دارد که باید قبل از اینکه این فناوری به مرحله بالغ تجاری برسد، بر آن غلبه کرد.

واژه‌های کلیدی: بسته‌بندی هوشمند، تازگی مواد غذایی، حسگرهای زیستی، ریز جلبک‌ها، ماندگاری مواد غذایی

مقدمه

توسعه مواد بسته‌بندی هوشمند صورت گرفته است که می‌تواند به عنوان ابزاری دقیق برای نشان دادن کیفیت محصولات غذایی عمل کند. اکثر مواد دارای بسته‌بندی هوشمند، از حسگرها در بسته‌بندی‌های معمولی استفاده می‌کنند (Halonen et al., 2020).

آلودگی آب ناشی از صنعت و کشاورزی به یک مشکل بزرگ در کشورهای در حال توسعه تبدیل شده است، در کشورهای توسعه نیافته نزدیک به ۵۰۰ میلیون نفر به آب آشامیدنی سالم دسترسی ندارند. هدف تمام فرآیندهای تصفیه آب حذف آلاینده‌های موجود یا حداقل کاهش غلظت آن‌ها است، تا آب برای استفاده نهایی مطلوب خود مناسب شود. بنابراین امروزه بسیار مهم است که بتوانیم ماهیت و مقدار آلاینده‌ها در

در سال‌های اخیر شاهد حوادث متعددی از آلودگی محصولات غذایی در سراسر جهان بوده‌ایم. تقاضای رو به رشد مصرف‌کنندگان برای توسعه فناوری وجود دارد. برای اطمینان از ایمنی محصولات غذایی، کیفیت غذا معمولاً توسط محیط‌هایی که محصولات در آن بسته‌بندی و به مصرف‌کنندگان تحویل داده می‌شوند، تعیین می‌شود. در این مدت ممکن است هر اتفاقی رخ دهد که بر کیفیت محصولات تأثیر منفی می‌گذارد (Yam, Takhistov, & Miltz, 2005). برخی از شاخص‌های ابتدایی مانند بو، رنگ و بافت می‌توانند توسط مصرف‌کنندگان برای تعیین کیفیت محصولات استفاده شوند. بنابراین، تلاش‌هایی برای

۱- استادیار گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم و فناوری‌های همگرا، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
* - نویسنده مسئول: (Email: bahareh.nowruzi@srbiau.ac.ir)

محیط را خود کنترل کنیم. در حال حاضر دو رویکرد تحلیلی کلی برای این منظور استفاده می‌شود. آن‌ها براساس آنالیزهای فیزیکی و شیمیایی مرسوم یا براساس سنجش‌های بیولوژیکی قابل سنجش هستند. اگرچه تکنیک‌های تحلیلی استاندارد، تشخیص و تعیین کمی آلاینده‌های خاص را امکان‌پذیر می‌سازند، بسیار پیچیده و پرهزینه هم هستند. علاوه بر این، آن‌ها نمی‌توانند داده‌هایی در مورد فراهم‌سازی زیستی آلاینده‌ها و اثرات آن‌ها بر سیستم‌های زنده ارائه دهند (Aydinoğlu, 2020).

حسگرهای زیستی از طریق تشخیص هدف‌های خاص با تبدیل سیگنال‌های به‌دست آمده به سیگنال‌های متناسب برای تجزیه و تحلیل بیشتر عمل می‌کنند. یک حسگر زیستی کاملاً کاربردی از یک عنصر تشخیص، مبدل‌ها (الکتروشیمیایی، کالری‌سنجی، نوری و تغییر جرم) و یک سیستم الکترونیکی (شامل تقویت‌کننده سیگنال، پردازنده و نمایش داده) تشکیل شده است. با توجه به اهمیت بیولوژیکی جلبک‌ها، طراحی حسگرهای زیستی با استفاده از سلول‌های جلبکی برای رفع محدودیت‌های روش‌های زیست تحلیلی فعلی از نظر حساسیت، توان عملیاتی، سهولت استفاده پدید آمده است. در این سیستم‌ها، ترکیبات سمی محیطی را می‌توان از طریق نظارت بر سیگنال‌های بیوالکتروشیمیایی تولید شده توسط سلول‌های جلبکی به‌عنوان عناصر حسگر زیستی شناسایی کرد. حسگرهای زیستی مبتنی بر جلبک‌ها، ابزارهای جذابی برای تشخیص آنالیت‌های زیست‌محیطی و امنیتی به روشی حساس، طولانی‌مدت و ترکیبی هستند. از این رو، چندین حسگر زیستی جلبکی در دهه گذشته برای شناسایی فلزات سنگین، آفت‌کش‌ها و ترکیبات آلی فرار ایجاد شده‌اند که با حساسیت بالا، سهولت دستکاری ژنتیکی، پایداری و انعطاف‌پذیری، نسل جدیدی از حسگرها را فراهم می‌کنند (جدول ۱). این دستگاه‌های میکروالکترونیکی امکان تشخیص سریع و دقیق انواع مواد موجود در مایعات بدن، آب یا هوا را فراهم می‌کنند. نیاز به روش‌های هشدار اولیه برای شناسایی آلاینده‌ها باعث توسعه حسگرهای مبتنی بر سلول شده است. ارزیابی سریع و دقیق سمیت آب امروزه یک موضوع مهم برای ایمنی آب محیطی است. با این حال، اندازه‌گیری سمیت هر یک از مواد شیمیایی موجود در آب دشوار است، زیرا طیف گسترده‌ای از مواد شیمیایی در آب وجود دارند (Ejeian et al., 2018).

حسگرهای زیستی، یکی از مفیدترین روش‌های اندازه‌گیری سمیت در فاضلاب‌های محیطی و صنعتی می‌باشند. بسیاری از زیست‌سنجی‌ها براساس جلبک‌ها، باکتری‌ها، بافت‌های گیاهی و سلول‌های حیوانی در سال‌های اخیر توسعه یافته‌اند. به‌طور خاص، ریز جلبک‌ها به‌دلیل حساسیت و تکرارپذیری بالا به‌طور گسترده‌ای برای سنجش سمیت

استفاده می‌شوند. استفاده از ریز جلبک‌ها در طراحی حسگرهای زیستی، در بیوتکنولوژی بسیار جدید است. چندین حسگر زیستی جلبکی در طول دهه گذشته به‌منظور شناسایی علف‌کش‌ها، ترکیبات آلی فرار (VOC)، فلزات سنگین و حتی شناسایی ترکیبات حاصل از جنگ‌های شیمیایی توسعه یافته‌اند. در حسگرهای زیستی ریزجلبکی، فعالیت متابولیک موجود زنده اندازه‌گیری می‌شود. مواد سمی در محیط اطراف سلول‌ها تأثیر زیادی بر فعالیت متابولیک آن‌ها دارند و این اثر می‌تواند به سیگنال‌های الکتریکی یا نوری تبدیل شود (Poyatos-Racionero, Ros-Lis, Vivancos, & Martínez-Mañez, 2018). در جدول ۱، انواع حسگرهای زیستی ریز جلبکی، نوع آن و سوبیه‌های تولیدکننده آن‌ها آمده است.

در مقاله مروری حاضر هدف آن است که آخرین پیشرفت‌های حاصل شده در زمینه استفاده از ریز جلبک‌ها به‌عنوان حسگرهای زیستی برای شناسایی آلاینده‌هایی مانند علف‌کش‌ها، فلزات سنگین و ترکیبات آلی فرار مورد بررسی قرار گیرد، علاوه بر آن نقش آنها در بسته‌بندی هوشمند مواد غذایی نیز به تفسیر مورد بررسی قرار می‌گیرد.

حسگرهای زیستی حاصل از ترکیبات طبیعی

رشد میکروارگانیسم‌ها در مواد غذایی یکی از دلایل تخریب مواد غذایی است که منجر به از بین رفتن تازگی آن با تولید متابولیت‌هایی می‌شود که با حسگرهای موجود در بسته‌بندی قابل تشخیص است. وجود یا تشکیل متابولیت‌هایی مانند ترکیبات نیتروژن فرار، دی‌اکسید کربن، آمین‌های بیوژنیک، اتانول یا ترکیبات گوگردی نمونه‌هایی هستند که از طریق حسگرهای تازگی قابل تشخیص هستند. گوشت، ماهی، غذاهای دریایی، میوه‌ها و سبزیجات محصولات فاسد شدنی هستند و اطمینان از کیفیت آن‌ها برای محافظت از مصرف‌کننده در برابر متابولیت‌های خطرناک تولید شده در طول فرآیند تخریب آن بسیار مهم است. تازگی گوشت با رشد میکروبی کاهش می‌یابد که منجر به تشکیل چندین ترکیب مانند اسید استیک، ان-بوتیرات و آمین‌های بیوژنیک می‌شود. تشکیل این ترکیبات کیفیت گوشت را به خطر می‌اندازد، بنابراین می‌توان از حسگر تازگی برای تشخیص آن‌ها استفاده کرد. در ماهی و غذاهای دریایی، فساد عمدتاً با مقدار کل نیتروژن بازی فرار (TVB-N) و وجود آمین‌های بیوژنیک ناشی از دی‌کربوناسیون اسیدهای آمینه به دلیل عملکرد میکروبیولوژیکی، نشان داده می‌شود. علاوه بر این، تولید بخارات یا گازهایی مانند اتانول یا دی‌اکسید کربن (CO₂) تولید شده توسط میکروارگانیسم‌ها کیفیت غذا را کاهش می‌دهد. متابولیت‌های تولیدی را می‌توان توسط حسگرهای تازگی تشخیص داد (Azman, Khairul, & Sarbon, 2022).

جدول ۱- زیست حسگرهای ریز جلبکی

Table 1- Microalgae biosensors

سویه Strain	آلی/غیر آلی Inorganic/organic	نوع روش Method type	محدودیت شناسایی Detection limit	منبع References
<i>Chlorella vulgaris</i> در ژل آلجینات <i>Chlorella vulgaris</i> in alginate gel	آلی Organic	آپرومتری	۲-۳ میکرومول بر کوبیک دسی‌متر 2-3000 $\mu\text{mol dm}^{-3}$	(Shitanda, Takada, Sakai, & Tatsuma, 2005)
<i>Chlorella vulgaris</i>	آلی Organic	آپرومتری	۱ میکرومول بر کوبیک دسی‌متر 1 $\mu\text{mol dm}^{-3}$	(Allouzi <i>et al.</i> , 2022)
<i>Dictyosphaerium chlorelloides</i>	غیر آلی Inorganic	نوری	۰/۵ میکرومول بر لیتر 0.5 $\mu\text{mol L}^{-1}$	(Altamirano <i>et al.</i> , 2004)
<i>Chlorella vulgaris</i> در میکروستون های سیلیکایی <i>Chlorella vulgaris</i> in silica micro-columns	غیر آلی Inorganic	رقت‌سازی‌های متوالی و هدایت‌سنجی	۰/۵-۴ میکروگرم بر لیتر 0.5-4 $\mu\text{g L}^{-1}$	Tajes-Martinez, Beceiro-Gonzalez, Muniategui-Lorenzo, & Prada-Rodriguez, (2006)
<i>Chlorella vulgaris</i> بین دو الکترود پلاتینوم <i>Chlorella vulgaris</i> between two platinum electrodes	غیر آلی Inorganic	هدایت‌سنجی	۱۰ ppb 10 ppb	(Guedri & Durrieu, 2008)
تثبیت <i>Chlorella vulgaris</i> در سرم بوفین آلبومین <i>Chlorella vulgaris</i> immobilized in BSA	غیر آلی Inorganic	نوری	۱ ppb 1 ppb	Chouteau, Dzyadevych, Chovelon, & Durrieu, 2004; Claude Durrieu & Tran-Minh, 2002
<i>Dictyosphaerium chlorelloides</i> در ماتریکس سیلیکای سل-ژل <i>Dictyosphaerium chlorelloides</i> in sol-gel silica matrix	غیر آلی Inorganic	نوری	۰/۶ میلی‌گرم بر لیتر 0.6 mg L^{-1}	Peña-Vázquez, Pérez-Conde, Costas, & (Moreno-Bondi, 2010)
<i>Synechococcus</i> PCC 7942 تثبیت شده در پلی‌ونیل الکل <i>Synechococcus</i> PCC 7942 immobilized in PVA	غیر آلی/آلی Inorganic/organic	نوری	۰/۲ و ۰/۰۶ میلی‌مولار بر لیتر 0.2 and 0.06 mmol L^{-1}	(Rahman <i>et al.</i> , 2011)
<i>Synechococcus</i>	غیر آلی Inorganic	نوری	کمتر از ۵ میلی‌گرم بر لیتر <5 mg L^{-1}	Rathnayake, Munagamage, Pathirathne, & (Megharaj, 2021)
<i>Anabaena torulosa</i> تثبیت شده روی الکترود اکسیژن <i>Anabaena torulosa</i> immobilized on an oxygen electrode	غیر آلی Inorganic	آپرومتری	۰/۴ میلی‌گرم بر لیتر 0.4 mg L^{-1}	(Verma, Kaur, & Kumar, 2011)
<i>Thalassiosira rotula</i>	آلی Organic	نوری	۱۰ ppb 10 ppm	De Stefano, Rendina, De Stefano, Bismuto, (& Maddalena, 2005b; Verma <i>et al.</i> , 2011)

و کاربرد حسگر چیست و چگونه به از بین رفتن تازگی غذا واکنش نشان می‌دهد (Hemavathi & Siddaramaiah, 2018). بیشتر حسگرها به تغییر pH ناشی از انتشار ترکیبات نیتروژن فرار حساس هستند، و این تغییر با یک پاسخ رنگ‌سنجی^۱ مشخص می‌گردد. حسگرها در فضای بالای ظرف غذا (عدم تماس مستقیم با غذا) قرار می‌گیرند، و به اندازه کافی نزدیک سطح غذا هستند تا تغییرات محیط را تشخیص دهند و به تغییرات کیفیت غذا پاسخ دهند. هنگامی

در چند سال گذشته مطالعات متعددی در رابطه با توسعه، ارزیابی و کاربرد حسگرهای زیستی با استفاده از ترکیبات طبیعی در بسته‌بندی هوشمند مواد غذایی انجام شده است و برخی از آنها در **جدول ۲** گزارش و خلاصه شده‌اند. در این مطالعات، نمونه‌ها عمدتاً بر روی حسگرهای زیستی مرتبط با پلیمرهای زیستی متمرکز بوده، اما برخی دیگر از پلیمرهای مصنوعی که به راحتی تجزیه می‌شوند، نیز به‌عنوان نمونه بکار رفته است. در **جدول ۲** همچنین مشخص شده که عملکرد

1- Colorimetric response

کار آزمایشگاهی گسترده‌ای است که شامل استخراج و تیتراسیون بازهای فرار است (Monique, 2015). بنابراین، ممکن است با ایجاد یک حسگر یا شاخص زیستی که بتواند TVBN را تشخیص دهد، سودمند باشد. برخلاف سایر متابولیت‌ها که فقط برای پارامترهای نشان دهنده کیفیت قابل استفاده هستند، آمین‌های بیوژنیک دارای اثرات سمی در موجودات هستند. مقدار آمین‌های بیوژنیک می‌تواند در طول فساد مواد غذایی و فرآیند تخمیر میکروبی افزایش یابد (Ladero, Calles-Enríquez, Fernández, & A Alvarez, 2010). آمین‌های بیوژنیک معمولاً از کربوکسیلاسیون اسیدهای آمینه آزاد یا آمیناسیون و ترانس آمیناسیون آلدئیدها و کتون‌ها تولید می‌شوند. نظارت بر سطوح آمین‌های بیوژنیک در غذاها و نوشیدنی‌های تازه و فرآوری شده نه تنها به دلیل خطرات سمی آن‌ها، بلکه به دلیل سودمندی آن‌ها به‌عنوان شاخصی از فعالیت میکروبی نامطلوب در مواد غذایی تخمیر نشده، مانند فرآورده‌های گوشتی تازه و پخته شده، بسیار مورد توجه است. چندین حسگر زیستی مبتنی بر آمین اکسیدازها یا ترانس گلوتاماز برای تشخیص آمین‌های بیوژنیک ساخته شده‌اند (Okuma, Okazaki, Usami, & Horikoshi, 2000; Punakivi, Smolander, Niku-Paavola, Mattinen, & Buchert, 2006).

در ادامه اطلاعات جمع‌آوری شده و خلاصه شده در جدول ۲، توضیحات گسترده‌تری برای روشن شدن اهمیت مطالعات ارائه می‌شود. (Park, Kim, Lee, & Jang, 2015)

که این حسگرهای زیستی با پلیمرهای زیستی ادغام می‌شوند، معمولاً در ساختار پلیمری گنجانده می‌شوند و تغییر رنگ لایه‌ها (فیلم)، نشانگر تغییرات کیفیت مواد غذایی در محصول بسته‌بندی است. اطلاعات جمع‌آوری شده همچنین به وضوح نشان می‌دهد، که عصاره‌های غنی از ترکیبات شیمیایی رنگدانه‌ها که با pH تغییر رنگ می‌دهند و به ویژه آنتوسیانین‌ها در این حسگرهای زیستی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. (Sobhan, Muthukumarappan, & Wei, 2021).

علاوه بر این، بیشتر مطالعات حسگرهای زیستی روی ماهی، گوشت و غذاهای دریایی صورت گرفته، که احتمالاً به این دلیل است که کاهش کیفیت آن‌ها یک ضرر اقتصادی مهم بوده و همچنین در فرآیند تخریب، pH محیط اطراف تغییر کرده، و این تغییر به راحتی از طریق حسگرهای زیستی حساس به pH شناسایی می‌شود. (Mallick, 2002).

جالب توجه است که برخی از ترکیبات اعمال شده و آزمایش شده در حسگر، نه تنها رنگ حساس به pH را ارائه می‌دهند، بلکه دارای خواص زیست فعال دیگری نیز هستند، به‌عنوان مثال، خواص ضد میکروبی و حضور آن در ماتریکس پلیمری نیز می‌تواند فعالیت نگهداری مواد بسته‌بندی را افزایش دهد. در طول فساد، گازهای فرار متفاوتی در طول زمان آزاد می‌شوند که یکی از آن‌ها ترکیبات نیتروژنی فرار است. متابولیسم میکروبی پروتئین‌ها، رایج‌ترین اشکال یافت شده آمونیاک، دی متیل آمین و تری متیل آمین هستند که در مجموع به عنوان TVB-N شناخته می‌شوند. روش تشخیص TVB-N نیازمند

جدول ۲- کاربرد حسگرهای زیستی مبتنی بر pH (Park et al., 2015)
Table 2- Application of biosensors based on pH (Park et al., 2015)

غذا Food	نتایج عمده Main results	عملکرد Function	مواد حسگر (منبع/نوع) Sensing material (source)	ماتریکس Matrix
ماهی کپور صلیبی Crucian fish	<ul style="list-style-type: none"> استفاده از نانوذرات ZnO باعث بهبود ثبات رنگ فیلم‌ها شد. فیلم‌های دولایه به آمونیاک حساس هستند. فیلم صمغ ژلان-آنتوسیانین توت/ژلاتین ۰/۲ درصد تغییرات رنگی قابل مشاهده را نشان داد. <p>The use of ZnO nanoparticles improved the color stability of the films; Bilayer films proved to be sensitive to ammonia; anthocyanins/Gellan 2.0% film demonstrated visible color changes</p>	حساسیت لایه‌ها به ترکیبات نیتروژنی فرار از طریق تغییر pH Sensitivity of the films to volatile nitrogen compounds through pH change	انواع مختلف توت- آنتوسیانین ها Mulberry fruits—anthocyanins	فیلم‌های دولایه ژلاتین- صمغ ژلان Gelatin-Gellan gum bilayer films
گوشت گاو و ماهی Beef and fish	<ul style="list-style-type: none"> آنتوسیانین‌ها باعث تغییراتی در خواص مکانیکی شدند. ورقه‌های نشاسته کاساوا با بالاترین محتوای آنتوسیانین به‌عنوان یک حسگر pH عمل می‌کنند و تغییرات رنگ را با تغییر محیط pH نشان می‌دهند. <p>Anthocyanins caused changes in the mechanical properties; Cassava starch sheets with the highest content in anthocyanins proved to be effective to act as a pH-sensor, showing color changes when the pH environment changed</p>	حساسیت لایه‌ها به ترکیبات نیتروژنی فرار از طریق تغییر pH Sensitivity of the films to volatile nitrogen compounds through pH change	میوه‌های توت- آنتوسیانین‌ها Grape—anthocyanins	نشاسته

گوشت بوفالو Buffalo meat	<ul style="list-style-type: none"> • حسگر نسبت به افزایش تولید آمونیاک واکنش نشان داد و باعث تغییرات ساختاری در آنتوسیانین‌ها شد و در نتیجه تغییر رنگ مشاهده شد. • در شرایط شبیه‌سازی تولید آمونیاک، نشانگر از قرمز به سبز تبدیل شد. • نتایج مشابهی در هنگام تماس حسگر با گوشت گاو میش مشاهده شد. <p>The indicator sensor is reactive to an increase in ammonia production, causing conformational changes on anthocyanins and a color change was observed;</p> <p>_ Under simulating conditions of ammonia production, the indicator turned from red to green;</p> <p>Same results were observed when the indicator was in contact with buffalo meat</p>	حساسیت لایه‌ها به ترکیبات نیتروژنی فرار از طریق تغییر pH Sensitivity of the films to volatile nitrogen compounds through pH change	کلم قرمز و گل رز - آنتوسیانین Red cabbage and rose—anthocyanins	آگارز Agarose
ماهی Fish	<ul style="list-style-type: none"> • خواص مکانیکی، نوری و فیزیکی-شیمیایی لایه‌ها با افزودن آنتوسیانین‌ها به فیلم نانوفیبر کیتین/متیل سلولز تغییر کرد. • هنگامی که فیلم‌ها در ظروف در تماس با ماهی‌های فاسد قرار گرفتند، پاسخ حساس به pH رنگ سنجی مشاهده شد. <p>Mechanical, optical, and physical-chemical properties of the films changed when anthocyanins were added to the chitin nanofiber/methylcellulose film;</p> <p>A colorimetric pH-sensitive response was observed when the films were placed in contact with spoiled fish in containers.</p>	حساسیت لایه‌ها به ترکیبات نیتروژنی فرار از طریق تغییر pH Sensitivity of the films to volatile nitrogen compounds through pH change	زرشک قرمز - آنتوسیانین Red barberry—anthocyanins	نانوالیاف کیتین و متیل سلولز Chitin nanofiber and methylcellulose
گوشت گاو، مرغ، میگو و ماهی Beef, chicken, shrimp and fish	<ul style="list-style-type: none"> • تغییر رنگ (بنفش به زرد) هنگام قرار گرفتن در معرض آمین‌های مختلف مشاهده شد. • عصاره‌ها بر خواص مکانیکی فیلم‌های تولید شده تأثیری نداشتند. • تغییرات رنگ در هر دو فیلم رخ داد. • تغییرات رنگ در کربوکسی متیل سلولز بیشتر از فیلم‌های کیتوزان مشهود بود. <p>A color change (purple to yellow) was observed when exposed to different amines;</p> <p>Same behavior was observed when the film was introduced in the headspace of the package containing spoiled food products.</p>	حساسیت لایه‌ها به ترکیبات نیتروژنی فرار از طریق تغییر pH Sensitivity of the films to volatile nitrogen compounds through pH change	کلم قرمز - آنتوسیانین Red cabbage—anthocyanins	پکتین Pectin
گوشت مرغ Chicken meat	<ul style="list-style-type: none"> • خواص مکانیکی و بازدارنده فیلم‌ها با عصاره برگ تاج خروس افزایش یافت. • فیلم‌ها به دلیل تولید آمونیاک در اثر تخریب میگو، رنگ خود را از زرد به قرمز تغییر دادند. <p>Extracts did not affect mechanical properties of the films produced; Color changes occur in both films; Color changes were more evident on carboxymethyl cellulose than on chitosan films.</p>	حساسیت لایه‌ها به ترکیبات نیتروژنی فرار از طریق تغییر pH Sensitivity of the films to volatile nitrogen compounds through pH change	پالپ پوست زغال اخته و انگور قرمز - آنتوسیانین Blueberry and red grape skin pulp—anthocyanins	کیتوزان، کربوکسی متیل سلولز Chitosan, carboxymethyl cellulose
میگو Shrimp	<ul style="list-style-type: none"> • خواص مکانیکی و باررهای فیلم‌ها با عصاره برگ تاج خروس افزایش یافت. • فیلم‌ها به دلیل تولید آمونیاک در اثر تخریب میگو، رنگ خود را از زرد به قرمز تغییر دادند. <p>Mechanical and barrier properties of the films were enhanced by Amaranth leaf extracts;</p> <p>Films changed their color from yellow to red due to ammonia production from shrimp degradation</p>	حساسیت لایه‌ها به ترکیبات نیتروژنی فرار از طریق تغییر pH Sensitivity of the films to volatile nitrogen compounds through pH change	کوکومین Curcumin	صمغ بندر لالامانتیا ایبریکا Lallemantia iberica seed gum

بسته‌بندی هوشمند

اگرچه اطلاعات کافی در مورد سیستم‌های بسته‌بندی هوشمندانه میوه‌ها و سبزیجات وجود ندارد، اما در سال‌های اخیر پیشرفت‌هایی در این زمینه حاصل شده است (Pavelková, 2013). میوه‌ها و سبزیجات به دلیل فرایند تنفس و آزادسازی CO₂ و در نتیجه تولید اتیلن، از مواد غذایی به شدت فاسدشدنی هستند. اتیلن یک هورمون گیاهی است که کامل شدن (رسیدن) میوه‌ها را تسریع می‌بخشد. پاکسازی و پایش بر محتوای اتیلن، و همچنین کاهش مقدار آن در فضای بسته می‌تواند اطلاعات ارزشمندی را ارائه دهد و برای جلوگیری از تخریب سریعتر

فناوری بسته‌بندی هوشمند مواد غذایی با گنجاندن حسگرها و شناسایی فرکانس رادیویی (RFID) در بسته‌بندی، نظارت در مورد کیفیت غذاها را امکان‌پذیر کرده است. این فناوری همچنین به تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان این امکان را می‌دهد تا تاریخ یک محصول را از طریق نکات مهم در زنجیره تأمین مواد غذایی ردیابی کنند (Pavelková, 2013).

اکوسیستم‌های آبی پاسخ دهند. ارزیابی سمیت آب یک موضوع مهم برای ایمنی آب در محیط زیست است. به عنوان مثال، علف‌کش‌ها به طور گسترده در کشاورزی برای حفاظت از محصولات استفاده می‌شوند، اما آن‌ها را نمی‌توان به راحتی از خاک حذف کرد. بنابراین، پس از استفاده، آن‌ها را می‌توان در خاک، آب‌های زیرزمینی و سطحی و بافت‌ها و مایعات بدن یافت. به دلایل ایمنی، تنها آثار بسیار کمی از علف‌کش‌ها باید در آب باقی بماند (Reynolds, 2006). یکی از کاربردهای اصلی زیست‌حسگرهای ریزجلبکی، تشخیص آفت‌کش‌ها، حشره‌کش‌ها و قارچ‌کش‌ها می‌باشد. علف‌کش‌هایی که آنزیم استولاکتات سنتاز یا استوهیدروکسی اسید سنتاز را هدف قرار می‌دهند، از جمله پرمصرف‌ترین علف‌کش‌ها در جهان هستند. قانون آب اروپا بیان می‌کند که غلظت علف‌کش‌ها در آب باید برای هر گروه علف‌کش به ترتیب زیر ۰٫۱ یا ۰٫۵ میکروگرم در لیتر باشد (Giardi & Pace, 2005). بنابراین، علاقه فزاینده‌ای به توسعه سنسورهای سریع، ارزان‌قیمت برای غربالگری حضور علف‌کش‌ها در محیط وجود دارد. با این حال، تجزیه و تحلیل فیزیکی و شیمیایی کلاسیک علف‌کش‌ها نیازمند یک مرحله پاک‌سازی نمونه و به‌دنبال آن استفاده از روش کروماتوگرافی مایع یا گاز و تشخیص طیف سنجی جرمی پشت سر هم، است. حسگرهای زیستی باید به فرصت‌های جدیدی برای توسعه روش‌های تحلیلی خودکار، سریع و مستقیم منجر شوند.

استفاده از حسگرهای زیستی، یکی از مفیدترین روش‌ها برای تعیین سمیت پساب‌های محیطی و صنعتی است. بسیاری از سنسورهای زیستی مبتنی بر ریزجلبک‌ها در سال‌های اخیر توسعه یافته‌اند. آن‌ها نسبت به آنالیزهای فیزیکی یا شیمیایی بسیار حساس و قابل تکرار هستند. جلبک سبز *Chlorella vulgaris* به دلیل پایداری بیشتر در تولید سیگنال‌های بیولوژیکی معمولاً برای ساخت حسگرهای زیستی انتخاب می‌شود (Védrine, Leclerc, Durrieu, & Tran-Minh, 2003). فلورسانس کلروفیل ساطع شده از فعالیت فتوسنتزی آن، تشخیص آفت‌کش‌ها را امکان‌پذیر می‌کند و مهار فعالیت آکالان فسفاتاز و استراز آن، تعیین فلزات سنگین و حشره‌کش‌های ارگانوفسفره را امکان‌پذیر می‌کند. حسگرهای زیستی کل سلولی براساس فلورسانس کلروفیل یا مهار آنزیم (فسفاتاز و استراز) ساخته شده‌اند (Durrieu, Badreddine, & Daix, 2003). نتایج نشان می‌دهد که این دستگاه‌ها نسبت به فلزات سنگین و آفت‌کش‌ها حساس هستند (Durrieu et al., 2003).

مواد فاسد شدنی اهمیت دارد. حسگرهای رسیدن میوه به‌صورت تجاری در دسترس هستند، مانند احساس رسیده‌ای^۱، حسگری که به عطرهای منتشر شده از رسیدن میوه واکنش نشان می‌دهد و رنگ آن را از قرمز اولیه به زرد تغییر می‌دهد. تغییرات رنگ، نشان‌دهنده سطح رسیدن فعلی میوه است و به مصرف‌کنندگان اجازه می‌دهد تا براساس ترجیحات خود انتخاب کنند (Chen et al., 2012).

دی‌اکسید کربن (CO₂) یک افزودنی مهم غذایی و نشانگر کیفیت بسته‌بندی مواد غذایی است. هنگامی که غذا فاسد می‌شود، سطح CO₂ بیشتر به دلیل رشد میکروارگانیسم‌ها شروع به افزایش می‌نماید. علاوه بر این، CO₂ در بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده برای جلوگیری از رشد میکروبی استفاده می‌شود. امروزه یک حسگر CO₂ بر اساس پاسخ رنگ سنجی ترکیبی از لیزین، ε-پلی‌لیزین و آنتوسیانین تولید شده است. این ترکیب در محلول اتیل سلولز به‌صورت یک برچسب تولید شده است. استفاده از اتیل سلولز در مواد پوششی، نفوذپذیری نسبت به CO₂ و نفوذناپذیری در برابر پروتون‌ها را القا می‌کند (Purohit, Vernekar, Shetti, & Chandra, 2020).

تشخیص CO₂ توسط حسگرها مستقیماً با تغییر اسید آمینه و تشکیل اسید کاربامیک در ارتباط است، همین امر موجب تغییر pH شده و تغییر رنگ توسط آنتوسیانین‌ها، رخ می‌دهد. برچسب حسگر CO₂، تحت شرایط نگهداری در سرما، نشان داد که به قرار گرفتن در معرض CO₂ واکنش نشان می‌دهد، زمانی که غلظت CO₂ افزایش می‌یابد، از آبی به بنفش تغییر می‌کند و معرفی برای تازگی غذا است. اکسیژن یک محرک نامطلوب برای تخریب مواد غذایی است و از این نظر، بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده، برای کاهش برهمکنش محصولات غذایی با محیط اطراف استفاده می‌شود. به‌طور معمول، بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده شامل غلظت کم O₂ (۰-۲٪) و غلظت بالای CO₂ (۲۰-۸۰٪) است. استفاده از نانوحسگرها به دلیل توانایی بالقوه آن‌ها در تشخیص، شناسایی و تعیین کمیت پاتوژن‌ها، سموم، آلرژن‌ها و سایر نشانگرهای شیمیایی، پتانسیل زیادی در بسته‌بندی هوشمند دارند، هنگامی که در بسته‌بندی مواد غذایی بکار می‌روند، می‌توانند برای پایش تازگی غذا و کمک به تعیین ماندگاری دقیق‌تر مفید باشند (Wadhwa, Kakkur, Wadhwa, & Raj, 2019).

تشخیص آلاینده‌ها و علف‌کش‌ها توسط جلبک‌ها

ریزجلبک‌های سبز جزء اصلی جمعیت‌های فیتوپلانکتون هستند. از آنجایی که آن‌ها می‌توانند تحت شرایط محیطی که می‌تواند برای سایر میکروارگانیسم‌ها مضر باشد زنده بمانند، از آن‌ها در توسعه حسگرهای زیستی استفاده شده است که می‌توانند به تغییرات حیاتی در

فلورسانس سیستم فتوسنتزی ریز جلبک‌ها

در حسگرهای زیستی جلبکی مبتنی بر فعالیت فتوسنتزی، فعالیت فتوسنتزی سلول‌های زنده با حضور آلاینده‌ها بررسی می‌شود که می‌تواند به سیگنال‌های الکتریکی یا نوری تبدیل شود. حسگرهای نوری براساس فلورسانس کلروفیل موجود در کلروپلاست‌ها هستند، در حالی که حسگرهای آمپرومتریکی، میزان اکسیژن فتوسنتزی را با الکتروکاتارک سنسجس می‌کنند. حسگرهای زیستی مبتنی بر جلبک‌ها، در حال حاضر از فلورسانس کلروفیل به‌عنوان سیگنال قابل اندازه‌گیری استفاده می‌کنند. جذب نور در رنگدانه‌های به اصطلاح آنتن در غشای تیلاکوئید صورت می‌گیرد. انرژی به مرکز واکنش فتوسیستم‌ها منتقل می‌شود و توسط ارگانسیم‌ها برای تولید ATP استفاده می‌شود. تغییرات در فلورسانس کلروفیل در حضور مواد سمی را می‌توان اندازه‌گیری کرد و با غلظت آلاینده ارتباط داد (Rodriguez Jr, Sanders, & Greenbaum, 2002).

فتوسنتز در فتوسیستم دو (PSII) آغاز می‌شود که در آن آب با آزاد شدن اکسیژن مولکولی به پروتون و الکترون تقسیم می‌شود. پروتون‌ها برای ایجاد یک گرادیان بالقوه در سراسر غشای تیلاکوئید استفاده می‌شوند که تولید ATP از ADP و فسفات را امکان‌پذیر می‌کند. الکترون‌ها وارد زنجیره انتقال الکترون می‌شوند و از طریق یک سری مولکول‌ها و پروتئین‌های انتقالی به فتوسیستم I (PSI) می‌روند. الکترون‌های برانگیخته در نهایت برای تولید NADPH استفاده می‌شوند که در چرخه کالوین برای تثبیت کربن و سایر واکنش‌های متابولیکی استفاده می‌شود (Pospíšil, 2009).

آلاینده‌ها یا علف‌کش‌ها در تماس با PSII، انتقال الکترون‌ها را از گیرنده اولیه QA به کینون QB ثانویه در طول زنجیره فتوسنتزی مهار می‌کنند و تا حدی یا به‌طور کامل، انتقال الکترون را مسدود می‌کنند. این مهار منجر به تغییر در انتشار فلورسانس PSII می‌شود که می‌تواند با تجزیه و تحلیل فلورسانس نظارت شود. علف‌کش‌هایی که PSII را هدف قرار می‌دهند به انواع مختلفی از کلاس‌های شیمیایی تعلق دارند، به‌عنوان مثال، تری‌آزین‌ها، تری‌آزینون‌ها، اوره‌ها، بیس‌کاربامات‌ها، دینیتروفنول‌ها و سیانوفنول‌ها (Brayner, Couté, Livage, Perrette, & Sicard, 2011a). حسگرهای زیستی فیبر نوری برای تجزیه و تحلیل علف‌کش‌ها با استفاده از سه ریز جلبک مختلف *Scenedesmus sp.*، *Dictyosphaerium chlorelloides* و *Scenedesmus intermedius* مورد بررسی قرار گرفته‌اند (Brayner et al., 2011a).

به این منظور، ریز جلبک‌ها در یک ماتریکس سل-ژل سیلیکات سدیم بی‌حرکت شدند، تا فعالیت بیولوژیکی خود را حفظ کنند. افزایش

مقدار فلورسانس کلروفیل برای تعیین کمیت علف‌کش‌هایی که فتوسنتز را در PSII مهار می‌کنند، به‌عنوان مثال تریازین‌ها (آترازین، سیمازین، تربوتیلازین) و علف‌کش‌های مبتنی بر اوره (لبنورون) استفاده شد. بهترین نتایج، یعنی پایین‌ترین حد تشخیص، وسیع‌ترین محدوده کالیبراسیون دینامیکی، پاسخ دقیق و برگشت‌پذیری، با استفاده از *Dictyosphaerium chlorelloides* به دست آمده است. (Brayner et al., 2011a).

فوتو آمپرومتری

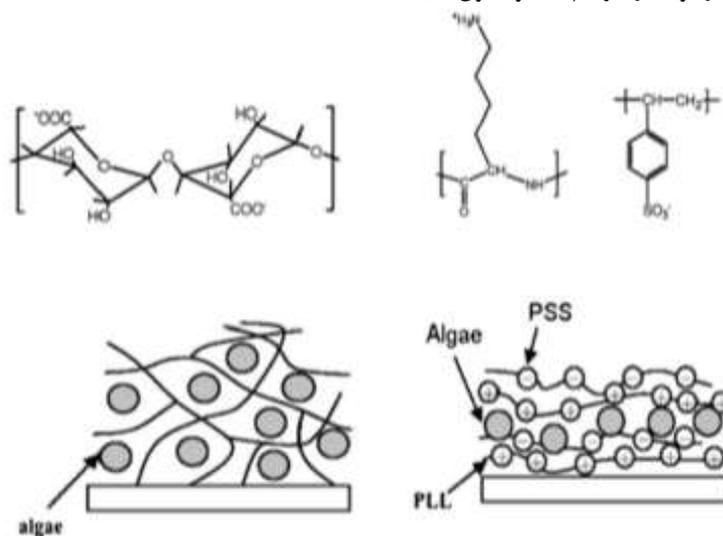
فوتوآمپرومتری، روش سریعی است که می‌تواند چند نقطه قبل از اکی والان و چند نقطه بعد از اکی والان را ثبت کند. در محلول‌های رقیق به راحتی کاربرد دارد. همچنین یک حسگر زیستی یکبار مصرف با روش فوتوآمپرومتری برای تشخیص سریع سمیت با استفاده از ریز جلبک سبز *Chlorella vulgaris* مورد استفاده قرار گرفت. در این حسگر زیستی، ریز جلبک‌ها در یک ژل آلژینات یا یک غشای کمپلکس پلی یونی که مستقیماً بر روی سطح الکتروکود شفاف ITO (تین اکسید ایندیوم) تثبیت شده بود، به دام افتادند. اکسیژن تولید شده فتوسنتزی توسط این ریز جلبک‌های تثبیت شده به‌صورت آمپرومتریکی بررسی شدند (شکل ۱). پاسخ زیست حسگر جلبک‌ها در حضور چهار ترکیب سمی مورد آزمایش قرار گرفت: آترازین (۶-کلرو-N-اتیل-N-ایزوپروپیل-۱،۳،۵-تریازین-۲،۴-دیامین)، DCMU (۳-۴-دی‌کلروفنیل) (۱-۱-دی‌اتیل اوره)، تولوئن و بنزن. همبستگی خوبی بین نتایج حاصل از این اندازه‌گیری‌های آمپرومتریکی و نتایج به‌دست آمده از یک آزمون رشد استاندارد معمولی به‌دست آمد. مزایای اصلی این حسگر زیستی جدید این است که بسیار ارزانه‌تر است و زمان سنسجس آن نسبت به دیگر حسگرهای زیستی جلبکی معمولی مبتنی بر الکترودهای کاتارک بسیار کوتاه‌تر (≥ 200 ثانیه) است (Shitanda et al., 2005).

حسگرهای زیستی گاز برای ترکیبات آلی فرار (VOC)

توسط جلبک‌ها

بیشتر حسگرهای زیستی مبتنی بر آنزیم‌ها یا میکروارگانسیم‌ها فقط در محلول‌های آبی مؤثر هستند. ساختن حسگرهای زیستی که در فاز گاز عمل می‌کنند، می‌تواند به‌عنوان یک وسیله هشدار دهنده برای نظارت کیفیت هوادر محل کار مفید باشند. ترکیبات آلی فرار اغلب به شکل بخار در تصفیه‌خانه‌های شهری استفاده می‌شوند. آن‌ها همچنین بر فعالیت فتوسنتزی ریز جلبک‌های کلرلا و لگاریس تأثیر می‌گذارند. این حسگرها بر اساس سلول‌های کلرلا و لگاریس تثبیت شده بر روی

جلبکی به درستی کار کنند. اسپری کردن یک ترکیب سمی (پرکلرواتیلن) به داخل محفظه اتمسفر کنترل شده، منجر به تغییر اکسیژن تولیدی در زیر نور شده و این را می‌توان با الکتروود کلارک تشخیص داد (Altamirano et al., 2004).



شکل ۱- ساختمان مولکولی ریز جلبک‌های تثبیت شده روی الکتروود ITO (Shitanda et al., 2005)
 Fig. 1. Molecular structure of microalgae immobilized on ITO electrode (Shitanda et al., 2005)

های تحلیلی استفاده می‌شوند. فلزات با روش‌های فیزیکی و شیمیایی مرسوم، برای مثال جذب نوری یا طیف سنجی انتشار پلاسما، تجزیه و تحلیل می‌شوند (Carrilho, Nóbrega, & Gilbert, 2003).

بسیاری از فلزات مانند کروم، کبالت، مس، کادمیوم یا جیوه را می‌توان توسط ریز جلبک‌ها تثبیت کرد. در میان این فلزات، جیوه یکی از سمی‌ترین فلزات است، زیرا به واکنش با مولکول‌های آلی با ایجاد پیوندهای قوی C-Hg تمایل دارد. بنابراین بسیار مهم است که بتوان رد پای این فلز را در آب تشخیص داد. Hg^{+2} و CH_3Hg^+ مهم‌ترین ترکیبات جیوه در محیط‌های آبی هستند، به خصوص اینکه CH_3Hg^+ به دلیل انتشار از طریق غشاهای بیولوژیکی بسیار خطرناک است. نتایج جالبی در سال‌های اخیر با استفاده از ریز جلبک سبز *Chlorella vulgaris* تثبیت شده روی یک بستر جامد (سیلیکاژل) به دست آمده است (Tajes-Martinez et al., 2006). در این زیست حسگر زیستی، جیوه زدایی معمولاً با استفاده از کامپوزیت سیلیکا-جلبک انجام می‌شود و Hg^{+2} و CH_3Hg^+ به‌طور مؤثر در ستون حفظ می‌شوند. راندمان جذب برای هر دو ترکیب در pH ۳ بالاتر از ۹۷ درصد بود. سپس با افزودن HCl می‌توان آن‌ها را به‌صورت متوالی در pH پایین‌تر شستشو داد. یکی از مزایای اصلی استفاده از ریز جلبک‌ها این است که ظرفیت نگهداری فلزات سنگین را به مدت سه هفته در دمای صفر درجه سانتی‌گراد دارند. بنابراین، ترکیبات جیوه را می‌توان تا زمان تجزیه و تحلیل

غشای یک الکتروود اکسیژن کلارک طراحی شده‌اند. این حسگر زیستی، اکسیژن تولید شده توسط فعالیت فتوسنتزی ریز جلبک‌ها را در زیر نور و در حضور دی‌اکسید کربن اتمسفر اندازه‌گیری می‌کند. حسگر زیستی در داخل یک محفظه اتمسفر کنترل شده نگهداری می‌شود و یک مخزن آب به بدنه الکتروود ثابت می‌شود تا رطوبت را فراهم کند و سلول‌های

افزایش حساسیت حسگرهای زیستی مبتنی بر ریز جلبک‌ها حسگرهای زیستی جلبکی معمولاً حساسیت بالا و دقیقی دارند. اما به‌منظور افزایش میزان حساسیت، در تحقیقی از دو ژنوتیپ مختلف برای شناسایی یک آلاینده معین استفاده گردید. در این روش، دو ژنوتیپ از ریز جلبک سبز *Dictyosphaerium chlorelloides* به‌طور هم‌زمان استفاده شد؛ یک ژنوتیپ حساس برای به دست آوردن حساسیت (نوع وحشی DcG1wt) و یک ژنوتیپ جهش مقاوم به TNT، مهار کلروفیل فلورسانس PSII توسط TNT به‌عنوان سیگنال بیولوژیکی استفاده شد. در چنین حسگرهای زیستی جلبکی، پاسخ بیولوژیکی سلول‌ها در حضور آلاینده‌ها کاهش می‌یابد. این زیست حسگر TNT جلبکی کم هزینه نسبت به دیگر سیستم‌های سنجش حساس تر و حد تشخیص آن ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد. پاسخ زمانی زیست حسگر بیان شده پنج برابر سریع‌تر است (Roberta, Alain, Jacques, Catherine, & Clemence, 2011).

حسگرهای زیستی یون‌های فلزی

ریز جلبک‌ها، میل ترکیبی قوی برای یون‌های فلزی دارند. آن‌ها می‌توانند مقادیر زیادی فلز را از محیط خود جمع کنند و در حال حاضر به‌عنوان جاذب زیستی برای پیش‌تغلیظ فلز قبل از تیتراسیون با دستگاه

گیری شد. اندازه‌گیری فسفاتاز غشایی APA را می‌توان بر روی سلول‌های کامل، بدون هیچ مرحله استخراج انجام داد و در نهایت فلزات جذب شده در سطح سلول تشخیص داده می‌شوند. سولفات مس یکی از مواد کشنده‌ای است که معمولاً برای تصفیه آب‌های سطحی دریاچه‌ها، مخازن و سایر منابع آب استفاده می‌شود. همچنین در حال حاضر به‌عنوان حشره‌کش در کشاورزی استفاده می‌شود. به‌طوری‌که یون‌های Cu^{+2} وارد زنجیره غذایی می‌شوند و تنوع زیستی را به‌طور قابل توجهی کاهش می‌دهند. بنابراین توسعه یک روش غربالگری برای تشخیص مس در آب بسیار مهم است (Chouteau et al., 2004; Guedri & Durrieu, 2008).

زیست حسگرهای سیانوباکتری‌ها

سیانوباکتری‌های نوع وحشی اولین موجوداتی هستند که برای توسعه حسگرهای زیستی استفاده می‌شوند. این موجودات فوتوتروف از نظر اکولوژیکی مهم و بنابراین برای نظارت بر ترکیباتی مانند علف‌کش‌هایی که فعالیت فتوسنتزی موجودات را مهار می‌کنند، مناسب هستند. سیانوباکتری‌های تثبیت شده (*Synechococcus* و *Synechocystis*) همچنین می‌توانند به‌عنوان حسگرهای زیستی برای تشخیص سمیت آب به‌دلیل متابولیسم همه‌کاره‌شان، برای مثال فعالیت فتوسنتزی (غشاهای تیلاکوئید در سلول‌های رویشی)، تنفس، تخمیر و تثبیت نیتروژن (سلول‌های هتروسیت) استفاده شوند. زیست‌حسگرهای آمپرومتریکی مبتنی بر سیانوباکتری‌ها نیز برای تشخیص آلاینده‌های فیتوتوکسیک استفاده شده‌اند با این حال، آن‌ها پایدار و قوی نیستند. (Lin et al., 2010)

برای غلبه بر این معایب، سلول‌های میکروبی را می‌توان با معرفی یک "ژن گزارشگر" اصلاح ژنتیکی کرد تا تعاملات بیولوژیکی را به راحتی به یک سیگنال خروجی قابل ضبط (مثلاً نور) تبدیل کند. متداول‌ترین پروتئین‌های گزارشگر بتا گالاکتوزیداز، پروتئین فلورسنت سبز (GFP) و لوسیفراز هستند (Liu & Wang, 2009).

به‌نظر می‌رسد زیست حسگرهای سیانوباکتری‌ها در تشخیص سمیت علف‌کش‌ها نسبت به روش‌های دیگر، مانند حسگرهای زیست سلولی و بافتی مبتنی بر فتوسیستم، ساده‌تر، سریع‌تر، دقیق‌تر و مقرون به صرفه‌تر باشند. همچنین می‌توان برای نشان دادن نوع علف‌کش و احتمالاً نحوه عملکرد بالقوه آن‌ها از این زیست‌حسگرها استفاده کرد. یکی از معایب این روش، نیاز به دانش کار با ابزارهای ژنتیکی است. برای غلبه بر این محدودیت، فعالیت فتوسنتزی سیانوباکتری‌ها در حضور علف‌کش‌ها با اندازه‌گیری‌های فوتوالکتروشیمیایی و آمپرومتریکی دنبال می‌شود. علف‌کش‌ها عموماً مهارکننده‌های جریان الکترون وابسته به PSII هستند (Shao, Howe, Porter, & Glover, 2002).

ذخیره کرد. بنابراین، کلرلا ولگاریس تثبیت شده روی سیلیکاژل، یک جایگزین امیدوارکننده کم‌هزینه برای آنالیز جیوه است (Tajes- Martínez, Beceiro-González, Muniategui-Lorenzo, & Prada-Rodríguez, 2006).

علاوه بر آن، برخی از ارگانوسم‌های حامل ژن‌های گزارشگر شب تاب که با پروموتورهای القای یون‌های فلزی ترکیب شده‌اند، ممکن است به‌عنوان حسگرهای زیستی برای تشخیص یون‌های فلزات سنگین زیستی در نمونه‌های محیطی استفاده شوند. به‌عنوان مثال، *Synechococcus* PCC 7942 (pJLE23) قادر به تشخیص کاتیون‌هایی مانند Zn^{+2} در سطوح بسیار پایین‌تر از حداکثر توصیه‌شده سازمان بهداشت جهانی برای آب آشامیدنی (۵ میلی‌گرم در لیتر، ۸۰ میکرومول در لیتر) است (Brayner, Couté, Livage, Perrette, & Sicard, 2011b).

برای بهبود تکرارپذیری آزمایش‌های سم‌شناسی در حضور فلزات سنگین، سیانوباکتری‌ها را می‌توان در ماتریکس‌های مختلف تثبیت کرد. به‌عنوان مثال، سیانوباکتریوم *Anabaena torulosa* با استفاده از ماتریکس پلی (۲-هیدروکسیل اتیل متاکریلات) روی یک الکتروکد اکسیژن بی‌حرکت شد. رفتار این میکروارگانوسم در حضور سرب با اندازه‌گیری تغییرات آزادسازی اکسیژن فتوسنتزی بررسی شد. نتایج نشان داد که حداکثر میزان جذب سرب توسط *Anabaena torulosa* ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر بود (Carrilho et al., 2003).

فعالیت آلکالین فسفاتاز

فعالیت آلکالین فسفاتاز (APA) ریز جلبک کلرلا ولگاریس در حضور فلزات سنگین مهار می‌شود، از این خاصیت می‌توان برای سنجش فلزات سنگین استفاده کرد. بنابراین یک زیست حسگر برای تشخیص فلزات سنگین با استفاده از خاصیت مهار آلکالین فسفاتاز (AP) با استفاده از غشای خارجی کلرلا ولگاریس ساخته شده است (Guedri & Durrieu, 2008). در این زیست حسگر ریز جلبک‌ها بین دو الکتروکد پلاتینیومی قرار می‌گیرند و مبدل را تشکیل می‌دهند. فعالیت APA جلبک از طریق تغییر در هدایت اندازه‌گیری می‌شود. در واقع دقت این حسگرها بسیار بالا است که حتی غلظت یون‌های فلزی زیر ۱۰ ppb نیز قابل شناسایی است. این حسگرهای زیستی برای یک فلز خاص نیستند و به حضور فلزات سنگین پاسخ کلی ارائه می‌دهند و می‌توانند به‌عنوان یک سیستم هشدار اولیه در نظر گرفته شوند (Chouteau et al., 2004; Védrine et al., 2003).

فعالیت آلکالین فسفاتاز (AP) از طریق اندازه‌گیری‌های نوری با رسانایی تعیین می‌شود. به‌عنوان مثال، سلول‌های کلرلا ولگاریس در داخل غشاهای آلبومین سرم گاوی (BSA) که با گلوئال‌آلدئید پیوند متقابل دارند، تثبیت شدند. APA در حضور یون‌های کادمیوم اندازه

حسگرهای مبتنی بر دیاتومه‌ها

دیاتومه‌ها، برجسته‌ترین ریز جلبک‌ها در اقیانوس‌ها و آب‌های شیرین هستند. آن‌ها میکروارگانیسم‌های یوکاریوتی هستند که مواد ژنتیکی آن‌ها محدود به هسته سلول است. این جلبک‌های فتوسنتزی نقش مهمی در چرخه کربن، تثبیت دی‌اکسید کربن (CO_2) و آزادسازی اکسیژن دارند. تقریباً ۲۵ درصد از کل تثبیت کربن آلی روی این سیاره (تبدیل دی‌اکسید کربن و آب به قند با استفاده از انرژی نور) توسط دیاتومه‌ها انجام می‌شود. آن‌ها کلروفیل a و c، گزانتوفیل (از جمله دیاتوکسانتین) و کاروتنوئیدها (که مسئول رنگ زرد معمولی آن‌ها هستند) را سنتز می‌کنند. محل‌های رنگدانه در داخل تیلاکوئیدهای کلروپلاست (دستگاه فتوسنتزی) قرار دارند. اولین ماده‌ای که در طی فرآیند فتوسنتز تولید می‌شود، یک پلیمر از گلوکز به نام کریزولامینارین است که از لوکوزین و کریزوز همراه با لیپیدها تشکیل شده است (Nassif & Livage, 2011).

دیاتومه‌ها همچنین تولیدکننده سیلیکون، دومین عنصر فراوان، پس از اکسیژن، در پوسته زمین هستند. سنگ‌های سیلیکا به آرامی در آب حل می‌شوند و اسید سیلیسیک Si(OH)_4 را ایجاد می‌کنند که برای ساختن یک پوشش بیرونی به نام frustule استفاده می‌شود که از سیلیس و ماده آلی سنتز شده توسط سلول دیاتومه ساخته شده است. این پوسته سفت و سخت از دو دریچه تشکیل شده است که توسط یک سری نوارهای سیلیسی به هم متصل شده‌اند.

نوارهای سیلیسی ممکن است از ۱ میکرومتر تا چند میلی‌متر باشد (De & Mazumder, 2022a). این پوسته‌های معدنی تنوع باورنکردنی از اشکال پیچیده دارند. ابعاد و تزئینات آن‌ها اولین ویژگی طبقه‌بندی است که برای تشخیص جنس و گونه استفاده می‌شود. نوارهای سیلیسی، به تدریج از طریق تراکم و کم‌آبی به نوعی سنگ به نام دیاتومیت یا زمین دیاتوم تبدیل می‌شوند. این ماده متخلخل امروزه به‌طور گسترده‌ای برای فیلتر کردن آبجو، شراب و آب استخرها یا به عنوان افزودنی به رنگ‌ها و پلیمرها استفاده می‌شود. دینامیت اختراع شده توسط آلفرد نوبل از آغشته کردن دیاتومیت متخلخل به مواد منفجره مایع بسیار حساس، به‌عنوان مثال نیتروگلیسرین، بدست آمد (Mazumder & Gordon, 2022).

به دلیل متخلخل بودن آن‌ها، خواص بیوسنینگ دیاتومه‌ها براساس خواص متابولیکی سلول و هم‌براساس خواص فیزیکی پوسته سیلیس است. کم‌هزینه بودن و توزیع گسترده دیاتومه‌ها آن‌ها را به کاندیدای مناسبی در زمینه فناوری نانو تبدیل کرده است. دیاتومه‌ها به تغییرات آب و هوایی در شرایط دریاچه و رودخانه بسیار حساس هستند. دیواره سلولی سیلیسی آن‌ها را می‌توان به خوبی در رسوبات حفظ کرد. بنابراین مطالعه فسیل‌های دیاتوم می‌تواند ابزار مهمی در بازسازی شرایط دیرینه اقلیم

باشد. آن‌ها برای نزدیک به ۲۰۰ میلیون سال آثار زندگی بر روی زمین از خود به جای گذاشته‌اند (De & Mazumder, 2022b).

دیاتومه‌ها به‌عنوان یک تولیدکننده اولیه، ارگانیسم‌های کلیدی در اکوسیستم آب هستند. آن‌ها در سراسر منطقه روشن هر اقیانوس و در نهرها و دریاچه‌های آب شیرین زندگی می‌کنند. هر آبی در هر نقطه از کره زمین حاوی گونه‌های مختلفی از دیاتومه‌ها است که در یک مجموعه یا اجتماع زندگی می‌کنند. از آنجایی که آن‌ها نسبت به آلودگی ارگانیک حاصل از کشاورزی یا صنعت بسیار حساس هستند، تجزیه و تحلیل جمعیت دیاتومه‌ها امکان ارزیابی میزان آلودگی و فرسایش رودخانه‌ها را فراهم می‌کند. می‌توان از آن به‌عنوان یک روش بیولوژیکی ساده برای پایش کیفیت آب استفاده کرد که از نیاز به تجزیه و تحلیل فیزیکی و شیمیایی پیچیده جلوگیری می‌کند. دیاتومه‌های آب شیرین به‌عنوان شاخص‌های قابل اعتمادی از وضعیت تغذیه‌ای رودخانه‌ها و دریاچه‌ها در نظر گرفته می‌شوند. در دهه‌های اخیر، چندین شاخص برای ارزیابی شرایط تغذیه‌ای در سراسر اروپا توسعه یافته است. از شاخص بیولوژیکی دیاتومه‌ها، به‌عنوان یک شاخص بیولوژیکی برای ارزیابی کیفیت محیط‌های آبی استفاده می‌شود (Coste, Boutry, Tison-Rosebery, & Delmas, 2009). دانشمندان همچنین دریافته‌اند که دیاتومه‌ها به آلاینده‌های فلزی بسیار سمی مانند کادمیوم حساس هستند (Mazumder & Gordon, 2022).

صدف‌های آهکی دیاتومه ساختار متخلخل قابل توجهی با توزیع منافذ از مقیاس نانو تا میکرو دارند. آن‌ها را می‌توان به‌عنوان دستگاه‌های نانو سه بعدی آماده در نظر گرفت. بیش از ۱۰۵ گونه مختلف از دیاتومه‌ها شناسایی شده است (Mazumder & Gordon, 2022). دیاتومه‌ها را می‌توان به راحتی کشت داد و مقادیر زیادی از نوارهای سیلیسی کنترل شده ژنتیکی را ایجاد کرد. بنابراین، این پوسته‌های سیلیسی سه بعدی می‌توانند پایه‌ای را برای دستگاه‌های الکترونیکی جدید، به‌عنوان مثال حسگرهای گازی که می‌توانند آلودگی را سریع‌تر و کارآمدتر از دستگاه‌های معمولی تشخیص دهند، فراهم کنند (Giere, 2008).

استفاده سودمند از صدف‌های آهکی دیاتومی در زمینه میکرو حسگرهای نوری برای شناسایی مواد فرار خواهد بود. یک ویژگی کلیدی برای یک میدل نوری، که باید به بخارات و گازها حساس باشد، یک سطح بزرگ است تا بتواند تعامل بسیار مؤثری با چندین ماده جاذب ایجاد کند. ابعاد منافذ دیاتومه فقط در محدوده نانومتری است، بنابراین بسیاری از مواد فرار (حلال‌ها، هیدروکربن‌ها و غیره) و حتی گازهای خالص می‌توانند در منافذ نفوذ کرده و متراکم شوند (Saraswati & Srinivasan, 2015).

یکی از مراحل محدودکننده در توسعه حسگرهای زیستی ریزجلبکی، تثبیت مواد زیستی در یک ماتریکس است، بدون آنکه پایداری و فعالیت آنها کاهش پیدا کند. بیشتر تکنیک‌های تثبیت متکی به استفاده از تکیه‌گاه‌های آلی مانند پلی وینیل الکل (PVA) یا پلی سولفون (PSU) هستند که برای برخی از گونه‌های جلبکی ممکن است سمی باشند. ترکیبات زیست سازگار بیشتر شامل پلیمرهای زیستی مانند آلزینات کلسیم است. با این حال آن‌ها پایدار نیستند و نمی‌توان از آن‌ها طولانی مدت استفاده کرد. بنابراین به‌نظر می‌رسد ماتریکس ساخته شده از مواد سیلیسی متخلخل، مناسب‌ترین ماتریکس باشد که برای سلول‌های زنده غیر سمی هستند و در برابر حمله میکروبی مقاومت می‌کنند (Moreno-Garrido, 2008). استفاده از ژل پرکاربردترین تکنیک برای تثبیت جلبک است. می‌توان آن را با پلیمرهای مصنوعی (آکریل آمید، رزین‌های متقاطع عکس، پلی یورتان‌ها)، پروتئین‌ها (ژلاتین، کلاژن یا سفیده تخم مرغ)، یا پلی ساکاریدهای طبیعی (آگار، کاراگینان یا آلزینات) انجام داد. برای بهبود پایداری عملکردهای بیولوژیکی، تکنیک‌های مختلف تثبیت پیشنهاد شده است، از آن جمله می‌توان به ریزپوشانی در یک غشای تراوا، جذب به مشتقات سلولز، تثبیت در ژل و ایجاد شبکه در گلوپتارآلدئید و ماتریکس آلومین-گلوپتارآلدئید، اشاره کرد. در میان ژل‌ها، پلی وینیل الکل (PVA) اغلب به‌عنوان ماتریکس برای تثبیت انواع آنزیم‌ها و سلول‌ها استفاده می‌شود. گونه‌ای از این پلیمر از گروه‌های استیریل پیریدینوم متصل به پلی وینیل الکل (PVA-SbQ) استفاده می‌کند تا زنجیره‌های پلیمری را تحت شرایط ملایم بدون آسیب رساندن به مواد بیولوژیکی، به هم متصل کند (Antonacci & Scognamiglio, 2020).

حسگرهای زیستی ریز جلبکی باید پس از استفاده دوباره تولید شوند، اما بیشتر تکنیک‌های تثبیت به‌طور برگشت‌ناپذیر سلول‌ها را متصل می‌کنند و از تولید زیست حسگرهای قابل استفاده مجدد جلوگیری می‌کنند. چندین گروه در تلاش برای بهبود این روند هستند، اما نتایج هنوز خیلی خوب نیست و مطالعات هنوز در حال انجام است. یک روش راحت می‌تواند استفاده از ریز جلبک‌های پوشش داده شده با نانوذرات مغناطیسی زیست سازگار (NdFeB) باشد. سلول‌های زنده توسط میدان مغناطیسی به سطح الکتروود به صفحه نمایش جذب می‌شوند. سپس با خاموش شدن میدان مغناطیسی به راحتی می‌توان آن‌ها را حذف کرد (Zamaleeva et al., 2011).

فرآیند سل-ژل برای کپسوله کردن سلول‌های گیاهی

ماتریکس‌های سیلیکا برای سنتز نسبتاً ارزان هستند و خواص جالبی از جمله شفافیت نوری و سازگاری زیستی دارند، بدون اینکه دارای اثرات شیمیایی مضر باشند. به‌عنوان مثال، سیلیس جلبکی می‌

سیلیس دارای خواص نورتابی در محدوده مرئی است. انتشار فوتولومینسانس در ناحیه زرد نیز برای نوارهای سیلیسی دیاتوم‌های سیلیکا مشاهده می‌شود. این فعالیت لومینسانس مربوط به نقایص استوکیومتری سطح-اکسیژن است. بنابراین می‌تواند تحت تأثیر حتی تغییرات کوچک محیط گاز اطراف قرار گیرد. تشخیص گاز در غلظت‌های پایین نیز امکان‌پذیر است و حد تشخیص کمتر از ۵۰ ppb را می‌توان برای صدف‌های آهکی دیاتومی با بالاترین سطح خاص به‌دست آورد. بنابراین، این موجودات طبیعی کاندیدهای خوبی به‌عنوان مواد حسگر نوری برای تشخیص گازهای سمی یا نظارت بر آلودگی هوا هستند (De Stefano, Rendina, De Stefano, Bismuto, & Maddalena, 2005). همچنین می‌توان از صدف‌های آهکی دیاتومی به‌عنوان الگوی برای ساخت مواد نانوساختار استفاده کرد. پوسته‌های سیلیسی را می‌توان بدون از دست دادن نانوساختار سه بعدی خود، به صورت شیمیایی به مواد اکسیدی دیگر تبدیل کرد. در چنین فرآیندی، سیلیس به ترکیب جدیدی تبدیل می‌شود. به‌عنوان مثال، پوسته سیلیس می‌تواند با حرارت دادن در بخار منیزیم در دمای ۹۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت به MgO تبدیل شود. به این ترتیب بسیاری از مواد اکسید نانوساختار دیگر (BaTiO_3 , ZrO_2 , TiO_2) سنتز شده‌اند (Bao et al., 2007; Sandhage et al., 2005).

برخی از دیاتوم‌ها دارای خواص رنگین‌مانی هستند که از ساختار متخلخل عجیب آن‌ها ناشی می‌شود. منافذ به‌طور تصادفی بین پوسته سیلیکا توزیع نمی‌شوند. آن‌ها گاهی اوقات یک شبکه تناوبی منظم با فاصله متوسط در حدود ۵/۰ میکرومتر تشکیل می‌دهند. بنابراین، می‌توان صدف‌های دیاتومی را به‌عنوان «بلورهای فوتونی زنده» توصیف کرد. فعل و انفعالات قوی ممکن است بین نور و ماده رخ دهد. نور در "کریستال‌های فوتونیک" مانند الکترون‌ها در مواد نیمه‌رسانا رفتار می‌کند. در نتیجه نوارهای سیلیسی دیاتوم‌ها رنگین‌مانی مانند اوپال دارند. نوارهای سیلیکا، نور را در ناحیه آبی جذب می‌کنند، خاصیتی که از دیاتوم‌ها در برابر تابش بیش از حد محافظت می‌کند و فتوستنز آن‌ها را افزایش می‌دهد (Bao et al., 2007).

حسگرهای مبتنی بر دیاتوم‌ها برای تشخیص سریع الکتروشیمیایی بدون برچسب به‌عنوان شناساگرهای زیستی قلبی عروقی نیز شناخته شده‌اند. حسگر زیستی از مجموعه‌ای از نانو الکترودهای طلا که روی یک تراشه سیلیکونی قرار گرفته‌اند، ساخته شده است و هر حسگر توسط یک نوارسیلیسی دیاتوم پوشانده شده است که حساسیت کافی برای تشخیص بیماران در معرض خطر بیماری قلبی عروقی را دارد (Coste et al., 2009).

تثبیت ریز جلبک‌ها

تکرار هستند. یکی از مزایای اصلی این حسگرهای زیستی ریزجلبکی این است که اندازه‌گیری‌های مکرر را می‌توان بدون آماده‌سازی گسترده نمونه انجام داد. آن‌ها همچنین می‌توانند انتخابی باشند، به‌عنوان مثال فلورسانس کلروفیل ساطع شده از فعالیت فتوسنتزی، امکان تشخیص علف‌کش‌ها را فراهم می‌کند، در حالی که مهار آلکالین فسفاتاز و استراز امکان تعیین فلزات سنگین و حشره‌کش‌های ارگانوفسفره را فراهم می‌کند. دستگاه‌های حسگر مختلفی را می‌توان بر این اساس ساخت. حسگرهای نوری بر اساس فلورسانس کلروفیل موجود در کلروپلاست هستند، در حالی که حسگرهای آمپرومتریکی میزان اکسیژن فتوسنتزی را دنبال می‌کنند. تخمین‌زده شده است که ۲۰۰۰۰۰ تا ۸۰۰۰۰۰ گونه ریز جلبک وجود دارد که تنها حدود ۳۵۰۰۰ مورد از آن‌ها شرح داده شده است. بنابراین، پتانسیل عظیمی برای توسعه بیشتر وجود دارد. در سال‌های اخیر پیشرفت‌های زیادی در شناسایی ژن‌ها و مسیرهای مرتبط در ریزجلبک‌ها صورت گرفته و تکنیک‌های قدرتمندی برای مهندسی ژنتیک توسعه یافته است. در مجموع، پیشرفتی که در این زمینه‌ها محقق شده است، به سرعت توانایی ما را برای بهینه‌سازی ژنتیکی تولید حسگر زیستی‌های حساس‌تر مبتنی بر ریز جلبک‌ها افزایش خواهد داد.

در مقاله مروری حاضر، حسگرهای زیستی ریزجلبکی مبتنی بر سه خانواده ریز جلبک‌های یوکاریوتی (جلبک سبز، دیاتوم‌ها) و پروکاریوتی (سیانوباکتری‌ها) مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر آن نقش جلبک‌ها به‌عنوان حسگرهای زیستی برای شناسایی آلاینده‌های زیست‌محیطی و بسته‌بندی‌های هوشمند مواد غذایی در جوانب مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

تواند در جلوی نوک یک فیبر نوری برای ساخت یک حسگر زیستی نوری قرار گیرد. فیبر نوری می‌تواند برای ارسال تابش به سلول‌های جلبکی و انتقال تشعشعات فلورسنت به یک فلورسنج مورد استفاده قرار گیرد. به‌طور مشابه، فیلم‌های سل-ژل را می‌توان روی یک الکتروود برای اندازه‌گیری‌های آمپرومتری قرار داد (Afreen, Tyagi, Singh, & Singh, 2021).

نتیجه‌گیری

بسته‌بندی مواد غذایی عامل مهمی برای حفظ و نگهداری کیفیت محصولات غذایی است. استفاده از بسته‌بندی هوشمند مسیری نوآورانه برای ارائه اطلاعات دقیق‌تر نه تنها برای تامین‌کنندگان بلکه مهم‌تر از همه برای مصرف‌کنندگان است.

استفاده از رنگدانه‌های طبیعی حاصل از جلبک‌ها، که دارای خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی هستند در بسته‌بندی مواد غذایی، می‌تواند به افزایش ماندگاری محصولات بسته‌بندی شده کمک کند. بنابراین، این حسگرهای زیستی یک کاربرد بالقوه در سیستم‌های بسته بندی هوشمندانه مواد غذایی را دارند. علی‌رغم تأثیر مثبت آن‌ها برای استفاده به‌عنوان حسگر pH، این رنگدانه‌ها نسبت به دما، O₂ و نور ناپایداری نشان می‌دهند. بنابراین، مطالعات بیشتری برای بهبود کارایی و پایداری نشانگرها در ماتریس پلیمری مورد نیاز است.

علاوه بر آن نتایج این مقاله نشان می‌دهد که ریز جلبک‌ها می‌توانند به‌عنوان حسگرهای زیستی برای شناسایی آلاینده‌هایی مانند علف‌کش‌ها، فلزات سنگین و ترکیبات آلی فرار استفاده شوند. این زیست حسگرها نسبت به آنالیزهای فیزیکی یا شیمیایی بسیار حساس و قابل

References

1. Afreen, R., Tyagi, S., Singh, G.P., & Singh, M. (2021). Challenges and perspectives of polyhydroxyalkanoate production from microalgae/cyanobacteria and bacteria as microbial factories: an assessment of hybrid biological system. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 624885. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.624885>
2. Allouzi, M.M.A., Allouzi, S., Al-Salaheen, B., Khoo, K.S., Rajendran, S., Sankaran, R., & Show, P.L. (2022). Current advances and future trend of nanotechnology as microalgae-based biosensor. *Biochemical Engineering Journal*, 187, 108653. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.01.002>
3. Altamirano, M., Garcia-Villada, L., Agrelo, M., Sánchez-Martín, L., Martín-Otero, L., Flores-Moya, A., & Costas, E. (2004). A novel approach to improve specificity of algal biosensors using wild-type and resistant mutants: an application to detect TNT. *Biosensors and bioelectronics*, 19(10), 1319-1323. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.10.003>
4. Antonacci, A., & Scognamiglio, V. (2020). Biotechnological advances in the design of algae-based biosensors. *Trends in Biotechnology*, 38(3), 334-347. <https://doi.org/10.3329/bjb.v42i2.18033>
5. Aydinoglu, D. (2020). Active food packaging technology as an application in the food industry. *Academic Studies in Engineering Sciences*, 215. <https://doi.org/10.21123/bsj.15.1.16-21>
6. Azman, N.H., Khairul, W.M., & Sarbon, N.M. (2022). A comprehensive review on biocompatible film sensor containing natural extract: Active/intelligent food packaging. *Food Control*, 141, 109189. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109189>

7. Bao, Z., Weatherspoon, M. R., Shian, S., Cai, Y., Graham, P.D., Allan, S.M., & Kang, Z. (2007). Chemical reduction of three-dimensional silica micro-assemblies into microporous silicon replicas. *Nature*, 446(7132), 172-175. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2011.02.015>
8. Brayner, R., Couté, A., Livage, J., Perrette, C., & Sicard, C. (2011a). Micro-algal biosensors. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 401, 581-597. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.11.002>
9. Brayner, R., Couté, A., Livage, J., Perrette, C., & Sicard, C. (2011b). Micro-algal biosensors. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 401(2), 581-597. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5107-z>
10. Carrilho, E.N.V., Nóbrega, J.A., & Gilbert, T.R. (2003). The use of silica-immobilized brown alga (*Pilayella littoralis*) for metal preconcentration and determination by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Talanta*, 60(6), 1131-1140. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2007.09.001>
11. Chen, J., Ren, Y., Seow, J., Liu, T., Bang, W., & Yuk, H. (2012). Intervention technologies for ensuring microbiological safety of meat: current and future trends. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(2), 119-132. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2014.12.009>
12. Chouteau, C., Dzyadevych, S., Chovelon, J.-M., & Durrieu, C. (2004). Development of novel conductometric biosensors based on immobilised whole cell *Chlorella vulgaris* microalgae. *Biosensors and Bioelectronics*, 19(9), 1089-1096. <https://doi.org/10.3390/md9112164>
13. Coste, M., Boutry, S., Tison-Rosebery, J., & Delmas, F. (2009). Improvements of the Biological Diatom Index (BDI): Description and efficiency of the new version (BDI-2006). *Ecological Indicators*, 9(4), 621-650. <https://doi.org/10.1126/science.1099128>
14. De, P., & Mazumder, N. (2022a). Diatoms as sensors and their applications. In *Diatom Microscopy* (pp. 251-281). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.104>
15. De, P., & Mazumder, N. (2022b). Diatoms as sensors and their applications. *Diatom Microscopy*, 251-281. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2015.10.015>
16. De Stefano, L., Rendina, I., De Stefano, M., Bismuto, A., & Maddalena, P. (2005a). Marine diatoms as optical chemical sensors. *Applied Physics Letters*, 87(23). <https://doi.org/10.1111/pbi.12638>
17. De Stefano, L., Rendina, I., De Stefano, M., Bismuto, A., & Maddalena, P. (2005b). Marine diatoms as optical chemical sensors. *Applied Physics Letters*, 87(23), 233902. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01693>
18. Durrieu, C., Badreddine, I., & Daix, C. (2003). A dialysis system with phytoplankton for monitoring chemical pollution in freshwater ecosystems by alkaline phosphatase assay. *Journal of Applied Phycology*, 15, 289-295. <https://doi.org/10.1021/np500106w>
19. Durrieu, C., & Tran-Minh, C. (2002). Optical algal biosensor using alkaline phosphatase for determination of heavy metals. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 51(3), 206-209. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2010.12.002>
20. Ejeian, F., Etedali, P., Mansouri-Tehrani, H.-A., Soozanipour, A., Low, Z.-X., Asadnia, M., & Razmjou, A. (2018). Biosensors for wastewater monitoring: A review. *Biosensors and Bioelectronics*, 118, 66-79. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.07.019>
21. Giardi, M.T., & Pace, E. (2005). Photosynthetic proteins for technological applications. *TRENDS in Biotechnology*, 23(5), 257-263. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2012.07.026>
22. Giere, O. (2008). *Meiobenthology: the microscopic motile fauna of aquatic sediments*: Springer Science & Business Media. <https://doi.org/10.3390/toxins11110624>
23. Guedri, H., & Durrieu, C. (2008). A self-assembled monolayers based conductometric algal whole cell biosensor for water monitoring. *Microchimica Acta*, 163, 179-184. <https://doi.org/10.1186/s40529-017-0211-9>
24. Halonen, N., Pálvölgyi, P.S., Bassani, A., Fiorentini, C., Nair, R., Spigno, G., & Kordas, K. (2020). Bio-based smart materials for food packaging and sensors – A Review. *Frontiers in Materials*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmats.2020.00082>
25. Hemavathi, A., & Siddaramaiah, H. (2018). *Food packaging: polimers as packaging materials in food supply chains*. Encyclopedia of polymer applications. CRC Press Boca Raton, 1374-1397. <https://doi.org/10.1080/03650340.2010.499902>
26. Ladero, V., Calles-Enríquez, M., Fernández, M., & A Alvarez, M. (2010). Toxicological effects of dietary biogenic amines. *Current Nutrition & Food Science*, 6(2), 145-156. <https://doi.org/10.3390/md11103689>
27. Lin, K.-C., Kunduru, V., Bothara, M., Rege, K., Prasad, S., & Ramakrishna, B. (2010). Biogenic nanoporous silica-based sensor for enhanced electrochemical detection of cardiovascular biomarkers proteins. *Biosensors and Bioelectronics*, 25(10), 2336-2342. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9734-x>
28. Liu, Q., & Wang, P. (2009). *Cell-based biosensors: principles and applications*: Artech House. <https://doi.org/10.1016/j.jpiph.2010.09.013>
29. Mallick, N. (2002). Biotechnological potential of immobilized algae for wastewater N, P and metal removal: a review. *Biometals*, 15, 377-390. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1535-y>

30. Mazumder, N., & Gordon, R. (2022). *Diatom Microscopy*: John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.3109/10408410902823705>
31. Monique, E. (2015). Volatile amines as criteria for chemical quality assessment. In. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6223-2>
32. Moreno-Garrido, I. (2008). Microalgae immobilization: current techniques and uses. *Bioresource Technology*, 99(10), 3949-3964. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(98\)00114-7](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(98)00114-7)
33. Nassif, N., & Livage, J. (2011). From diatoms to silica-based biohybrids. *Chemical Society Reviews*, 40(2), 849-859. <https://doi.org/10.1006/abio.1995.1106>
34. Okuma, H., Okazaki, W., Usami, R., & Horikoshi, K. (2000). Development of the enzyme reactor system with an amperometric detection and application to estimation of the incipient stage of spoilage of chicken. *Analytica Chimica Acta*, 411(1-2), 37-43. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.107>
35. Park, Y.W., Kim, S.M., Lee, J.Y., & Jang, W. (2015). Application of biosensors in smart packaging. *Molecular & Cellular Toxicology*, 11, 277-285. <https://doi.org/10.1007/BF01874863>
36. Pavelková, A. (2013). Time temperature indicators as devices intelligent packaging. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 61(1), 245-251. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2006.11.001>
37. Peña-Vázquez, E., Pérez-Conde, C., Costas, E., & Moreno-Bondi, M. (2010). Development of a microalgal PAM test method for Cu (II) in waters: comparison of using spectrofluorometry. *Ecotoxicology*, 19, 1059-1065. <https://doi.org/10.4489/MYCO.2006.34.3.138>
38. Pospíšil, P. (2009). Production of reactive oxygen species by photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1787(10), 1151-1160. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2009.05.005>
39. Poyatos-Racionero, E., Ros-Lis, J.V., Vivancos, J.-L., & Martínez-Mañez, R. (2018). Recent advances on intelligent packaging as tools to reduce food waste. *Journal of Cleaner Production*, 172, 3398-3409. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.11.075>
40. Punakivi, K., Smolander, M., Niku-Paavola, M.-L., Mattinen, J., & Buchert, J. (2006). Enzymatic determination of biogenic amines with transglutaminase. *Talanta*, 68(3), 1040-1045. <https://doi.org/10.4489/MYCO.2008.36.4.242>
41. Purohit, B., Vernekar, P. R., Shetti, N. P., & Chandra, P. (2020). Biosensor nanoengineering: Design, operation, and implementation for biomolecular analysis. *Sensors International*, 1, 100040. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.04.004>
42. Rahman, M.A., Soumya, K., Tripathi, A., Sundaram, S., Singh, S., & Gupta, A. (2011). Evaluation and sensitivity of cyanobacteria, *Nostoc muscorum* and *Synechococcus* PCC 7942 for heavy metals stress—a step toward biosensor. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 93(10), 1982-1990. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.04.037>
43. Rathnayake, I., Munagamage, T., Pathirathne, A., & Megharaj, M. (2021). Whole cell microalgal-cyanobacterial array biosensor for monitoring Cd, Cr and Zn in aquatic systems. *Water Science and Technology*, 84(7), 1579-1593. <https://doi.org/10.1139/W08-034>
44. Reynolds, C.S. (2006). *The ecology of phytoplankton*: Cambridge University Press. <https://doi.org/10.30493/DAS.2020.246624>
45. Roberta, B., Alain, C., Jacques, L., Catherine, P., & Clemence, S. (2011). Micro-algal biosensors. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 401(2), 581-598. <https://doi.org/10.30493/DAS.2020.246624>
46. Rodriguez Jr, M., Sanders, C. A., & Greenbaum, E. (2002). Biosensors for rapid monitoring of primary-source drinking water using naturally occurring photosynthesis. *Biosensors and Bioelectronics*, 17(10), 843-849. <https://doi.org/10.1111/jpy.120>
47. Sandhage, K. H., Allan, S. M., Dickerson, M. B., Gaddis, C. S., Shian, S., Weatherspoon, M. R., & Snyder, R. L. (2005). Merging biological self-assembly with synthetic chemical tailoring: The Potential for 3-D Genetically Engineered Micro/Nano-Devices (3-D GEMS). *International Journal of Applied Ceramic Technology*, 2(4), 317-326. <https://doi.org/10.1007/s10295-010-0833-3>
48. Saraswati, P.K., & Srinivasan, M. (2015). *Micropaleontology: Principles and applications*: Springer. <https://doi.org/10.3923/ajps.2003.944.951>
49. Shao, C., Howe, C., Porter, A.J.R., & Glover, L. (2002). Novel cyanobacterial biosensor for detection of herbicides. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(10), 5026-5033. <https://doi.org/10.1007/s10265-006-0057-9>
50. Shitanda, I., Takada, K., Sakai, Y., & Tatsuma, T. (2005). Compact amperometric algal biosensors for the evaluation of water toxicity. *Analytica Chimica Acta*, 530(2), 191-197. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.04.007>
51. Sobhan, A., Muthukumarappan, K., & Wei, L. (2021). Biosensors and biopolymer-based nanocomposites for smart food packaging: Challenges and opportunities. *Food Packaging and Shelf Life*, 30, 100745. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100745>

52. Tajés-Martínez, P., Beceiro-González, E., Muniategui-Lorenzo, S., & Prada-Rodríguez, D. (2006). Micro-columns packed with *Chlorella vulgaris* immobilised on silica gel for mercury speciation. *Talanta*, 68(5), 1489-1496. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2013.04.001>.
53. Védrine, C., Leclerc, J.-C., Durrieu, C., & Tran-Minh, C. (2003). Optical whole-cell biosensor using *Chlorella vulgaris* designed for monitoring herbicides. *Biosensors and Bioelectronics*, 18(4), 457-463. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a084742>.
54. Verma, N., Kaur, H., & Kumar, S. (2011). Whole cell based electrochemical biosensor for monitoring lead ions in milk. *Biotechnology*, 10(3), 259-266. <https://doi.org/10.3390/app11020871>
55. Wadhwa, T., Kakkar, D., Wadhwa, G., & Raj, B. (2019). Recent advances and progress in development of the field effect transistor biosensor: A review. *Journal of Electronic Materials*, 48, 7635-7646. <https://doi.org/10.1007/s11099-017-0716-1>
56. Yam, K.L., Takhistov, P.T., & Miltz, J. (2005). Intelligent packaging: concepts and applications. *Journal of Food Science*, 70(1), R1-R10. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2653-6>
57. Zamaleeva, A.I., Sharipova, I.R., Shamagsumova, R.V., Ivanov, A.N., Evtugyn, G.A., Ishmuchametova, D.G., & Fakhrullin, R.F. (2011). A whole-cell amperometric herbicide biosensor based on magnetically functionalised microalgae and screen-printed electrodes. *Analytical Methods*, 3(3), 509-513. <https://doi.org/10.1016/j.fob.2011.10.004>

Contents

Evaluation of the Effect of Chitosan/Pectin Multi Layer Edible Coating Containing Microencapsulated Cinnamon or Thyme Essential Oils on Increasing the Postharvest Shelf Life of Cucumber	1
Sh. Nikkhah, F. Shahidi, M. Mohebbi, F. Tabatabayi Yazdi	
The Effect of Production Method and Simultaneous Use of Whey Protein Concentrate and Transglutaminase Enzyme on Rheological Characteristics and Microstructure of Doogh	19
M. Hadian, M. Mazaheri Tehrani, M. Ghods Rohani	
Ethanollic Extract of <i>Prosopis farcta</i> Root: Determination of Total Phenols and Flavonoids, Radical Scavenging Ability and Its Antimicrobial Effect on Some Bacteria Causing Infection and Food Poisoning	35
B. Alizadeh Behbahani, M. Rahmati-Joneidabad, M. Noshad	
Evaluation of the Quantitative and Qualitative Characteristics of Gluten-free Chicken Nuggets Containing Quinoa Flour and Hydroxypropyl Methyl Cellulose (HPMC)	47
Gh. Shekari, E. Milani, E. Azarpazhooh	
Evaluation of Bubbling Process in Reducing Ultrafiltration Membrane Fouling and Its Efficiency During Refining of Raw Beet Juice	63
M. Soleymani, V. Hakimzadeh, M. Shahidi Noghabi, A. Arianfar	
Evaluation of Chemical and Sensory Properties of Low-fat German Sausages Produced by Maltodextrin	75
M. Khosravani, S.M. Nazari, GH. Asadi	
Heat Transfer Modeling of Malt Syrup in Semi-rigid Aluminum Based Packaging	85
S. Hamidi, N. Zamindar, N. Gholipour Shahraki	
Effect of Using Astaxanthin from <i>Haematococcus pluvialis</i> as Free Form and as a Carrier Nanocapsules in Formulation of Tomato Paste and Evaluating Microbial and Qualitative Characteristics of the Product During Storage at Refrigerator	101
S. Reyhani Poul, S. Yeganeh, Z. Raftani Amiri	
Assessment of Cadmium, Lead and Nickel Removal Capacity of Lactic Acid Bacteria from Aqueous Solutions and Fresh Edible Vegetables	119
M. Mostafidi, M.R. Sanjabi, N. Mojjani, S. Eskandari, S. Arbabi Bidgoli	
Production and Evaluation of Caffeine Nanochitosome and Instant Drink Powder Enriched with It	135
R. Shaddel, Sh. Rajabi-Moghaddam	
Comparison of the Effect of Adding <i>Spirulina platensis</i> Powder on Sensory, Physical, Protein and Iron Properties of Three Different Industrial Products of Bread, Cake and Layered Sweets	153
Y. Moradi, M. Ghaeni, H. Hadaegh	
A Review of the Use of Microscopic Algae as Biological Sensors for Identifying Environmental Pollutants and Smart Packaging of Food Materials	165
B. Nowruzi	

Iranian Food Science and Technology Research Journal

Vol. 20

No. 1

2024

Published by:	Ferdowsi University of Mashhad, (College of Agriculture), Iran
Executive Manager:	N. Shahnoushi, Department of Agricultural Economics, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
Editor-in-Chief:	M. Yavarmanesh, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
Editorial Board:	
Mortazavi, Seyed A.	Professor, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
Shahidi, F.	Professor, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
Habibi najafi, M.	Professor, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
Razavi, Seyed M. A.	Professor, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
Kashaninejad, M.	Professor, Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences & Natural Resources University of Gorgan, Gorgan, Iran
Khomeiri, M.	Professor, Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences & Natural Resources University of Gorgan, Gorgan, Iran
Farhoosh, R.	Professor, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
Fazli Bazzaz, S.	Professor, Department of Pharmaceutical Chemistry, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
Koocheki, A.	Professor, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
Mohebbi, M.	Professor, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
Ghanbarzadeh, B.	Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tabriz University, Tabriz, Iran
Alemzadeh, I.	Professor, Department of Food Chemical Engineering, Faculty of Chemical and Petroleum Engineering, Sharif University of Technology, Tehran, Iran
Rajabzadeh, GH.	Associate Professor, Department of Food Nanotechnology, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran
Heydarpour, M.	Associate Professor, Brigham and Women's Hospital, Boston, Massachusetts. United States America
Ghoddusi, H. B.	Associate Professor, School of Human Sciences, London Metropolitan University, England
Khosravidarani, K.	Professor, Department of Food Industry, School of Nutrition Sciences & Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Abbaszadegan, M.	Professor, Director Water & Environmental Technology Center, Arizona State University, United States of America
Mohammadifar, M. A.	Associate Professor, Research Group for Food Production Engineering, Technical University of Denmark, Denmark
Vosoughi, M.	Professor, Department of Food Chemical Engineering, Faculty of Chemical and Petroleum Engineering, Sharif University of Technology, Tehran, Iran
Almasi, H.	Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Urmia University, Urmia , Iran
Fathi, M.	Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Isfahan University of Technology Isfahan, Iran
Abbasi, S.	Professor, Department of Food Science and Technology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
Borges, N.	Professor, Faculty of Nutrition and Food Sciences, University of Porto; Portugal
Moazzami, Ali A.	Doctor of Philosophy, Department of Molecular Sciences, Swedish University, Sweden
Dr. Nkemnaso Obi C.	Department of Microbiology, Michael Okpara University of Agriculture, Umudike, Abia State, Nigeria
Dr. Olalekan Adeyeye S.A.	Department of Food Technology, Hindustan Institute of Technology and Science, Chennai, Tamil Nadu, India
Publisher	Ferdowsi University of Mashhad
Address:	College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
P.O.BOX:	91775- 1163
Fax:	(98)051-38787430
E-Mail:	ifstrj@um.ac.ir
Web Site:	https://ifstrj.um.ac.ir



Ferdowsi University
of Mashhad

Iranian Food Science and Technology Research Journal



Vol.20

No.1

2024

ISSN:1735-4161

Contents

Evaluation of the Effect of Chitosan/Pectin Multi Layer Edible Coating Containing Microencapsulated Cinnamon or Thyme Essential Oils on Increasing the Postharvest Shelf Life of Cucumber.....	1
Sh. Nikkhah, F. Shahidi, M. Mohebbi, F. Tabatabayi Yazdi	
The Effect of Production Method and Simultaneous Use of Whey Protein Concentrate and Transglutaminase Enzyme on Rheological Characteristics and Microstructure of Doogh	19
M. Hadian, M. Mazaheri Tehrani, M. Ghods Rohani	
Ethanollic Extract of <i>Prosopis farcta</i> Root: Determination of Total Phenols and Flavonoids, Radical Scavenging Ability and Its Antimicrobial Effect on Some Bacteria Causing Infection and Food Poisoning	35
B. Alizadeh Behbahani, M. Rahmati-Joneidabad, M. Noshad	
Evaluation of the Quantitative and Qualitative Characteristics of Gluten-free Chicken Nuggets Containing Quinoa Flour and Hydroxypropyl Methyl Cellulose (HPMC).....	47
Gh. Shekari, E. Milani, E. Azarpazhooh	
Evaluation of Bubbling Process in Reducing Ultrafiltration Membrane Fouling and Its Efficiency During Refining of Raw Beet Juice	63
M. Soleymani, V. Hakimzadeh, M. Shahidi Noghabi, A. Arianfar	
Evaluation of Chemical and Sensory Properties of Low-fat German Sausages Produced by Maltodextrin	75
M. Khosravani, S.M. Nazari, GH. Asadi	
Heat Transfer Modeling of Malt Syrup in Semi-rigid Aluminum Based Packaging	85
S. Hamidi, N. Zamindar, N. Gholipour Shahraki	
Effect of Using Astaxanthin from <i>Haematococcus pluvialis</i> as Free Form and as a Carrier Nanocapsules in Formulation of Tomato Paste and Evaluating Microbial and Qualitative Characteristics of the Product During Storage at Refrigerator.....	101
S. Reyhani Poul, S. Yeganeh, Z. Raftani Amiri	
Assessment of Cadmium, Lead and Nickel Removal Capacity of Lactic Acid Bacteria from Aqueous Solutions and Fresh Edible Vegetables.....	119
M. Mostafidi, M.R. Sanjabi, N. Mojjani, S. Eskandari, S. Arbabi Bidgoli	
Production and Evaluation of Caffeine Nanochitosome and Instant Drink Powder Enriched with It	135
R. Shaddel, Sh. Rajabi-Moghaddam	

Continue Content in cover