



# نشریه علمی پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران



جلد ۲۱ شماره ۵  
سال ۱۴۰۴

شاپا: ۱۷۳۵-۴۱۶۱

شماره پیاپی ۹۵

## عنوان مقالات

### مقالات پژوهشی

۴۷۹ ..... بررسی اثر نوع سورفاکتانت در تولید اولئوژل بر پایه‌ی روغن بادام‌زمینی برای کاربرد در کیک کره‌ای ..... سیدمحمد نجیبی حسینی - بابک قنبرزاده

۴۹۹ ..... بررسی تأثیر تیمار پس از برداشت با آب و مواد ضد عفونی فعال شده با پلاسما ی سرد بر برخی خواص فیزیکوشیمیایی پرتقال ..... سیده فاطمه حسینی - سید جعفر هاشمی - آزاده رنجبر ندامانی - فرشاد صحبت زاده

۵۱۳ ..... سنتز سبز نانوذرات اکسید روی با استفاده از عصاره برهموم و استفاده از آن در تهیه فیلم زیست تخریب پذیر فعال بر پایه ایزوله پروتئین آب پنیر ..... بهنوش ایمانی - هادی الماسی - میرخلیل پیروزی فرد - هیمن نوربخش

۵۳۱ ..... مطالعه برهم کنش بین رنگدانه سیانیدین-۳-گلیکوزید و ایزوله پروتئین نخود خلر (*Lathyrus sativus L.*) در شرایط اسیدی با استفاده از روش فرونشانی فلئورسانس ..... سید حسین رضوی زادگان جهرمی - رضا فرهوش

۵۵۱ ..... بررسی ویژگی‌های کیفی و تغییرات آنتی‌اکسیدانی قارچ دکمه‌ای پوشش داده شده با صمغ عربی، نشاسته و اسید آسکوربیک در طول نگهداری سرد ..... فاطمه آمیغی - فاطمه حیدری دلفارد - عارفه صادقی

### مقالات کوتاه

۵۷۱ ..... بررسی روش‌های کنترل و کاهش آلودگی باکتری‌های بیماری‌زای شاخص در لاشه مرغ در فرآیند کشتار طیور ..... امیر شفیعی دستگردی - حمدالله مشتاقی - مجتبی بنیادیان

# 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."

آذر - دی ۱۴۰۴

شماره ۵

جلد ۲۱

صاحب امتیاز: دانشگاه فردوسی مشهد

مدیر مسئول: دکتر ناصر شهنوشی

سر دبیر: دکتر مسعود باورمنش

اعضای هیئت تحریریه:

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

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

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

ناشر: دانشگاه فردوسی مشهد

این نشریه در پایگاه‌های زیر نمایه شده است:

AGRIS, Scopus, 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 (MAGIRAN), 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 اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

## مندرجات

### مقالات پژوهشی

- ۴۷۹ بررسی اثر نوع سورفاکتانت در تولید اولئوژل بر پایه‌ی روغن بادام‌زمینی برای کاربرد در کیک کره‌ای  
سیدمحمد نجیبی حسینی - بابک قنبرزاده
- ۴۹۹ بررسی تأثیر تیمار پس از برداشت با آب و مواد ضد عفونی فعال شده با پلاسمای سرد بر برخی خواص فیزیکوشیمیایی پرتقال  
سیده فاطمه حسینی - سید جعفر هاشمی - آزاده رنجبر ندامانی - فرشاد صحبت زاده
- ۵۱۳ سنتز سبز نانوذرات اکسید روی با استفاده از عصاره برهموم و استفاده از آن در تهیه فیلم زیست تخریب پذیر فعال بر پایه ایزوله پروتئین  
آب پنیر  
بهنوش ایمانی - هادی الماسی - میرخلیل پیروزی فرد - هیمن نوربخش
- ۵۳۱ مطالعه برهم کنش بین رنگدانه سیانیدین-۳-گلیکوزید و ایزوله پروتئین نخود خلر (*Lathyrus sativus* L.) در شرایط اسیدی با  
استفاده از روش فرونشانی فلئورسانس  
سید حسین رضوی زادگان جهرمی - رضا فرهوش
- ۵۵۱ بررسی ویژگی‌های کیفی و تغییرات آنتی‌اکسیدانی قارچ دکمه‌ای پوشش داده شده با صمغ عربی، نشاسته و اسید آسکوربیک در طول  
نگهداری سرد  
فاطمه آمیغی - فاطمه حیدری دلفارد - عارفه صادقی

### مقالات کوتاه

- ۵۷۱ بررسی روش‌های کنترل و کاهش آلودگی باکتری‌های بیماری‌زای شاخص در لاشه مرغ در فرآیند کشتار طیور  
امیر شفیعی دستگردی - حمدالله مشتاقی - مجتبی بنیادیان



## Effect of Surfactant Type on the Properties of Peanut Oil-based Oleogels and Their Functionality in Butter Cake

S.M. Najibi Hosseini<sup>1</sup>, B. Ghanbarzadeh<sup>1\*</sup>

1- Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran  
(\*- Corresponding Author Email: [ghanbarzadeh@tabrizu.ac.ir](mailto:ghanbarzadeh@tabrizu.ac.ir))

Received: 03.06.2025  
Revised: 18.07.2025  
Accepted: 21.07.2025  
Available Online: 16.11.2025

### How to cite this article:

Najibi Hosseini, S.M., & Ghanbarzadeh, B. (2025). Effect of surfactant type on the properties of peanut oil-based oleogels and their functionality in butter cake. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 21(5), 477-496. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/ifstrj.2025.93859.1442>

### Introduction

Growing public awareness regarding the link between diet and chronic diseases is driving a significant demand for healthier food formulations. The high content of saturated and trans fatty acids in many bakery products is a major cause of cardiovascular disease, type 2 diabetes, and obesity. Consequently, the World Health Organization (WHO) recommends replacing fats like butter and shortening with vegetable oils rich in unsaturated fatty acids. This presents a major challenge for the food industry, as solid fats play a key role in creating desirable sensory properties like texture and mouthfeel, and their direct replacement with liquid oils leads to a significant decline in product quality. Oleogels, formed by creating a three-dimensional network of oleogelators within vegetable oils, have been proposed as a structured alternative to solid fats. Numerous studies have successfully demonstrated the potential of oleogels as fat replacers in various bakery products. For instance, beeswax-based oleogels have been shown to improve the nutritional profile of cakes without compromising quality attributes. However, most research has focused on wax-based oleogels. There is a scarcity of studies that systematically investigate and compare the performance of low-HLB emulsifiers (such as monoglyceride, polyglycerol ester, and Span 60) used alone for the complete replacement of butter in a cake formulation. Furthermore, butter has technological limitations, including a poor ability to trap and stabilize air bubbles, which can affect cake volume and texture. Therefore, this study aimed to investigate oleogels using monoglyceride, polyglycerol ester, and Span 60 emulsifiers in cold-pressed peanut oil (an oil chosen for its excellent nutritional profile) and evaluate their potential as a functional and healthy butter replacement in butter cake.

### Materials and Methods

In this research, peanut oil was first extracted using a cold-press machine. Oleogels were then prepared by adding 12% (w/w) of monoglyceride (MG), polyglycerol ester (PG), and Span 60 (SG) to the oil, followed by placing it in a 75°C water bath. The physicochemical properties of the oleogels including crystal morphology (light microscopy), oil holding capacity (OHC) via centrifugation, thermal behavior (Differential Scanning Calorimetry - DSC), firmness (back extrusion test), molecular structure (Fourier Transform Infrared Spectroscopy - FTIR), and oxidative stability (peroxide value) were evaluated. Finally, butter cakes were prepared with complete replacement of butter by the selected oleogels (MG and PG). The cakes were then analyzed for firmness and sensory evaluation (color, taste, texture, and overall acceptability).

### Results and Discussion

The type of oleogelator significantly impacted the oleogel properties, an effect dictated by the underlying crystal microstructure. Microscopic images revealed that the MG formed a dense, uniform network with fine, needle-like crystals. In contrast, PG also formed needle-like crystals, but they were larger and less dense, while SG created a weak network containing large, rosette-like crystals and significant spaces. This structural difference was directly reflected in the macroscopic properties. The dense network of MG was highly effective at trapping oil, resulting in the highest Oil Holding Capacity (100%) and the greatest firmness. Conversely, the sparse network



Authors retain the copyright. 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/).

<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2025.93859.1442>

of SG resulted in poor oil retention and minimal firmness, demonstrating a clear structure-function relationship. Thermal analysis by DSC further supported these findings. MG showed the highest thermal stability, evidenced by its high melting enthalpy, which corresponds to the energy required to disrupt its well-ordered crystalline network. FTIR analysis confirmed that the network was stabilized by non-covalent interactions, such as hydrogen bonds and van der Waals forces. Furthermore, the oleogels demonstrated improved oxidative stability. The strong physical barrier provided by MG and PG networks showed that the rate of peroxide value increased over 30 days compared to pure oil. In the cake evaluation, samples formulated with MG and PG had significantly softer texture than the control cake made with butter. This is attributed to the enhanced air-holding capacity of the firmer oleogels and the inherent emulsifying properties of the gelators. Crucially, the sensory analysis revealed that the cakes containing oleogel scored higher texture and taste value, and their overall acceptability score was equal to or even higher than that the control sample.

## Conclusion

The findings demonstrated that the oleogelator type dictated the physicochemical and structural properties of oleogels. The monoglyceride-based oleogel exhibited superior performance, showing the highest oil holding capacity, thermal stability, and firmness, followed by the polyglycerol ester-based oleogel. Microstructural analysis confirmed that these properties were linked to the crystal morphology. FTIR analysis verified that gelation was driven by non-covalent interactions. Most importantly, when monoglyceride and polyglycerol ester oleogels used as a complete butter substitute in butter cakes, produced cakes with a softer texture and received overall acceptability scores equal to or higher than the control. Therefore, this study confirms the high potential of monoglyceride and polyglycerol ester-based oleogels to develop healthier bakery products. Despite promising results, the study had limitations, including the use of a single oil type and one oleogelator concentration. Textural and sensory analyses could also be more comprehensive. Further research need to focus on evaluating these oleogels in other bakery products, investigating long-term stability, and optimizing the production process.

**Keywords:** Oleogel, Monoglyceride, Peanut oil, Polyglycerol ester, Span 60

## بررسی اثر نوع سورفاکتانت در تولید اولئوژل بر پایه‌ی روغن بادام‌زمینی برای کاربرد در کیک کره‌ای

سیدمحمد نجیبی حسینی<sup>۱</sup> - بابک قنبرزاده<sup>۱\*</sup> 

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۴/۳۰

### چکیده

چربی‌ها، با وجود نقش مهم در ایجاد بافت و طعم مطلوب در فرآورده‌های نانوائی، به دلیل محتوای بالای اسیدهای چرب اشباع و ترانس، یک نگرانی عمده برای سلامتی مصرف‌کنندگان محسوب می‌شوند. در این راستا، اولئوژل‌ها به عنوان یک راه‌حل نوین برای ارائه‌ی جایگزین‌های چربی سالم مورد توجه قرار گرفته‌اند. این مطالعه با هدف تولید و ارزیابی اولئوژل‌های روغن بادام‌زمینی پرس سرد و کاربرد آن‌ها در کیک کره‌ای انجام شد. ابتدا، روغن بادام‌زمینی پرس سرد تهیه شد و سپس با افزودن ۱۲ درصد از امولسیفایرهای مونوگلیسرید، پلی‌گلیسرول‌استر و اسپن ۶۰، اولئوژل‌ها به دست آمدند. بررسی‌های طیف‌سنجی مادون قرمز یک کاهش شدت باند موجود در بازه‌ی  $3110$  تا  $3674$   $\text{cm}^{-1}$  را که مربوط به پیوند هیدروژنی بود، نشان دادند. به علاوه، باندهای  $2850$   $\text{cm}^{-1}$  و  $2919$   $\text{cm}^{-1}$  در اولئوژل‌تورها به  $2855$   $\text{cm}^{-1}$  و  $2925$   $\text{cm}^{-1}$  در اولئوژل‌ها منتقل شدند که به وجود برهم‌کنش‌های واندروالسی نسبت داده شد. تصاویر میکروسکوپ نوری نیز حاکی از این بود که کریستال‌های اولئوژل‌های مونوگلیسرید و پلی‌گلیسرول‌استر سوزنی‌شکل و کریستال‌های اسپن ۶۰ شعاعی کم‌تراکم (رزت‌مانند) بودند. ظرفیت نگهداری روغن برای اولئوژل بر پایه‌ی مونوگلیسرید ۱۰۰ درصد بود و اولئوژل‌های بر پایه‌ی پلی‌گلیسرول‌استر (۹۷/۹۸ درصد) و اسپن ۶۰ (۷۳/۴۸ درصد) در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. همچنین، اولئوژل‌ها در مقایسه با روغن خالص، افزایش آهسته‌تری در عدد پراکسید در طی ۳۰ روز، از خود نشان دادند. با مقایسه‌ی دمای پیک و آنتالپی ذوب، اولئوژل بر پایه‌ی مونوگلیسرید (با دمای پیک ذوب  $57/62$  °C و آنتالپی  $1$  ج.  $-368$ )، بالاترین پایداری حرارتی را به نمایش گذاشت و همچنین در آزمون اکستروژن معکوس، سفت‌ترین نمونه شناخته شد. در نهایت، کیک‌های کره‌ای تولیدشده با این اولئوژل‌ها بافت نرم‌تر و امتیاز پذیرش کلی برابر یا حتی بالاتری نسبت به نمونه‌ی شاهد داشتند. این نتایج به وضوح نشان می‌دهد که اولئوژل‌های بر پایه‌ی مونوگلیسرید و پلی‌گلیسرول‌استر پتانسیل بالایی برای جایگزینی کامل کره در فرمولاسیون کیک‌های کره‌ای دارند.

**واژه‌های کلیدی:** اسپن ۶۰، اولئوژل، پلی‌گلیسرول‌استر، روغن بادام‌زمینی، مونوگلیسرید

### مقدمه

امروزه با افزایش آگاهی عمومی نسبت به ارتباط میان رژیم غذایی و بیماری‌های مزمن، تقاضا برای غذاهای سالم‌تر به‌طور چشمگیری در حال افزایش است (Lee, 2018). چربی‌های حاوی اسیدهای چرب اشباع و ترانس یکی از اجزای ناسالم فرمولاسیون برخی محصولات غذایی هستند و مصرف زیاد آن‌ها، به عنوان یکی از دلایل اصلی بیماری‌های قلبی-عروقی، دیابت نوع دو، چاقی و اختلالات متابولیکی

شناخته می‌شود (Silva, Ferdaus, Foguel, & da Silva, 2023).

در همین راستا، سازمان بهداشت جهانی<sup>۲</sup> (WHO) توصیه می‌کند که مصرف اسیدهای چرب اشباع به کمتر از ۱۰ درصد کل انرژی دریافتی روزانه محدود شود و چربی‌هایی مانند کره و شوربتینگ با روغن‌های گیاهی سرشار از اسیدهای چرب غیر اشباع جایگزین گردند (Su et al., 2023). علی‌رغم توصیه‌های بهداشتی، چربی‌ها نقش کلیدی و غیر

۱- گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران  
\* - نویسنده‌ی مسئول: (Email: [ghanbarzadeh@tabrizu.ac.ir](mailto:ghanbarzadeh@tabrizu.ac.ir))

موفقیت نشان داده‌اند؛ مطالعه‌ی آمواه و همکاران (Amoah, Lim, Jeong, & Lee, 2017) ثابت کرد که کیک فرموله‌شده با اولئوژل‌های بر پایه‌ی موم زنبور عسل در مقایسه با شورتینگ، ضمن حفظ ویژگی‌های کیفی، پروفایل تغذیه‌ای آن را بهبود می‌دهد. در مطالعه‌ی دیگری مالوانو و همکاران (Malvano, Laudisio, Albanese, d'Amore, & Marra, 2022) با جایگزینی کامل کره در کیک اسفنجی توسط یک مخلوط بهینه شامل اولئوژل موم زنبور عسل (۷۷ درصد)، امولسیفایر (۷ درصد) و پروتئین آب پنیر (۱۶ درصد)، محصولی با بافت مطلوب‌تر (نرم و مرطوب) تولید کردند. همچنین گیاکوموزی و همکاران (Giacomozzi, Carrín, & Palla, 2023) با تمرکز بر آزمون ارزیابی حسی برای مافین‌های تهیه‌شده از اولئوژل‌های بر پایه‌ی مونوگلیسرید، گزارش دادند که جایگزینی کامل مارگارین با اولئوژل منجر به محصولی با پروفایل تغذیه‌ای سالم‌تر و ویژگی‌های حسی مشابه یا حتی بهتر می‌شود.

باین‌حال اغلب پژوهش‌ها بر استفاده از اولئوژلاتورهایی مانند موم‌ها متمرکز بوده‌اند و مطالعات اندکی به بررسی و مقایسه‌ی عملکرد امولسیفایرهایی مانند مونوگلیسرید، پلی‌گلیسرول استر و اسپن ۶۰ به تنهایی، به‌عنوان جایگزین کامل کره در کیک پرداخته‌اند. از سوی دیگر علاوه بر چالش سلامتی، کره از لحاظ تکنولوژیکی نیز دارای محدودیت است؛ به‌طوری‌که توانایی پایینی در به‌دام‌انداختن و پایداری حباب‌های هوا دارد و ممکن است در تولید کیک کره‌ای برای ارائه‌ی کیفیت مطلوب از نظر حجم و بافت، به اضافه کردن امولسیفایر نیاز داشته باشد (Pancharoen, Leelawat, & Vattanukul, 2019). بنابراین هدف از این پژوهش بررسی پتانسیل اولئوژل‌های بر پایه‌ی امولسیفایر، به‌عنوان جایگزینی سالم‌تر و با خواص تکنولوژیکی برتر برای کره در فرمولاسیون کیک کره‌ای بود. به‌این‌ترتیب ابتدا با استفاده از مونوگلیسرید، پلی‌گلیسرول استر و اسپن ۶۰ در روغن بادام‌زمینی پرس سرد، اولئوژل‌ها تولید شده و سپس، مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفتند. در مرحله‌ی بعد اولئوژل‌های منتخب به‌عنوان جایگزین کامل کره در فرمولاسیون کیک کره‌ای استفاده شده و فرآورده‌های نهایی مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

### مواد مورد استفاده

مونوگلیسرید، پلی‌گلیسرول استر، اسپن ۶۰، پتاسیم یدید و نشاسته از شرکت مرک (آلمان) و کلروفرم، تیوسولفات آمونیوم و اسید استیک

قابل انکاری در ایجاد خواص حسی<sup>۱</sup> مطلوب مانند بافت، طعم و احساس دهانی در بسیاری از محصولات غذایی، ایفا می‌کنند (Badem & Baştürk, 2023) و استفاده‌ی مستقیم از روغن‌های گیاهی در فرمولاسیون محصولات غذایی، موجب افت کیفیت محصول نهایی می‌شود (Su et al., 2023).

برای حل این مشکلات، در سال‌های اخیر، سیستم‌های جامد لپیدی بر پایه‌ی روغن‌های گیاهی به‌منظور استفاده در محصولات غذایی مطرح شده‌اند (Jang, Bae, Hwang, Lee, & Lee, 2015). این سیستم‌ها که اولئوژل نامیده می‌شوند، با تشکیل شبکه‌ی سه‌بعدی توسط اولئوژلاتورها در روغن‌های گیاهی به‌دست می‌آیند (Demirkesen & Mert, 2020). اولئوژل‌ها، با ارائه‌ی خواص رئولوژیکی و فیزیکی مشابه با چربی‌ها به‌عنوان جایگزین ایده‌آل آن‌ها عمل می‌کنند. اولئوژلاتورها را می‌توان به دو دسته‌ی با وزن مولکولی پایین (موم، اسیدهای چرب، فیتوسترول و الکل‌های چرب) و با وزن مولکولی بالا (پروتئین و پلی‌ساکارید) تقسیم کرد (Wang, Chandrapala, Truong, & Farahnaky, 2023). مونوگلیسرید، پلی‌گلیسرول استر و اسپن ۶۰ هر سه امولسیفایرهای با HLB<sup>۲</sup> پایین هستند که در دسته‌بندی اولئوژلاتورها با وزن مولکولی پایین قرار می‌گیرند. از روغن‌های گیاهی مختلفی مانند روغن بادام‌زمینی می‌توان برای تولید اولئوژل‌ها استفاده کرد. بادام‌زمینی یک دانه‌ی روغنی است که ۴۷ تا ۵۰ درصد روغن دارد (Dun et al., 2019). باین‌حال، عامل اصلی ایجاد حساسیت، پروتئین بادام زمینی است؛ نه روغن آن (Bublín & Breiteneder, 2014). روغن بادام‌زمینی سرشار از ویتامین E است و حدود ۸۰ درصد از اسیدهای چرب آن را اسیدهای چرب غیراشباع به‌ویژه اسید اولئیک و لینولئیک تشکیل می‌دهند. بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که مصرف دانه یا روغن بادام‌زمینی بر بهبود بیماری‌های قلبی-عروقی و دیابت نوع ۲ تأثیر مثبتی داشته و موجب پیشگیری از ابتلا به تصلب شرایین می‌شود؛ همچنین ممکن است موجب کاهش خطر ابتلا به سرطان روده‌ی بزرگ شود (Dun et al., 2019). از چربی‌هایی مانند کره، شورتینگ و مارگارین در تولید فرآورده‌های نانوائی مانند کیک‌ها استفاده می‌شود. از انواع کیک‌ها می‌توان کیک کره‌ای را نام برد که نوعی کیک پوند<sup>۳</sup> بوده و در آن، کره به‌عنوان یکی از اجزای اصلی فرمولاسیون، نقش چربی را ایفا می‌کند (Nguyen Doan Mai et al., 2023). پژوهش‌های متعددی پتانسیل استفاده از اولئوژل‌ها را به‌عنوان جایگزین چربی در محصولات نانوائی مانند مافین (Giacomozzi, Carrín, & Palla, 2018)، کوکی (Zulfiqar et al., 2024) و کیک (Badem & Baştürk, 2023)

لامل، به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۵ °C نگهداری شدند. در انتها، از اولئوژل‌ها با بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰ برابر در دمای اتاق عکس‌برداری شد و مورد بررسی قرار گرفتند (Malvano, Albanese, Cinquanta, Liparoti, & Marra, 2024).

### ظرفیت نگهداری روغن (OHC)

برای بررسی ظرفیت نگهداری روغن اولئوژل‌ها، روش منگ و همکاران (Meng, Wang, Lu, Yu, & Ye, 2024)، با اندکی تغییر مورد استفاده قرار گرفت؛ به این ترتیب ۱ گرم از هر نمونه در یک میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری ریخته و با استفاده از سانتریفیوژ برند Vision مدل VS-180CFI، به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ rpm در دمای ۲۵ °C سانتریفیوژ شد. پس از حذف روغن جدا شده از هر نمونه توسط کاغذ صافی، مقادیر OHC با استفاده از معادله‌ی (۱) محاسبه گردید که در آن  $M_1$ ،  $M_2$  و  $M_3$ ، به ترتیب نشان‌دهنده‌ی وزن میکروتیوب خالی، وزن میکروتیوب به همراه نمونه قبل از سانتریفیوژ و وزن میکروتیوب به همراه نمونه بعد از برداشتن روغن بود.

$$\%OHC = \left[ 1 - \frac{(M_2 - M_3)}{(M_2 - M_1)} \right] \times 100 \quad (1)$$

### بررسی رفتار حرارتی

رفتار حرارتی اولئوژل‌ها مشابه روش هوانگ و همکاران (Hwang, Kim, Winkler- Moser, Lee, & Liu, 2022) با گرماسنجی پویایی تفاضلی<sup>۲</sup> (DSC) مورد ارزیابی قرار گرفت. به این منظور از دستگاه Sanaf DSC-400 (ساخت ایران) استفاده شد. بعد از رسیدن نمونه‌ها به دمای محیط، ۱۵ میلی‌گرم از هر نمونه با سرعت  $1 \text{ C.min}^{-1}$  از ۱۰ °C تا ۲۵ °C حرارت داده شد. در انتها نقاط پیک ذوب و آنتالپی به دست آمده توسط نرم‌افزار خود دستگاه، برای هر نمونه مورد بررسی قرار گرفت.

### ارزیابی سفتی

برای ارزیابی سفتی اولئوژل‌ها، آزمون اکستروژن معکوس<sup>۳</sup> توسط دستگاه Sanaf Tensile Tester-SUT 2.5N و روش پینهاس و همکاران (Davidovich-Pinhas, Barbut, & Marangoni, 2015) با اندکی تغییر مورد استفاده قرار گرفت؛ به طوری که نمونه‌ها به قالب‌ها (۳۰ mm قطر، ۲۰ mm ارتفاع) ریخته شده و پس از نگهداری ۲۴ ساعته در یخچال، تا رسیدن به دمای ۲۵ °C در محیط نگهداری شدند. سپس توسط یک پروب به قطر ۲۵ mm و با سرعت  $0.5 \text{ mm.s}^{-1}$  آزمون انجام گردید. اعمال فشار تا کاهش ۵۰ درصدی ارتفاع اولیه‌ی

از شرکت مجللی (ایران) خریداری شدند. بادام‌زمینی و مواد فرمولاسیون کیک نیز از بازار محلی تبریز تأمین گردید.

### استخراج روغن بادام‌زمینی

ابتدا بادام‌زمینی‌ها به روش دستی به طور کامل پوست‌گیری شدند. سپس برای استخراج روغن آن‌ها، دستگاه روغن‌گیر خانگی (مدل OPM450 – HOME PRO) مورد استفاده قرار گرفت. دمای روغن خروجی حدود ۵۰ °C تا ۶۰ °C بود. در مرحله‌ی بعد روغن استخراج‌شده برای حذف ناخالصی‌ها، به مدت ۳۰ دقیقه با ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد و در نهایت روغن شفاف به دست آمده، تا زمان تولید اولئوژل‌ها در یخچال نگهداری شد (Yin et al., 2022).

### آزمون‌های اولئوژل

#### آماده‌سازی اولئوژل‌ها

ابتدا، غلظت‌های ۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد وزنی، طبق مطالعات پیشین برای هر سه اولئوژلاتور بررسی شد. مونوگلیسرید و پلی‌گلیسرول استر در هر سه غلظت ژل تشکیل دادند، اما اسپن ۶۰ در هیچ‌یک از این غلظت‌ها ژل ایجاد نکرد. از آنجایی که هدف، مقایسه‌ی مستقیم سه اولئوژلاتور بود، لازم بود غلظتی پیدا شود که حتی ضعیف‌ترین نمونه (اسپن ۶۰) نیز در آن ژل تشکیل دهد. بنابراین، با بررسی غلظت‌های بالاتر برای اسپن ۶۰، مشخص شد که این ماده در غلظت ۱۲ درصد وزنی ژل تشکیل می‌دهد. در نهایت، به منظور فراهم آوردن شرایط یکسان و مقایسه‌پذیر، غلظت ۱۲ درصد وزنی برای هر سه اولئوژلاتور در این پژوهش انتخاب گردید. به این ترتیب مونوگلیسرید، پلی‌گلیسرول استر و اسپن ۶۰ هر کدام با این غلظت به روغن پرس سرد بادام‌زمینی اضافه شدند. سپس در حمام آب ۷۵ °C به مدت ۱۰ دقیقه تحت هم‌زدن قرار گرفتند. در نهایت هر کدام از نمونه‌ها به منظور تشکیل ژل، ۹۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شده و سپس به یخچال انتقال یافتند. پس از طی کردن ۲۴ ساعت در یخچال، برای انجام آزمون‌ها مورد استفاده قرار گرفتند (Sun et al., 2022). اسامی MG، PG و SG به ترتیب برای اولئوژل‌های بر پایه‌ی مونوگلیسرید، پلی‌گلیسرول-استر و اسپن ۶۰ انتخاب شد.

### بررسی ریزساختار

ریزساختار اولئوژل‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین (صا ایران، مدل BM180N)، مورد مطالعه قرار گرفت. به این ترتیب چند قطره از اولئوژل‌ها روی لام ریخته شده و پس از قرار دادن

ساعت) برای انجام آزمون‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. کیک‌های کره‌ای تهیه‌شده با کره، اولئوژل بر پایه‌ی مونوگلیسرید (MG) و اولئوژل بر پایه‌ی پلی‌گلیسرول استر (PG)، به ترتیب Control، MGBC، PGBC نام‌گذاری شدند.

### آزمون‌های کیک کره‌ای ارزیابی سفتی

این آزمون با اعمال تغییراتی در روش فنگ و همکاران (Feng et al., 2025) انجام شد. به این ترتیب سفتی نمونه‌ها توسط پروب استوانه‌ای با قطر ۴۵ mm و با سرعت  $1 \text{ mm.s}^{-1}$  مورد ارزیابی قرار گرفت. کیک‌ها در اندازه‌های یکسان (ارتفاع ۲۳ mm و قطر ۳۰ mm) آماده‌سازی شدند، سپس تا ۷۵ درصد ارتفاع اولیه‌ی خود فشرده شدند. از حداکثر نیروی ثبت‌شده در منحنی نیرو-جابجایی برای تحلیل سفتی بافت کیک‌های کره‌ای استفاده شد.

### ارزیابی حسی هدونیک

یک پنل متشکل از ۱۵ ارزیاب نیمه‌آموزش‌دیده، ویژگی‌های حسی کیک را ارزیابی کردند. کیک‌ها در اندازه‌های یکسان و به طور تصادفی سرو شدند و پس از هر نمونه از آب آشامیدنی برای شستشوی دهان استفاده گردید. در این ارزیابی، شاخص‌هایی نظیر رنگ، بافت، طعم و پذیرش کلی با استفاده از یک مقیاس ۵ نقطه‌ای سنجیده شد که در آن امتیاز ۱، به معنای کمترین علاقه و امتیاز ۵، به معنای بیشترین علاقه بود (Yilmaz & Öz, 2024).

### آنالیز آماری

در این پژوهش از طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمون‌ها استفاده شد و میانگین با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (Way One ANOVA) در سطح ۵ درصد با استفاده از روش آزمون دانکن در نرم‌افزار SPSS27 محاسبه گردید.

### نتایج و بحث

#### بررسی ریزساختار

شکل ظاهری اولئوژل‌ها در شکل ۱D قابل مشاهده است. هر سه اولئوژل توانایی حفظ ساختار خود را پس از وارونه کردن داشتند. خواص فیزیکی اولئوژل‌ها تا حد زیادی تحت تأثیر اندازه و شکل کریستال‌ها قرار می‌گیرد (Dominguez, Carrin, & Palla, 2024). اندازه و شکل کریستال‌ها نیز به عواملی مانند نوع، خلوص و غلظت اولئوژلاتور، نوع روغن، شرایط تولید (مانند سرعت خنک‌سازی) و وجود سایر افزودنی‌ها بستگی دارد (Uslu & Yilmaz, 2021).

نمونه‌ها ادامه یافت و نقطه‌ی اوج نمودار نیرو-جابجایی هر نمونه به-عنوان معیار سفتی در نظر گرفته شد.

### طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR)

با استفاده از یک طیف‌سنج مادون قرمز تبدیل فوریه‌ی مدل Bruker Tensor 27، طیف‌ها در بازه‌ی  $4000$  تا  $400 \text{ cm}^{-1}$  با دقت  $1/\text{cm}^{-1}$  ثبت شده و مورد ارزیابی قرار گرفتند (Liu, Pei, Shen, Xu, & Zhao, 2024).

### عدد پراکسید (PV)

روش اسید استیک-کلروفرم (AOCS Cd 8-53) برای اندازه‌گیری مقادیر پراکسید نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا، برای جداسازی روغن، از حلال هگزان استفاده گردید و سپس فاز روغن جداشده با اسید استیک و کلروفرم (با نسبت ۳ به ۲) ترکیب و در ادامه یدید پتاسیم اشباع به آن اضافه شد. پس از نگهداری محلول حاصل به مدت ۱ دقیقه در جای تاریک، آب و معرف نشاسته به آن اضافه شده و با تیوسولفات سدیم (۰/۰۱ N) تیترو گردید. عدد پراکسید هر نمونه توسط معادله‌ی (۲) به دست آمد که در آن S، حجم تیوسولفات سدیم مصرفی برای تیترو محلول دارای نمونه، B، حجم تیوسولفات سدیم مصرفی برای شاهد، W، وزن نمونه و N، نرمالیتی تیوسولفات سدیم بود (Güneşer, Yılmaz, & Ok, 2017).

$$PV = \frac{(S-B) \times N \times 1000}{W} \quad (2)$$

### روش تهیه‌ی کیک کره‌ای

مقادیر مواد استفاده‌شده برای فرمولاسیون کیک‌ها در جدول ۱ ارائه شده است. از اولئوژل بر پایه‌ی اسپن ۶۰ به دلیل عدم برخورداری از سفتی و ظرفیت نگهداری روغن مطلوب، استفاده نشد. برای تولید کیک‌های کره‌ای روش انگ و همکاران (Ang, Abdullah, Muhammad, & Lizardo, 2017) با اعمال تغییراتی مورد استفاده قرار گرفت. به این ترتیب ابتدا شکر و کره (یا اولئوژل‌ها) که به دمای محیط رسیده بودند، توسط هم‌زن برقی با دور متوسط، مخلوط شدند تا بافتی سبک به دست آید. سپس وانیل و تخم‌مرغ به تدریج اضافه شدند. پس از رسیدن به مخلوط یکنواخت توسط هم‌زن و اضافه‌شدن شیر هم‌زنی با دور آهسته، ادامه یافت. در مرحله‌ی بعد آرد، بیکینگ پودر و نمک الک‌شده، به تدریج و با هم‌زدن آهسته، به مخلوط کیک اضافه شدند. سپس وزن یکسانی از خمیر به قالب‌ها ریخته شده و در فر از پیش گرم‌شده در دمای  $165^\circ\text{C}$  قرار گرفتند. همه‌ی کیک‌ها بعد از ۲۰ دقیقه از فر خارج شده و پس از رسیدن به دمای محیط (به مدت یک

جدول ۱- فرمولاسیون کیک‌های کره‌ای  
Table 1- Formulations of butter cakes

نمونه Sample	MG (g)	PG (g)	کره (g) Butter	تخم‌مرغ Egg (g)	شکر Sugar (g)	آرد Flour (g)	شیر Milk (g)	وانیل Vanil (g)	بیکنینگ پودر Baking Powder (g)	نمک Salt (g)
Control	-	-	45	50	60	82.5	35	1	1.5	0.5
MGBC	45	-	-	50	60	82.5	35	1	1.5	0.5
PGBC	-	45	-	50	60	82.5	35	1	1.5	0.5

گلیسرول استر بود، کریستال‌های کروی شکل<sup>۲</sup> نشان داد. در مقابل مگ و همکاران (Meng, Guo, Wang, & Liu, 2019) که در مطالعه‌ی خود از پلی‌گلیسرول استر به‌عنوان اولئوژلاتور در روغن آفتاب‌گردان استفاده کرده بودند، با استفاده از میکروسکوپ نور پلاریزه<sup>۳</sup> (PLM) کریستال‌های سوزنی‌شکل مشاهده کردند. تفاوت کریستال‌های اولئوژل‌های مورد مطالعه با منابع مختلف ممکن است به وجود ترکیبات کم‌مقدار در روغن پرس سرد بادام‌زمینی مربوط باشند که باعث ایجاد تغییر در قطبیت روغن شده و روی برهم‌کنش‌های بین روغن و اولئوژلاتور تأثیر می‌گذارند (Dominguez et al., 2024) به‌طور کلی می‌توان گفت کریستال‌های سوزنی‌شکل به‌دلیل تشکیل شبکه‌ی کریستالی که به خوبی در هم تنیده می‌شوند (Li, Guo, Bi, Zhang, & Xu, 2021) و همچنین توزیع متراکم‌تر کریستال‌ها تأثیر مثبتی بر خواص ماکروسکوپی سیستم‌ها دارد (Meng et al., 2019).

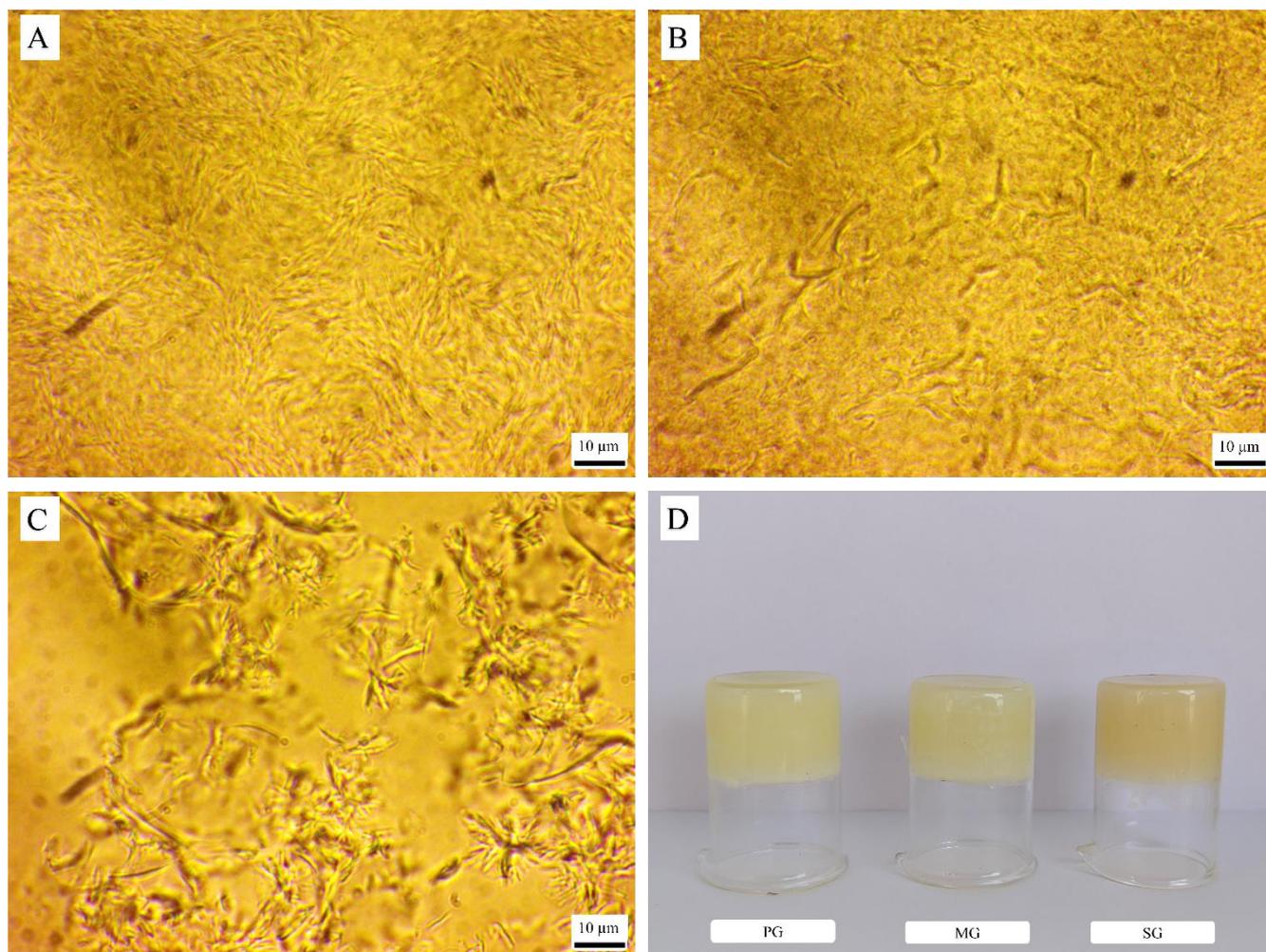
#### ظرفیت نگهداری روغن

ظرفیت نگهداری روغن یکی از ویژگی‌های مهم است که برای بررسی پایداری فیزیکی اولئوژل‌ها استفاده می‌شود و نشان‌دهنده‌ی توانایی شبکه‌ی ژلی برای حفظ فاز مایع است (Hafiz et al., 2025). OHC پایین، منجر به آزاد شدن روغن در سیستم غذایی شده و در نتیجه باعث افت کیفیت بافتی و حسی آن می‌شود (Arriera et al., 2025). نمودار درصد ظرفیت نگهداری روغن در شکل ۲ ارائه شده است. طبق شکل هر سه اولئوژل با یکدیگر تفاوت معنی‌دار داشتند ( $p < 0.05$ ) که می‌تواند ناشی از تفاوت در اندازه، شکل، توزیع و نظم فضایی کریستال‌ها باشد (Zhang, Xu, Tang, & Li, 2023)؛ به‌طوری‌که اولئوژل بر پایه‌ی مونوگلیسرید بالاترین درصد OHC (۱۰۰ درصد) را نشان داد که به‌دلیل شبکه‌ی سه‌بعدی متراکم و پایدار تشکیل شده توسط کریستال‌های ریز سوزنی‌شکل آن بود (Li et al., 2021).

بنابراین برای مقایسه‌ی کریستال‌های تشکیل‌شده توسط اولئوژلاتورهای مونوگلیسرید، پلی‌گلیسرول استر و اسپن<sup>۴</sup> این آزمون انجام شد. طبق شکل ۱ ریزساختار هر سه اولئوژل متفاوت بود که می‌توان آن را به زنجیره‌ی هیدروکربنی بلند آن‌ها که توانایی تشکیل شبکه‌های کریستالی گوناگون دارد، نسبت داد (Ghan, Siow, Tan, Cheong, & Thoo, 2020). اولئوژل بر پایه‌ی مونوگلیسرید یک شبکه‌ی فیبری متراکم، با توزیع یکنواخت و متشکل از کریستال‌های سوزنی‌شکل ریز را نشان داد (شکل ۱A) که ناشی از خودآرایی مونوگلیسریدها در روغن و تشکیل یک فاز معکوس با ساختار لایه‌ای بود (Palla, Dominguez, & Carrín, 2022). دیماکوپولو-پاپازولو و همکاران (Dimakopoulou-Papazoglou, Giannakaki, & Katsanidis, 2023) نیز در مطالعه‌ی خود وجود کریستال‌های سوزنی شکل ریز را برای اولئوژل بر پایه‌ی روغن کنجد و مونوگلیسرید گزارش کردند. با وجود اینکه اووانش و همکاران (Uvanesh et al., 2016) اسپن<sup>۴</sup> را به‌عنوان اصلاح‌کننده‌ی شبکه‌ی کریستالی در اولئوژل بر پایه‌ی استتاریک اسید معرفی کردند، طبق شکل ۱C زمانی‌که از اسپن<sup>۴</sup> به‌تنهایی استفاده شد، کریستال‌های شعاعی<sup>۱</sup> بزرگ با فضاهای خالی زیاد مشاهده شد که مشابه با تصاویر اولئوژل‌های مطالعه‌ی بهارا و همکاران (Behera, Patil, Sagiri, Pal, & Ray, 2012) بود و می‌توان این ساختار را به سر حجیم سوربیتان در اسپن<sup>۴</sup> نسبت داد که معمولاً یک شبکه‌ی ژلی ضعیف ایجاد می‌کند. همچنین، اولئوژل مورد مطالعه‌ی سان و همکاران (Sun et al., 2022) که بر پایه‌ی مونوگلیسرید بود کریستال‌های شعاعی نشان داد. درحالی‌که غان و همکاران (Ghan et al., 2020) گزارش دادند که با افزایش درصد اسپن<sup>۴</sup> در اولئوژل‌های مورد مطالعه‌ی خود، کریستال‌های سوزنی و میله‌ای به‌وجود می‌آیند. مطابق با شکل ۱B کریستال‌های سوزنی‌شکل اولئوژل بر پایه‌ی پلی‌گلیسرول استر، علی‌رغم داشتن تراکم خوب نسبت به اسپن<sup>۴</sup> نسبت به مونوگلیسرید بزرگ‌تر بودند که بر خلاف یافته‌های بوییتیمنا-کانتوئا و همکاران (Buitimea-Cantúa et al., 2022) بود؛ به‌طوری‌که اولئوژل مورد مطالعه‌ی آن‌ها که بر پایه‌ی پلی

3- Polarized light microscopy

1- Rosette-like  
2- Spherulitic



شکل ۱- تصاویر میکروسکوپی (A, B, C) و شکل ظاهری (D) اولئوژل‌ها

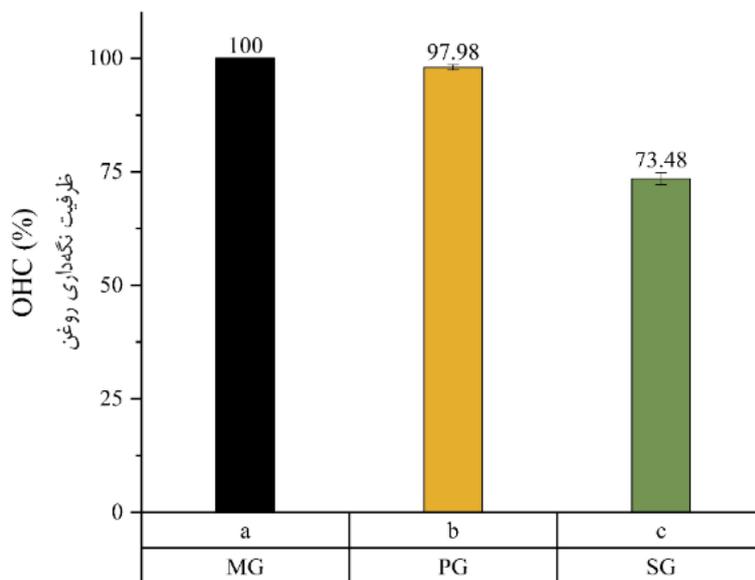
اولئوژل بر پایه‌ی مونوگلیسرید (A, MG)، اولئوژل بر پایه‌ی پلی‌گلیسرول‌استر (B, PG)، اولئوژل بر پایه‌ی اسپن ۶۰ (C, SG)

Fig. 1. Microscopic images (A, B, C) and visual appearance (D) of oleogels

Monoglyceride-based oleogel (MG, A), Polyglycerol ester-based oleogel (PG, B), Span 60-based oleogel (SG, C)

اسپن ۶۰ بود (۷۳/۴۸ درصد) که می‌توان به وجود فضاهای خالی بیشتر و اندازه‌ی بزرگ کریستال‌های آن طبق تصاویر میکروسکوپی نسبت داد (Barroso, Okuro, Cerqueira, & Cunha, 2024). غان و همکاران (Ghan *et al.*, 2020)، ظرفیت نگهداری روغن سه اولئوژل بر پایه‌ی لسیتین سویا، گلیسرول مونواستئارات و سوربیتان مونواستئارات (اسپن ۶۰) را مورد بررسی قرار دادند و در مطالعه‌ی آن‌ها اولئوژل بر پایه‌ی اسپن ۶۰ در همه‌ی غلظت‌ها، پایین‌ترین OHC را نشان داد. به‌طور کلی، کریستال‌های کوچک‌تر به‌دلیل نسبت سطح‌به‌حجم بیشتر و تشکیل مسیر پیچیده‌تر، OHC بالاتری را نشان می‌دهند (Dominguez *et al.*, 2024).

درحالی‌که با توجه به شکل ۲، اولئوژل بر پایه‌ی پلی‌گلیسرول‌استر علی‌رغم داشتن ساختاری متراکم، کریستال‌های بزرگتری نسبت به اولئوژل بر پایه‌ی مونوگلیسرید داشت و ظرفیت نگهداری روغن پایین‌تر (۹۷/۹۸ درصد) را می‌توان به همین نسبت داد. این یافته‌ها مشابه نتایج مطالعات پیشین بود؛ دومینگوئر و همکاران (Dominguez *et al.*, 2024) در پژوهش خود اولئوژل‌هایی با غلظت ۶ و ۱۰ درصد مونوگلیسرید در ۵ نوع روغن تولید کردند و OHC همه‌ی آن‌ها را بالاتر از ۹۳ درصد گزارش دادند. همچنین، در مطالعه‌ی یلماز و اوسلو (Yilmaz & Uslu, 2020) تمام نمونه‌های اولئوژل بر پایه‌ی مونو و پلی‌گلیسرول استئارات مقادیر OHC بالاتر از ۹۹ درصد را نشان دادند. مطابق با شکل ۲ پایین‌ترین درصد OHC متعلق به اولئوژل بر پایه‌ی



شکل ۲- ظرفیت نگهداری روغن اولئوژل‌ها (%)

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

MG: اولئوژل بر پایه‌ی مونوگلیسرید، PG: اولئوژل بر پایه‌ی پلی‌گلیسرول استر، SG: اولئوژل بر پایه‌ی اسپن ۶۰

Fig. 2. Oil holding capacity of oleogels (%)

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

MG: Monoglyceride-based oleogel, PG: Polyglycerol ester-based oleogel, SG: Span 60-based oleogel

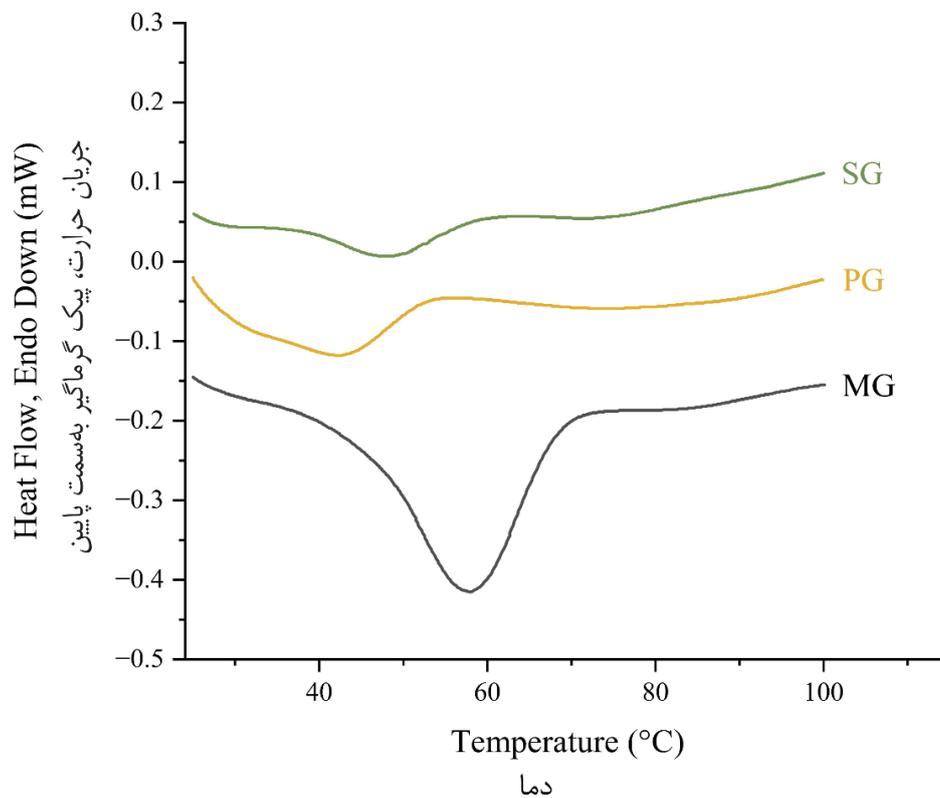
همکاران (Li *et al.*, 2021) برای اولئوژل‌های بر پایه‌ی گلیسرول مونواسترات (MS) و گلیسرول مونوپهنات (MB)، دو پیک گرماگیر مشاهده کردند. آن‌ها پیک اول ( $55/55^{\circ}\text{C}$  در MS و  $64/77^{\circ}\text{C}$  در MB) برای فاز ال-آلفا<sup>۱</sup> و پیک دوم ( $31/58^{\circ}\text{C}$  در MS و  $48/61^{\circ}\text{C}$  در MB) را به تبدیل ال-آلفا به زیر-آلفا<sup>۲</sup> نسبت دادند. همچنین اولئوژل بر پایه‌ی گلیسرول مونولورات در مطالعه‌ی ژنگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2023) فقط یک پیک ذوب در حدود  $40^{\circ}\text{C}$  نشان داد که ناشی از ذوب فاز ال-آلفا بود. اولئوژل بر پایه‌ی پلی‌گلیسرول استر پایین‌ترین دمای ذوب را نشان داد ( $42/55^{\circ}\text{C}$ ) که مشابه با دمای مشاهده‌شده در مطالعه‌ی منگ و همکاران (Meng *et al.*, 2019) برای اولئوژل‌های بر پایه‌ی پلی‌گلیسرول استر بود. به‌علاوه دمای ذوب اولئوژل بر پایه‌ی اسپن ۶۰،  $48/54^{\circ}\text{C}$  بود که با دمای ذوب مشاهده شده در مطالعه‌ی غان و همکاران (Ghan *et al.*, 2020) برای اولئوژل بر پایه‌ی ۱۲ درصد اسپن ۶۰ ( $49/07^{\circ}\text{C}$ ) مشابه بود. همچنین گائو و همکاران (Gao *et al.*, 2022) در اولئوژل حاوی ۱۰ درصد وزنی اسپن ۶۰ دو پیک گرماگیر در  $42/2^{\circ}\text{C}$  (پیک ۱) و  $55^{\circ}\text{C}$  (پیک ۲) مشاهده کردند. آن‌ها پیک ۱ را به ازهم‌گسستگی خوشه‌های میسلی و پیک ۲ را به تخریب ساختار میسل‌های اسپن ۶۰ نسبت دادند. به‌طور کلی تفاوت در تعداد پیک‌های ذوب اولئوژل‌ها را می‌توان با منبع متفاوت

### بررسی رفتار حرارتی

مطالعه در مورد رفتار حرارتی اولئوژل‌ها برای ارزیابی خواص فیزیکی آن‌ها ضروری است. DSC یک روش آنالیز حرارتی برای مطالعه‌ی چگونگی تغییر خواص فیزیکی یک نمونه در طول زمان نسبت به دما است (Monto *et al.*, 2023). بنابراین، برای بررسی و مقایسه‌ی دمای ذوب و انتالپی اولئوژل‌ها این آزمون انجام شد. نمودار رفتار حرارتی اولئوژل‌ها در شکل ۳ ارائه شده است. هر سه اولئوژل یک پیک ذوب نشان دادند که ناشی از ذوب کریستال‌های تشکیل‌شده توسط اولئوژلاتورها بود و با یافته‌های مطالعات منگ و همکاران (Meng *et al.*, 2019) برای اولئوژل‌های بر پایه‌ی پلی‌گلیسرول استر، پرودرومیدیس و همکاران (Prodromidis, Biliaderis, & Katsanidis, 2023)، برای اولئوژل بر پایه‌ی مونوگلیسرید در مرحله‌ی اول گرمایش ( $0^{\circ}\text{C}$  تا  $100^{\circ}\text{C}$ ) و سینگ و همکاران (Singh, Pramanik, Ray, & Pal, 2015) برای اولئوژل‌های تولیدشده از اسپن ۶۰ مطابقت داشت. طبق جدول ۲ دمای پیک هر سه نمونه با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند که می‌توان به تفاوت در ترکیب شیمیایی اولئوژلاتورها نسبت داد. اولئوژل بر پایه‌ی مونوگلیسرید بالاترین دمای ذوب ( $57/62^{\circ}\text{C}$ ) را داشت که ناشی از ذوب فرم کریستالی آلفا بود (Prodromidis *et al.*, 2023). لی و

بر پایه‌ی اسپن ۶۰ علی‌رغم داشتن پایین‌ترین آنتالپی ذوب، دمای پیک ذوب بالاتری از اولئوژل بر پایه‌ی پلی‌گلیسرول استر داشت که می‌توان به زنجیره‌ی آلیفاتیک طولانی استتاریک اسید موجود در اسپن ۶۰ نسبت داد (de Oliveira *et al.*, 2015).

اولئوژلاتور (Swe & Asavapichayont, 2018) و همچنین ترکیبات جزئی متفاوت در روغن‌های مورد استفاده (Dominguez *et al.*, 2024) مرتبط دانست. با توجه به جدول ۲ روند دماهای پیک ذوب اولئوژل‌ها با مقادیر آنتالپی ذوب مطابقت نداشت؛ به طوری که اولئوژل



شکل ۳- نمودار رفتار حرارتی اولئوژل‌ها

MG: اولئوژل بر پایه‌ی مونوگلیسرید، PG: اولئوژل بر پایه‌ی پلی‌گلیسرول استر، SG: اولئوژل بر پایه‌ی اسپن ۶۰

Fig. 3. Thermal behavior curves (DSC thermograms) of the oleogels

MG: Monoglyceride-based oleogel, PG: Polyglycerol ester-based oleogel, SG: Span 60-based oleogel

و  $1.79/33 \text{ J.g}^{-1}$  بود درحالی‌که اولئوژل بر پایه‌ی اسپن ۶۰ پایین‌ترین آنتالپی ( $1.42/33 \text{ J.g}^{-1}$ ) را داشت که با یافته‌های بخش بررسی مورفولوژی کریستالی، در یک راستا بود و می‌توان به شبکه‌ی ژلی ضعیف آن نسبت داد (Zhang *et al.*, 2023). بنابراین اولئوژل بر پایه‌ی مونوگلیسرید با داشتن تراکم بالایی از کریستال‌های سوزنی‌شکل ریز و در نتیجه، مقدار بالای ماده‌ی کریستالی، بالاترین پایداری حرارتی را داشت. به بیانی دیگر انرژی زیادی لازم بود تا برهم‌کنش‌های تشکیل دهنده‌ی شبکه‌ی سه‌بعدی از بین بروند (Dominguez *et al.*, 2024).

همچنین به دلیل اینکه آنتالپی ذوب نشان‌دهنده‌ی درجه‌ی کریستالیزاسیون (نسبت نواحی کریستالی به آمورف) است (Giacomozzi, Palla, Carrín, & Martini, 2019)، احتمالاً دلیل بالاتر بودن آنتالپی ذوب اولئوژل بر پایه‌ی پلی‌گلیسرول استر، بالاتر بودن مقدار نواحی کریستالی آن نسبت به اولئوژل بر پایه‌ی اسپن ۶۰ بود. برای تفسیر دقیق‌تر عدم تطابق پیک‌ها و آنتالپی ذوب، می‌توان از آزمون‌های تکمیلی مانند رزونانس مغناطیسی هسته‌ای<sup>۱</sup> (NMR) استفاده کرد.

همچنین از آنتالپی ذوب می‌توان در بررسی پایداری حرارتی نمونه‌ها استفاده کرد (Ghan *et al.*, 2020). با توجه به جدول ۲ آنتالپی ذوب برای اولئوژل بر پایه‌ی مونوگلیسرید و پلی‌گلیسرول استر به ترتیب ۳۶۸-

1- Nuclear magnetic resonance

جدول ۲- دمای پیک و آنتالپی ذوب اولئوزل‌های بر پایه‌ی مونوگلیسرید (MG)، پلی‌گلیسرول استر (PG)، اسپن ۶۰ (SG)

Table 2- Melting peak temperature and enthalpy of oleogels based on monoglyceride (MG), polyglycerol ester (PG), and Span 60 (SG)

	MG	PG	SG
دمای پیک ذوب Melting peak temperature (°C)	57.62 ± 0.21 <sup>a</sup>	42.55 ± 0.39 <sup>c</sup>	48.54 ± 0.46 <sup>b</sup>
آنتالپی Enthalpy (J.g <sup>-1</sup> )	-368 ± 22 <sup>a</sup>	-79.33 ± 15.50 <sup>b</sup>	-42.33 ± 10.63 <sup>c</sup>

\*حروف مختلف نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌ها می‌باشد (آزمون دانکن،  $p < 0.05$ ).

\*Different letters indicate significant differences between samples (Duncan's test,  $p < 0.05$ ).

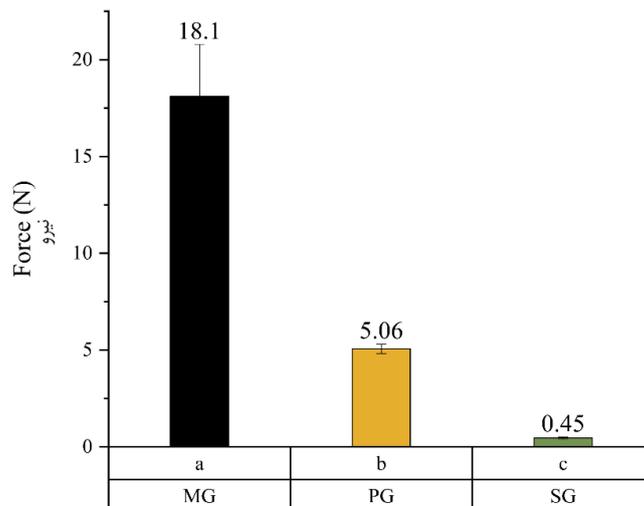
### ارزیابی سفتی

سفتی، نشان‌دهنده‌ی استحکام مکانیکی و میزان تراکم شبکه‌ی سه‌بعدی اولئوزل‌ها است و نقش مهمی در بررسی پتانسیل آن‌ها برای کاربردهای عملی ایفا می‌کند (Li et al., 2021). به بیان دیگر سفتی یک اولئوزل به مقاومت آن در برابر تغییر شکل تحت نیروی اعمال شده اشاره دارد و تحت تأثیر نوع و مقدار اولئوزلاتور مورد استفاده قرار می‌گیرد (Wei et al., 2024). شکل ۴ مقادیر حداکثر نیروی ثبت‌شده را نشان می‌دهد. با توجه به وجود اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) در سفتی هر سه اولئوزل، می‌توان نتیجه گرفت نوع اولئوزلاتور تأثیر قابل توجهی بر سفتی سیستم داشت. در سیستم‌های اولئوزل، استحکام مکانیکی ایده‌آل زمانی به دست می‌آید که مولکول‌های ژلاتور به‌طور یکنواخت در شبکه‌ی ژلی توزیع شوند (Banerjee et al., 2025). بنابراین، کریستال‌های سوزنی‌شکل ریزتر به دلیل داشتن سطح مقطع بیشتر برای ایجاد برهم‌کنش با یکدیگر موجب تشکیل شبکه‌ی سه‌بعدی یکنواخت تر شده و ژل‌های قوی‌تر و سفت‌تری تشکیل می‌دهند (Zhao et al., 2025). همان‌طور که تصاویر میکروسکوپی نشان دادند، اولئوزل بر پایه‌ی مونوگلیسرید ریزترین کریستال‌ها را داشت که موجب داشتن بالاترین میزان سفتی آن شد. وی و همکاران (Wei et al., 2024) نیز در مطالعه‌ی خود، دو اولئوزل بر پایه‌ی موم زنبور عسل و گلیسرول مونولورات را از نظر سفتی مقایسه کردند و اولئوزل بر پایه‌ی موم زنبور عسل را به دلیل ساختار کریستالی متراکم و یکنواخت، سفت‌تر گزارش دادند. طبق شکل ۴ اولئوزل‌های بر پایه‌ی پلی‌گلیسرول استر با داشتن کریستال‌های بزرگ‌تر از مونوگلیسرید و اسپن ۶۰ با داشتن پایین‌ترین تراکم، در رتبه‌های پایین‌تر سفتی قرار گرفتند، این روند علاوه بر مطابقت با تصاویر میکروسکوپی، با درصد ظرفیت نگهداری روغن و مقادیر آنتالپی ذوب اولئوزل‌ها نیز در یک راستا بود. باین‌حال اولئوزل بر پایه‌ی پلی‌گلیسرول استر ضمن داشتن پایین‌ترین دمای پیک ذوب، پایین‌ترین سفتی را نشان نداد که می‌توان گفت طبق مطالعه‌ی فاسولین

و همکاران (Fasolin, Cerqueira, Pastrana, Vicente, & Cunha, 2018) دمای ذوب پایین لزوماً موجب تولید ژل ضعیف نمی‌شود. به‌طور کلی این یافته‌ها نشان دادند مونوگلیسرید و پلی‌گلیسرول-استر توانایی تولید اولئوزل‌هایی با استحکام مکانیکی بالاتر نسبت به اسپن ۶۰ داشتند. یافته‌های مشابهی نیز وجود دارند که خواص مکانیکی بهتر اولئوزل‌های بر پایه‌ی گلیسرول را نسبت به اولئوزل‌های بر پایه‌ی سوربیتان گزارش دادند (Cerqueira et al., 2017; Trujillo-Ramírez, Lobato-Calleros, Vernon-Carter, & Alvarez-Ramirez, 2019).

### طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوری

شکل ۵ طیف‌های اولئوزلاتورها، روغن بادام‌زمینی پرس سرد و اولئوزل‌ها را نشان می‌دهد. طبق شکل ۵A طیف‌های هر سه اولئوزلاتور احتمال تشکیل پیوند هیدروژنی را نشان دادند، زیرا یک باند پهن در بازه‌ی ۳۱۱۰ تا  $3674 \text{ cm}^{-1}$  وجود داشت که مربوط به ارتعاش کششی گروه‌های OH موجود در بخش آب‌دوست آن‌ها بود و در روغن وجود نداشت (Ghan, Siow, Tan, Cheong, & Thoo, 2022). مشابه این بازه در (Barroso et al., 2024) برای گلیسرول مونواسترات و اسپن ۶۰ نیز مشاهده و به کشش گروه OH نسبت داده شد. همچنین برای هر سه اولئوزلاتور باندهایی در  $2850$  و  $2919 \text{ cm}^{-1}$  مشاهده شد که به ترتیب مربوط به کشش متقارن CH در  $\text{CH}_3$  و کشش نامتقارن CH در  $\text{CH}_2$  و همکاران (Ghan et al., 2020) مطابقت داشت. یک باند نسبتاً تیز در  $1740$ ،  $1737/5$  و  $1733/5 \text{ cm}^{-1}$  به ترتیب برای اسپن ۶۰ پلی‌گلیسرول استر و مونوگلیسرید مشاهده شد که به کشش گروه کربونیل (C=O) ارتباط داشت و نشان‌دهنده‌ی وجود پیوندهای استری بود (Sun et al., 2022).



شکل ۴- مقادیر سفتی اولئوژل‌ها

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

MG: اولئوژل بر پایه‌ی مونوگلیسرید، PG: اولئوژل بر پایه‌ی پلی‌گلیسرول استر، SG: اولئوژل بر پایه‌ی اسپن ۶۰

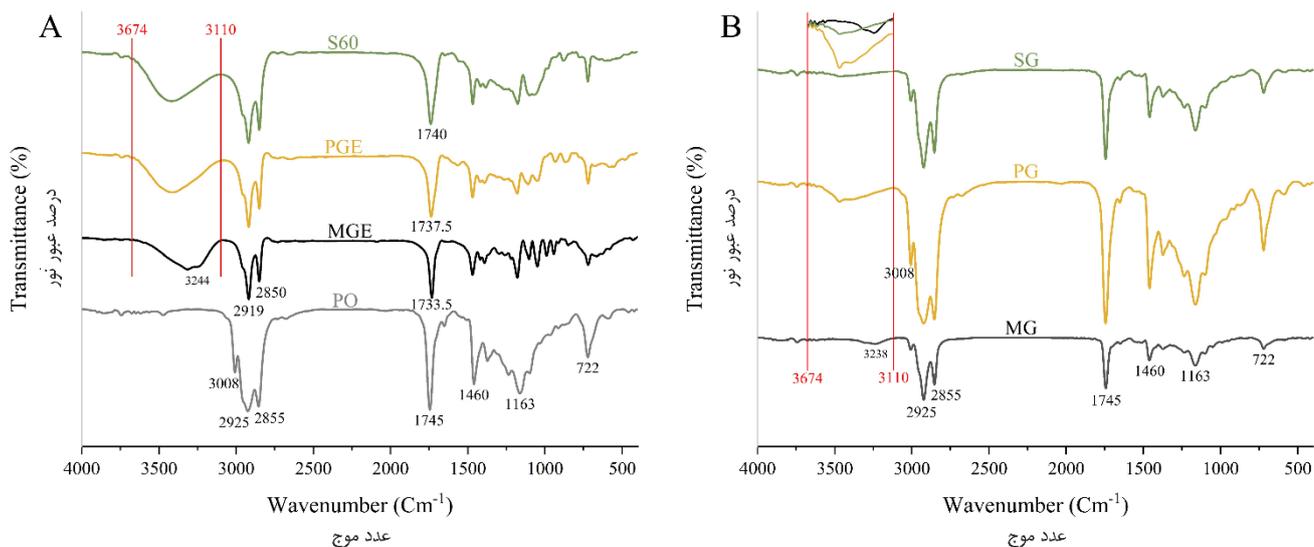
Fig. 4. Firmness values of oleogels

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

MG: Monoglyceride-based oleogel, PG: Polyglycerol ester-based oleogel, SG: Span 60-based oleogel

بر پایه‌ی مونوگلیسرید نسبت به مونوگلیسرید خالص، به اعداد موجی پایین‌تری منتقل شده بود که می‌توان به ظرفیت نگهداری روغن و سفتی بالای این اولئوژل نسبت داد. همچنین بیشترین کاهش در باند  $3008 \text{ cm}^{-1}$  نیز در اولئوژل بر پایه‌ی مونوگلیسرید مشاهده شد که احتمالاً به دلیل شبکه‌ی متراکم این اولئوژل بود که موجب حفظ بهتر روغن (کاهش روغن آزاد) می‌شود (Li et al., 2024). علاوه بر این، باند مربوط به کشش گروه کربونیل در اولئوژل‌ها نسبت به اولئوژل‌های خالص به عدد موجی بالاتر ( $1745 \text{ cm}^{-1}$ ) انتقال یافت که می‌تواند نشان‌دهنده تقویت پیوند هیدروژنی باشد (Liu et al., 2024). باندهای کشش متقارن و نامتقارن CH ( $2850$  و  $2919 \text{ cm}^{-1}$ ) در اولئوژل‌های خالص به  $2855$  و  $2925 \text{ cm}^{-1}$  در اولئوژل‌ها جابه‌جا شدند که به دلیل وجود برهم‌کنش‌های واندروالسی بود و باعث کاهش سیالیت زنجیره‌های آلکیل می‌شود (Ghan et al., 2022). باروسو و همکاران (Barroso et al., 2024) نیز این جابه‌جایی در باندهای کشش متقارن و نامتقارن CH را با برهم‌کنش‌های واندروالسی مرتبط دانستند. در انتها می‌توان نتیجه گرفت که تشکیل ژل در هر سه اولئوژل، صرفاً ناشی از برهم‌کنش‌های غیر کووالانسی مانند پیوند هیدروژنی و برهم‌کنش واندروالسی بود که با مطالعات لویی و همکاران (Lupi et al., 2018) و بارتی و همکاران (Bharti et al., 2021) مطابقت داشت.

در طیف روغن بادام‌زمینی (شکل ۵A) باند کوچک مشاهده شده در  $3008 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش کششی CH پیوند دوگانه‌ی سیس (=CH) بود که می‌تواند به گروه‌های آسیدهای چربی مانند اولئیک نسبت داده شود (Bharti et al., 2021)؛ این باند در مطالعه‌ی تروخیلو-رامیرز و همکاران (Trujillo-Ramírez et al., 2019) برای روغن دانه‌ی چیا نیز مشاهده شد. همچنین چهار باند اصلی نشان‌دهنده‌ی گروه‌های عاملی روغن‌ها، در حدود  $1460$  و  $1745$ ،  $2855$  و  $2925 \text{ cm}^{-1}$  مشاهده شد که به ترتیب ناشی از ارتعاش خمشی CH در گروه‌های  $\text{CH}_2$  و  $\text{CH}_3$ ، کشش C=O و ارتعاش کششی CH در گروه‌های  $\text{CH}_2$  و  $\text{CH}_3$  بود (Zhao et al., 2025). به علاوه، دو باند در  $1163 \text{ cm}^{-1}$  (کشش C-O گروه‌های استر) و  $721 \text{ cm}^{-1}$  (خمشی  $(\text{CH}_2)_n$  در زنجیره‌ی آلکیل) مشاهده شد (Banerjee et al., 2025) که در اولئوژل‌های خالص هم وجود داشت. طبق شکل ۵B همه‌ی باندهای شناسایی شده برای اولئوژل‌های خالص و روغن در اولئوژل‌ها نیز مشاهده شد و در هیچ‌کدام از اولئوژل‌ها تشکیل یا از بین رفتن باند مشاهده نشد، با این حال چند جابه‌جایی جزئی و همچنین تغییر در شدت باندها مشاهده شد. در هر سه اولئوژل شدت باند پهن در بازه‌ی  $3110$  تا  $3674 \text{ cm}^{-1}$  کاهش یافت که می‌توان این کاهش را به مشارکت پیوند هیدروژنی در تشکیل شبکه‌ی ژلی نسبت داد (Sagiri et al., 2016). در مقایسه‌ی اولئوژل‌ها، نقطه‌ی اوج این بازه در اولئوژل



شکل ۵- نمودارهای طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه‌ی اولئولاتورها و روغن (A) و اولئوژل‌ها (B)

S60: اسپن ۶۰، PGE: پلی‌گلیسرول استر، MGE: مونوگلیسرید، PO: روغن بادام‌زمینی، MG: اولئوژل بر پایه‌ی مونوگلیسرید، PG: اولئوژل بر پایه‌ی پلی‌گلیسرول استر، SG: اولئوژل بر پایه‌ی اسپن ۶۰

Fig. 5. FTIR spectra of: (A) oleogelators and oil and (B) oleogels

S60: Span 60, PGE: Polyglycerol ester, MGE: Monoglyceride, PO: Peanut oil, MG: Monoglyceride-based oleogel, PG: Polyglycerol ester-based oleogel, SG: Span 60-based oleogel

از حرکت عوامل اکسیدکننده در روغن جلوگیری می‌کند (Palla & Carrín, 2024). همچنین اولئوژل بر پایه‌ی اسپن ۶۰ نزدیکترین به نمونه‌ی شاهد بود. این نتایج با یافته‌های بخش خواص مکانیکی و مشاهدات میکروسکوپی مطابقت داشت. به طوری که اولئوژل بر پایه‌ی اسپن ۶۰ دارای ضعیف‌ترین بافت بود و همچنین بزرگ‌ترین و کم تراکم‌ترین کریستال‌ها را داشت. این ویژگی‌ها نمایانگر شبکه‌ی سه بعدی ضعیف و در نتیجه، اثر محافظی کمتر بود. همچنین سورفاکتانت‌های حاوی اسیدهای چرب غیراشباع مانند اسپن ۶۰ ممکن است حاوی پراکسیدهای باقی‌مانده از فرآیند تولید باشند که موجب پتانسیل بالای آن‌ها برای تخریب اکسیداتیو می‌شود (Hasenhuetl & Hartel, 2008). درحالی که اولئوژل‌های بر پایه‌ی مونوگلیسرید و پلی‌گلیسرول استر به دلیل تشکیل شبکه‌ی ژلی قوی روند کندتری در افزایش عدد پراکسید نشان دادند و با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) نداشتند. بنابراین می‌توان گفت این دو اولئوژل توانستند مانع فیزیکی بهتری برای محافظت از روغن در برابر اثرات نور و اکسیژن در طول نگهداری باشند (Hafiz et al., 2025). چن و همکاران (Chen, Zhu, Tian, & Li, 2024) نیز پایین بودن عدد پراکسید اولئوژل‌های بر پایه‌ی گلیسرول مونولورات و دی‌استیل تارتاریک اسید مونودی گلیسرید را نسبت به اولئوژل‌های دیگر (تولیدشده از پروپیلن گلیکول-استر، مونوگلیسریدهای سوکسینیل، گلیسرول لاکتات استر، استرهای ساکارز، گلیسرول سترات استر) به آرایش منظم و ساختار کریستالی

#### عدد پراکسید

پایداری اکسیداتیو نمونه‌ها توسط عدد پراکسید (PV) ارزیابی شد که یک پارامتر مهم برای بررسی مقدار محصولات اولیه‌ی تولیدشده در اکسیداسیون لیپیدها است (Malvano et al., 2024). در جدول ۳ نتایج حاصل از اندازه‌گیری عدد پراکسید در دو روز یکم و سی‌ام، ارائه شده است. پس از اندازه‌گیری اعداد پراکسید در روز اول، همه‌ی نمونه‌ها به مدت ۳۰ روز در دمای ۲۵ °C نگهداری شدند و سپس مجدداً عدد پراکسید آن‌ها اندازه‌گیری شد. روغن بادام‌زمینی پرس سرد به عنوان نمونه‌ی شاهد در نظر گرفته شد. در روز اول عدد پراکسید اولئوژل‌ها به دلیل دمای بالای استفاده‌شده برای تولید، بالاتر از روغن بادام‌زمینی پرس سرد بود (Badem & Baştürk, 2023). عدد پراکسید اولئوژل‌ها پس از ۳۰ روز بالاتر از نمونه‌ی شاهد بود که احتمالاً به دلیل بالاتر بودن پراکسید آن‌ها در روز اول نسبت به نمونه‌ی شاهد بود. به همین دلیل برای بررسی تاثیر اولئوژلاسیون می‌توان از مقایسه‌ی اختلاف عدد پراکسید نمونه‌ها در روز ۱ و ۳۰ استفاده کرد. به طوری که این اختلاف برای نمونه‌ی شاهد و اولئوژل‌های بر پایه‌ی مونوگلیسرید، پلی‌گلیسرول استر و اسپن ۶۰ به ترتیب ۴/۶۵، ۳/۹۳، ۳/۶۷ و ۴/۴ بود. بنابراین نمونه‌ی شاهد دارای تندترین روند افزایشی بود که می‌توان به عدم وجود شبکه‌ی ژلی در آن نسبت داد (Soares, Okuro, da Silva, Goldbeck, & Cunha, 2025). شبکه‌ی سه‌بعدی تشکیل شده توسط اولئوژلاتورها در روغن به عنوان مانع فیزیکی عمل کرده و

روغن می‌شود، به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند. بررسی‌های این مطالعه گویای اثرگذاری مثبت اولئوژل‌ها بر پایداری اکسیداتیو روغن بود اما بالاتر بودن عدد پراکسید تمامی اولئوژل‌ها از نمونه‌ی شاهد نیاز به بهینه‌سازی روش تهیه‌ی اولئوژل را خاطر نشان می‌کند.

متراکم آن‌ها نسبت دادند. همچنین طبق یافته‌های کاپونیو و همکاران (Caponio *et al.*, 2011) امولسیفایرهای دارای OH آزاد (مانند مونوگلیسرید) در غلظت‌های بالای ۳ درصد با جذب اکسیژن توسط گروه‌های OH خود در سطح روغن که موجب عدم تماس اکسیژن با

جدول ۳- مقادیر عدد پراکسید روغن بادام‌زمینی (PO) اولئوژل‌های بر پایه‌ی مونوگلیسرید (MG)، پلی‌گلیسرول‌استر (PG)، اسپین ۶۰ (SG)  
Table 3- Peroxide values of peanut oil (PO) in oleogels based on monoglyceride (MG), polyglycerol ester (PG), and Span 60 (SG)

زمان Time (Day)	PO	MG	PG	SG
1	0.65 ± 0.05 <sup>c</sup>	1.76 ± 0.06 <sup>b</sup>	1.67 ± 0.07 <sup>b</sup>	2.08 ± 0.16 <sup>a</sup>
30	5.3 ± 0.7 <sup>b</sup>	5.69 ± 0.16 <sup>b</sup>	5.34 ± 0.15 <sup>b</sup>	6.48 ± 0.2 <sup>a</sup>

\*حروف مختلف نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌ها می‌باشد (آزمون دانکن،  $p < 0.05$ ).

\*Different letters indicate significant differences between samples (Duncan's test,  $p < 0.05$ ).

(*al.*, 2023). در مقایسه‌ی کیک‌های تهیه‌شده با اولئوژل‌ها، طبق شکل ۶، MGBC بافت سفت‌تری دارد که احتمالاً بتوان به سفت بودن بیش- کاهش عملکرد هم‌زن برقی به‌دلیل سفتی زیاد خمیر شد. این یافته‌ها با تصاویر کیک‌ها در شکل ۶ نیز مطابقت داشت؛ به‌طوری‌که طبق تصاویر، MGBC با بالاترین و نمونه‌ی شاهد با پایین‌ترین تخلخل و ارتفاع، نرم‌ترین و سفت‌ترین بافت را داشتند. در نهایت می‌توان گفت این آزمون فقط اطلاعاتی در مورد سفتی کیک‌ها می‌دهد و برای بررسی دقیق‌تر بافت کیک‌ها می‌توان با استفاده از آزمون بافت‌سنجی<sup>۱</sup> (TPA) پارامترهای بافتی بیشتری مانند قابلیت جویدن<sup>۲</sup>، پیوستگی<sup>۳</sup>، قابلیت ارتجاع<sup>۴</sup> و ... را ارزیابی کرد.

#### ارزیابی حسی کیک کره‌ای

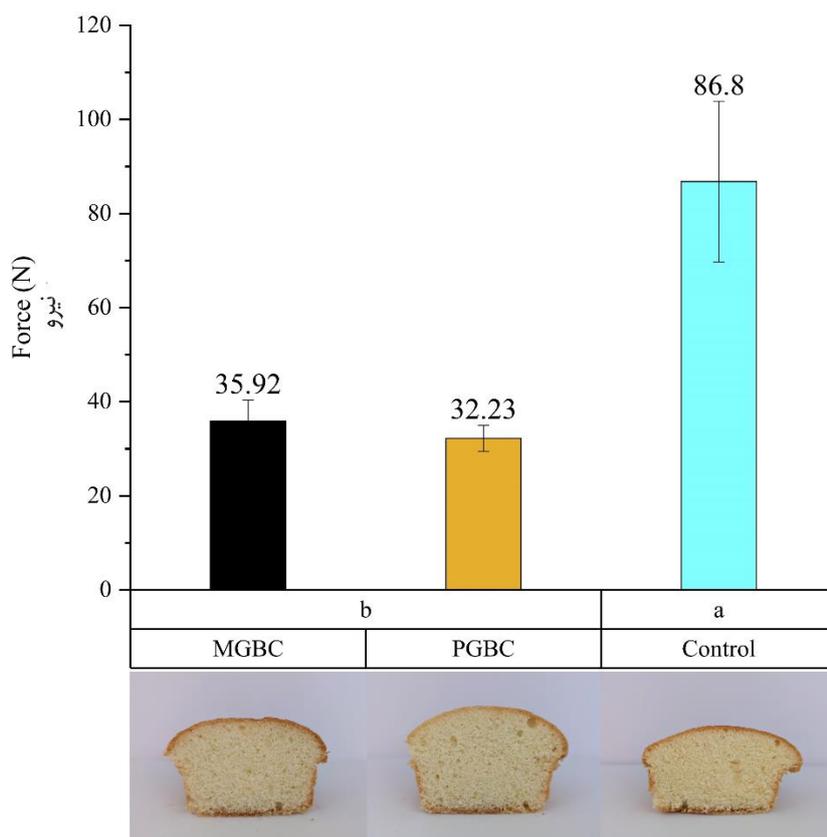
پذیرش مصرف‌کننده برای تعیین کیفیت یک محصول حائز اهمیت است (Zarzycki *et al.*, 2022). میانگین نتایج پارامترهای حسی (رنگ، طعم، بافت و پذیرش کلی) برای کیک‌های کره‌ای حاوی اولئوژل و کره (به‌عنوان شاهد) در شکل ۷ ارائه شده است. در پارامتر بافت هر دو کیک تهیه‌شده از اولئوژل امتیاز بالاتری از کیک شاهد گرفتند که با نتایج آزمون فشردن مطابقت داشت و هر دو نرم‌تر از کیک شاهد بودند. سو و همکاران (Su *et al.*, 2023) نیز در مطالعه‌ی خود که در مورد جایگزین کردن کامل کره با پیکرینگ امولسیون تولیدشده از اوآلبومین-فرولیک اسید-کاراگینان در فرمولاسیون نان بود؛ گزارش دادند که نان دارای پیکرینگ امولسیون در پارامتر بافت، امتیاز بالاتری از نمونه‌ی شاهد گرفت و دلیل آن را به نرم‌تر بودن این نان نسبت

#### ارزیابی سفتی کیک کره‌ای

بافت کیک یک عامل مهم در کیفیت و پذیرش آن توسط مصرف‌کنندگان است (Chen *et al.*, 2023). برای بررسی تأثیر نوع اولئوژلاتور و همچنین جایگزینی کامل کره بر بافت کیک کره‌ای آزمون فشردن انجام شد و حداکثر نیرو در این آزمون به‌عنوان سفتی ثبت شد. طبق شکل ۶ کیک شاهد دارای بالاترین سفتی بود و اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) با دو نمونه‌ی دیگر داشت؛ زیرا کره به‌علت داشتن بخش جامد کمتر، موجب تولید خمیر با ویسکوزیته‌ی پایین‌تری شده و به‌دلیل ناتوانی در حفظ حباب‌های هوا باعث سفت‌تر شدن بافت کیک می‌شود (Fearon, 2011; Weeragul & Pandolsook, 2022). همچنین کیک‌های فرموله‌شده با اولئوژل به‌طور قابل توجهی نرم‌تر بودند که می‌توان به داشتن خاصیت امولسیفایری اولئوژلاتورها و سفتی اولئوژل‌های استفاده‌شده در فرمولاسیون نسبت داد. سفت‌تر بودن چربی باعث حفظ بیشتر حباب‌های هوا شده و باعث نرم‌تر شدن کیک می‌شود. به‌طوری‌که در مطالعه‌ی بادم و همکاران (Badem & Baştürk, 2023) نرم‌تر شدن بافت کیک فرموله‌شده با اولئوژل، با افزایش درصد موم به‌عنوان اولئوژلاتور (سفت‌تر شدن اولئوژل) مشاهده شد. همچنین کیک تولیدشده در مطالعه‌ی آلوارز-رامیرز و همکاران (Alvarez-Ramirez, Vernon-Carter, Carrera-Tarela, Garcia, & Roldan-Cruz, 2020) به‌دلیل جایگزین کردن کامل کره با اولئوژل بر پایه‌ی موم کاندلیلا، بافت نرم‌تری داشت. ازسوی‌دیگر به‌دلیل اینکه مونوگلیسرید و پلی‌گلیسرول‌استر امولسیفایر هستند، می‌توانند به‌طور مؤثری حباب‌های هوای بیشتری را در طول فرآیند هم‌زدن به خمیرها وارد کنند و از این طریق نیز باعث نرمی بافت کیک شوند (Chen *et al.*

کنار هدونیک می‌تواند راه‌گشا باشد. در انتها PGBC بالاترین امتیاز را در پارامتر پذیرش کلی و رنگ به خود اختصاص داد. همچنین MGBC و کیک شاهد امتیاز یکسانی را در پذیرش کلی کسب کردند. بنابراین می‌توان گفت اولئوژل‌های بر پایه‌ی مونوگلیسرید و پلی‌گلیسرول‌استر، می‌توانند به‌عنوان جایگزین کامل کره در فرمولاسیون کیک کره‌ای مورد استفاده قرار گیرند.

دادند. از لحاظ طعم نیز این نتیجه تکرار شد و کیک شاهد پایین‌ترین امتیاز را گرفت. به‌دلیل جایگزینی کامل اولئوژل با کره در فرمولاسیون کیک و همچنین استفاده از روغن پرس سرد بادام‌زمینی در فرمولاسیون اولئوژل‌ها، ممکن است دریافت امتیاز پایین کیک شاهد ناشی از ذائقه یا علاقه‌ی ارزیاب‌ها باشد؛ به‌طوری‌که طعم بادام‌زمینی را به کره ترجیح دادند. بنابراین استفاده از ارزیاب‌های تخصصی و ارزیابی توصیفی در



شکل ۶- شکل ظاهری و مقادیر سفتی کیک‌های کره‌ای

حروف متفاوت نشان‌دهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است ( $p < 0.05$ ).

Control: کیک کره‌ای تهیه‌شده با کره، MGBC: کیک کره‌ای تهیه‌شده با اولئوژل بر پایه‌ی مونوگلیسرید، PGBC: کیک کره‌ای تهیه‌شده با اولئوژل بر پایه‌ی پلی‌گلیسرول‌استر

Fig. 6. Visual appearance and firmness values of butter cakes

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

Butter cake prepared using butter (Control), monoglyceride based oleogel (MGBC), polyglycerol ester based oleogel (PGBC)

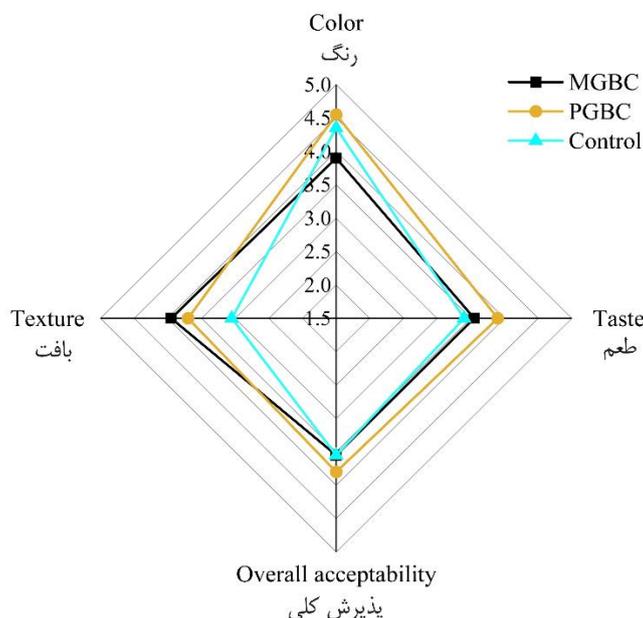
وجود برهم‌کنش‌های غیر کووالانسی را در تشکیل ژل تأیید کرد. تصاویر میکروسکوپی نیز تفاوت در ریزساختار کریستال‌ها را نشان داد و ثابت کرد که خواص ماکروسکوپی اولئوژل‌ها تا حد زیادی به نوع و شکل کریستال آن‌ها بستگی دارد. تمامی اولئوژل‌ها در مقایسه با روغن خالص، افزایش آهسته‌تری در عدد پراکسید طی ۳۰ روز نگهداری نشان دادند. مهم‌تر از همه، استفاده از این اولئوژل‌ها در کیک کره‌ای نشان داد که نمونه‌های حاوی اولئوژل‌های مونوگلیسرید و پلی‌گلیسرول‌استر، به‌ترتیب امتیاز پذیرش کلی برابر و حتی بالاتر از نمونه‌ی شاهد (کیک

## نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، نوع اولئوژلاتور تأثیر به‌سزایی بر خصوصیات فیزیکی-شیمیایی و ساختاری اولئوژل‌ها داشت. اولئوژل تهیه‌شده با مونوگلیسرید بالاترین ظرفیت نگهداری روغن، بیشترین پایداری حرارتی و سفت‌ترین بافت را از خود نشان داد. اولئوژل بر پایه‌ی پلی‌گلیسرول‌استر نیز عملکرد مطلوبی داشت، ولی اولئوژل بر پایه‌ی اسپن ۶۰ پتانسیل بالایی برای استفاده به‌عنوان جایگزین چربی نشان نداد. تغییرات مشاهده‌شده در طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه،

فرمولاسیون کیک‌های کره‌ای، با حفظ یا بهبود ویژگی‌های کیفی محصول نهایی، ضمن کاهش اسیدهای چرب اشباع و ترانس، اثبات می‌کند.

حاوی کره) کسب کردند و همچنین بافت آن‌ها نرم‌تر بود. بنابراین، یافته‌های این مطالعه به روشنی پتانسیل بالای اولئوژل‌های بر پایه‌ی مونوگلیسرید و پلی‌گلیسرول‌استر را برای جایگزینی کامل کره در



شکل ۷- پارامترهای ارزیابی حسی کیک‌های کره‌ای

Control: کیک کره‌ای تهیه‌شده با کره، MGBC: کیک کره‌ای تهیه‌شده با اولئوژل بر پایه‌ی مونوگلیسرید، PGBC: کیک کره‌ای تهیه‌شده با اولئوژل بر پایه‌ی پلی‌گلیسرول‌استر

Fig. 7. Sensory evaluation parameters of butter cakes

Butter cake prepared using butter (Control), monoglyceride based oleogel (MGBC), polyglycerol ester based oleogel (PGBC)

### میزان مشارکت نویسندگان

نجیبی حسینی: مدیریت داده‌ها، تحقیق و بررسی، نرم‌افزار، نوشتن - پیش‌نویس اصلی، قنبرزاده: مفهوم‌سازی، تأمین مالی، مدیریت پروژه، نظارت، منابع، نوشتن - بررسی و ویرایش.

### منابع تأمین مالی

این تحقیق هیچ کمک مالی خاصی از سازمان‌های تأمین مالی در بخش‌های عمومی، تجاری یا غیر انتفاعی دریافت نکرد.

### سپاسگزاری

بدین وسیله از آزمایشگاه بیوفیزیک و مهندسی مواد غذایی صمیمانه قدردانی می‌کنم و بر خود واجب می‌دانم تا از دوستان گران‌قدم، آقایان حامد حسن‌زاده، دیده‌ور، روشن‌دوست، رادخواه و فرهنگ، همچنین خانم‌ها نیر کریمی، علمی، باقری، نوینی، آذری و خداپرست صمیمانه سپاسگزاری نمایم.

با وجود نتایج امیدوارکننده، این پژوهش با محدودیت‌هایی مواجه بود که زمینه را برای تحقیقات آتی فراهم می‌آورد. دامنه‌ی مطالعه به یک نوع روغن (بادام‌زمینی پرس سرد) و سه نوع امولسیفایر در یک غلظت مشخص (۱۲ درصد) محدود بود. علاوه‌براین، ارزیابی خواص بافتی و حسی می‌توانست کامل‌تر باشد؛ به‌عنوان مثال، استفاده از آزمون‌های رئولوژیکی برای اولئوژل‌ها و آنالیز پروفایل بافت (TPA) برای کیک، درک عمیق‌تری از خواص مکانیکی ارائه می‌داد و بهره‌گیری از پنل‌های تخصصی‌تر و ارزیابی توصیفی، به اعتبارسنجی دقیق‌تر نتایج کمک می‌نمود. از دیگر محدودیت‌ها، نیاز به بهینه‌سازی فرآیند تولید برای به حداقل رساندن اکسیداسیون بود که در نتایج اندازه‌گیری عدد پراکسید مشهود بود. همچنین، پایداری بلندمدت کیک‌های نهایی از نظر بیاتی و حفظ ویژگی‌های حسی در طول دوره‌ی نگهداری بررسی نشد. در نهایت، پیشنهاد می‌شود برای پژوهش‌های آتی، عملکرد این اولئوژل‌ها به‌عنوان جایگزین چربی در سایر فرآورده‌های نانوبی و همچنین کره‌ی بادام‌زمینی نیز مورد ارزیابی قرار گیرد.

### References

1. Alvarez-Ramirez, J., Vernon-Carter, E., Carrera-Tarela, Y., Garcia, A., & Roldan-Cruz, C. (2020). Effects of candelilla wax/canola oil oleogel on the rheology, texture, thermal properties and in vitro starch digestibility of wheat sponge cake bread. *LWT-Food Science and Technology*, 109701, 130. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109701>
2. Amoah, C., Lim, J., Jeong, S., & Lee, S. (2017). Assessing the effectiveness of wax-based sunflower oil oleogels in cakes as a shortening replacer. *LWT-Food Science and Technology*, 86, 430–437. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.021>
3. Ang, E.M., Abdullah, N., Muhammad, N., & Lizardo, R.C.M. (2017). Effect of formulation with papaya sauce as fat replacer on butter cake texture. *Journal of Science and Technology*, 9(4).
4. Arrieira, N.M., de Ávila, M.T., Flores, W.H., Michelon, M., Duarte, S.H., & Burkert, J.F.D.M. (2025). Oleogels based on carotenoid-rich microbial oil produced by *R. mucilaginosa* in agro-industrial by-products. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 48(2), 275–286. <https://doi.org/10.1007/s00449-024-03108-y>
5. Badem, Ş., & Baştürk, A. (2023). Oxidative stability and characterization of oleogels obtained from safflower oil-based beeswax and rice bran wax and their effect on the quality of cake samples. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 100(8), 635–649. <https://doi.org/10.1002/aocs.12694>
6. Banerjee, D., Sengupta, S., Sahu, D., Ghosh, S., Neelapu, B.C., Mitra, A.K., Sarkar, P., Dutta, D., Demina, T.S., Pal, K. (2025). Optical and structural modifications in stearyl alcohol oleogels induced by soylecithin. *Crystal Growth & Design*, 25(7), 2043–2055. <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.4c01638>
7. Barroso, N.G., Okuro, P.K., Cerqueira, M.Â.P.R., & Cunha, R.L. (2024). Unveiling the formation capacity of multicomponent oleogels :Performance of lecithin interacting with monostearate derivatives. *Food Research International*, 187, 114430. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114430>
8. Behera, B., Patil, V., Sagiri, S., Pal, K., & Ray, S. (2012). Span-60-based organogels as probable matrices for transdermal/topical delivery systems. *Journal of Applied Polymer Science*, 125(2), 852–863. <https://doi.org/10.1002/app.35674>
9. Bharti, D., Kim, D., Cerqueira, M.A., Mohanty, B., Habibullah, S., Banerjee, I., & Pal, K. (2021). Effect of biodegradable hydrophilic and hydrophobic emulsifiers on the oleogels containing sunflower wax and sunflower oil. *Gels*, 7(3), 133. <https://doi.org/10.3390/gels7030133>
10. Bublin, M., & Breiteneder, H. (2014). Cross-reactivity of peanut allergens. *Current Allergy and Asthma Reports*, 14, 1–12. <https://doi.org/10.1007/s11882-014-0426-8>
11. Buitimea-Cantúa, N., Serna-Saldívar, S., Pérez-Carrillo, E., Jordânia-Silva, T., Barrera-Arellano, D., & Buitimea-Cantúa, G. (2022). Textural and rheological properties of soybean oil organogels structured with polyglycerol and propylene glycol esters during storage. *Grasas y Aceites*, 73(1), e443–e443. <https://doi.org/10.3989/gya.1001202>
12. Caponio, F., Paradiso, V., Bruno, G., Summo, C., Pasqualone, A., & Gomes, T. (2011). Do monoacylglycerols act as pro-oxidants in purified soybean oil? Evidence of a dose-dependent effect. *Italian Journal of Food Science*, 23(3), 239. <https://doi.org/10.1021/jf5025888>
13. Cerqueira, M.A., Fasolin, L.H., Picone, C.S., Pastrana, L.M., Cunha, R.L., & Vicente, A.A. (2017). Structural and mechanical properties of organogels: Role of oil and gelator molecular structure. *Food Research International*, 96, 161–170. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.03.021>
14. Chen, X., Ding, S., Chen, Y., Lan, D., Wang, W., & Wang, Y. (2023). Assessing the effectiveness of peanut diacylglycerol oil-ethylcellulose/monoglyceride-based oleogel in sponge cake as a margarine replacer. *Food Bioscience*, 55, 102959. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102959>
15. Chen, X., Zhu, J., Tian, D., & Li, Z. (2024). Preparation of soybean protein isolate–ester emulsifier oleogels and comparative study of their structure and properties. *Food Chemistry*, 461, 140927. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140927>
16. Davidovich-Pinhas, M., Barbut, S., & Marangoni, A. (2015). The role of surfactants on ethylcellulose oleogel structure and mechanical properties. *Carbohydrate Polymers*, 127, 355–362. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.03.085>
17. de Oliveira, G.M., Stahl, M.A., Ribeiro, A.P.B., Grimaldi, R., Cardoso, L.P., & Kieckbusch, T.G. (2015). Development of zero trans/low sat fat systems structured with sorbitan monostearate and fully hydrogenated canola oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117(11), 1762–1771. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400559>
18. Demirkesen, I., & Mert, B. (2020). Recent developments of oleogel utilizations in bakery products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(14), 2460–2479. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1649243>
19. Dimakopoulou-Papazoglou, D., Giannakaki, F., & Katsanidis, E. (2023). Structural and physical characteristics of mixed-component oleogels: Natural wax and monoglyceride interactions in different edible oils. *Gels*, 9(8), 627. <https://doi.org/10.3390/gels9080627>

20. Dominguez, M., Carrin, M.E., & Palla, C.A. (2024). Structuring PUFA-rich oils with monoglycerides: Physicochemical and nutritional properties of fat substitutes with high-lipid quality. *Food Bioscience*, 60, 104107. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104107>
21. Dun, Q., Yao, L., Deng, Z., Li, H., Li, J., Fan, Y., & Zhang, B. (2019). Effects of hot and cold-pressed processes on volatile compounds of peanut oil and corresponding analysis of characteristic flavor components. *LWT-Food Science and Technology*, 112, 107648. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.084>
22. Fasolin, L.H., Cerqueira, M., Pastrana, L., Vicente, A., & Cunha, R. (2018). Thermodynamic, rheological and structural properties of edible oils structured with LMOGs: Influence of gelator and oil phase. *Food Structure*, 16, 50–58. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2018.03.003>
23. Fearon, A.M. (2011). Butter and butter products. *Dairy Ingredients for Food Processing*, 199–223. <https://doi.org/10.1002/9780470959169.ch9>
24. Feng, Z., He, D., Zhang, L., Li, Q., Xue, C., Yi, X., Liao, L., Pei, Z., & Shen, X. (2025). Preparation of myofibrillar protein oleogels by emulsion template method: Application of fat substitute for sponge cakes. *LWT-Food Science and Technology*, 216, 117350. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2025.117350>
25. Gao, Z., Zhang, C., Wu, Y., Chen, F., Hu, B., Wang, R., Yang, J., & Nishinari, K. (2022). Composite oleogels formed by cellulose particles and sorbitan acid esters. *Food Structure*, 31, 100242. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2021.100242>
26. Ghan, S.Y., Siow, L.F., Tan, C.P., Cheong, K.W., & Thoo, Y.Y. (2020). Influence of soya lecithin, sorbitan and glyceryl monostearate on physicochemical properties of organogels. *Food Biophysics*, 15(3), 386–395. <https://doi.org/10.1007/s11483-020-09633-z>
27. Ghan, S.Y., Siow, L.F., Tan, C.P., Cheong, K.W., & Thoo, Y.Y. (2022). Palm olein organogelation using mixtures of soy lecithin and glyceryl monostearate. *Gels*, 8(1), 30. <https://doi.org/10.3390/gels8010030>
28. Giacomozzi, A.S., Carrin, M.E., & Palla, C.A. (2018). Muffins elaborated with optimized monoglycerides oleogels: From solid fat replacer obtention to product quality evaluation. *Journal of Food Science*, 83(6), 1505–1515. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14174>
29. Giacomozzi, A.S., Carrin, M.E., & Palla, C.A. (2023). Muffins made with monoglyceride oleogels: Impact of fat replacement on sensory properties and fatty acid profile. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 100(4), 343–349. <https://doi.org/10.1002/aocs.12674>
30. Giacomozzi, A.S., Palla, C.A., Carrin, M.E., & Martini, S. (2019). Physical properties of monoglycerides oleogels modified by concentration, cooling rate, and high-intensity ultrasound. *Journal of Food Science*, 84(9), 2549–2561. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14762>
31. Güneşer, B.A., Yılmaz, E., & Ok, S. (2017). Cold pressed versus refined winterized corn oils: quality, composition and aroma. *Grasas y Aceites*, 68(2), e194–e194. <https://doi.org/10.3989/gya.1168162>
32. Hafiz, S., Sadeghizadeh-Yazdi, J., Eskandari, S., Morokian, R., Akramzade, N., & Madadzadeh, F. (2025). Physicochemical, rheological, sensory properties and shelf life of processed cheese analogue prepared with oleogel sesame oil and mono-and di-glyceride (E471). *Food Chemistry*, 470, 142467. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.142467>
33. Hasenhuettl, G.L., & Hartel, R.W. (2008). *Food emulsifiers and their applications* (Vol. 19): Springer.
34. Hwang, H.S., Kim, S., Winkler-Moser, J.K., Lee, S., & Liu, S.X. (2022). Feasibility of hemp seed oil oleogels structured with natural wax as solid fat replacement in margarine. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 99(11), 1055–1070. <https://doi.org/10.1002/aocs.12619>
35. Jang, A., Bae, W., Hwang, H.-S., Lee, H.G., & Lee, S. (2015). Evaluation of canola oil oleogels with candelilla wax as an alternative to shortening in baked goods. *Food Chemistry*, 187, 525–529. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.110>
36. Lee, S. (2018). Utilization of foam structured hydroxypropyl methylcellulose for oleogels and their application as a solid fat replacer in muffins. *Food Hydrocolloids*, 77, 796–802. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.11.022>
37. Li, J., Guo, R., Bi, Y., Zhang, H., & Xu, X. (2021). Comprehensive evaluation of saturated monoglycerides for the forming of oleogels. *LWT-Food Science and Technology*, 151, 112061. In Press. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112061>
38. Li, J., Xiao, Y., Guo, R., Bi, Y., Zhang, H., & Xu, X. (2024). Enhancing the long-term stability of glyceryl monostearate-based oleogels by incorporating hydroxy monoglyceride as an additional scaffolding agent. *LWT-Food Science and Technology*, 214, 117154. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.117154>
39. Liu, P., Pei, H., Shen, J., Xu, C., & Zhao, H. (2024). Effect of surfactin on the properties of glycerol monostearate-Based oleogels. *Food Structure*, 40, 100370. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2024.100370>
40. Lupi, F., Mancina, V., Baldino, N., Parisi, O., Scrivano, L., & Gabriele, D. (2018). Effect of the monostearate/monopalmitate ratio on the oral release of active agents from monoacylglycerol organogels. *Food & Function*, 9(6), 3278–3290. <https://doi.org/10.1039/C8FO00594J>

41. Malvano, F., Albanese, D., Cinquanta, L., Liparoti, S., & Marra, F. (2024). A comparative study between beeswax and glycerol monostearate for food-grade oleogels. *Gels*, *10*(4), 214. <https://doi.org/10.3390/gels10040214>
42. Malvano, F., Laudisio, M., Albanese, D., d'Amore, M., & Marra, F. (2022). Olive oil-based oleogel as fat replacer in a sponge cake: A comparative study and optimization. *Foods*, *11*(17), 2643. <https://doi.org/10.3390/foods11172643>
43. Meng, Z., Guo, Y., Wang, Y., & Liu, Y. (2019). Organogels based on the polyglyceryl fatty acid ester and sunflower oil: Macroscopic property, microstructure, interaction force, and application. *LWT-Food Science and Technology*, *116*, 108590. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108590>
44. Meng, X., Wang, H., Lu, Y., Yu, N., & Ye, Q. (2024). The gelation characteristics of *Torreya grandis* wax in diacylglycerol and its preparation of oleogel substitution for shortening. *International Journal of Biological Macromolecules*, *271*, 132592. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.132592>
45. Monto, A.R., Yuan, L., Xiong, Z., Shi, T., Li, M., Wang, X., Jin, W., Li, J., Gao, R. (2023).  $\alpha$ -tocopherol stabilization by soybean oil and glyceryl monostearate made oleogel: Dynamic changes and characterization for food application. *LWT-Food Science and Technology*, *187*, 115325. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115325>
46. Nguyen Doan Mai, H., Phan Thi Lan, K., Techapun, C., Leksawasdi, N., Taesuwan, S., Hanprom, N., & Khemacheewakul, J. (2023). Quality evaluation of butter cake prepared by substitution of wheat flour with green soybean (*Glycine max* L.) okara. *Journal of Culinary Science & Technology*, *21*(4), 606–619. <https://doi.org/10.1080/15428052.2021.1978363>
47. Palla, C., & Carrín, M.E. (2024). Monoglyceride Oleogels. In *Advances in Oleogel Development, Characterization, and Nutritional Aspects* (pp. 115–131): Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-46831-5\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-031-46831-5_5)
48. Palla, C., Dominguez, M., & Carrín, M. (2022). An overview of structure engineering to tailor the functionality of monoglyceride oleogels. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *21*, 2587–2614. In Press. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12930>
49. Pancharoen, S., Leelawat, B., & Vattanukul, S. (2019). Using texture properties for clustering butter cake from various ratios of ingredient combination. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *13*, 34–42. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9916-z>
50. Prodromidis, P., Biliaderis, C.G., Katsanidis, E., & Moschakis, T. (2023). Effect of tween 20 on structure, phase-transition behavior and mechanical properties of monoglyceride oleogels. *Food Structure*, *38*, 100345. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2023.100345>
51. Sagiri, S.S., Kasiviswanathan, U., Shaw, G.S., Singh, M., Anis, A., & Pal, K. (2016). Effect of sorbitan monostearate concentration on the thermal, mechanical and drug release properties of oleogels. *Korean Journal of Chemical Engineering*, *33*, 1720–1727. <https://doi.org/10.1007/s11814-015-0295-4>
52. Silva, R.C.D., Ferdaus, M.J., Foguel, A., & da Silva, T.L.T. (2023). Oleogels as a fat substitute in food: A current review. *Gels*, *9*(3), 180. <https://doi.org/10.3390/gels9030180>
53. Singh, V.K., Pramanik, K., Ray, S.S., & Pal, K. (2015). Development and characterization of sorbitan monostearate and sesame oil-based organogels for topical delivery of antimicrobials. *Aaps Pharmscitech*, *16*, 293–305. <https://doi.org/10.1208/s12249-014-0223-7>
54. Soares, M.G., Okuro, P.K., da Silva, M.F., Goldbeck, R., & Cunha, R.L. (2025). Ultra-long-chain sorbitol esters tailoring thermo-responsive rheological properties of oleogels. *Foods*, *14*(6), 1030.
55. Su, T., Zhang, E., Yang, Y., Zheng, T., Xin, T., Dong, L., Huang, F., & Su, D. (2023). Utilization of ovalbumin-ferulic acid-carrageenan Pickering emulsion in baked bread for butter reduction: Bread microstructural properties and quality. *LWT-Food Science and Technology*, *185*, 115124. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115124>
56. Sun, H., Xu, J., Lu, X., Xu, Y., Regenstein, J. M., Zhang, Y., & Wang, F. (2022). Development and characterization of monoglyceride oleogels prepared with crude and refined walnut oil. *LWT-Food Science and Technology*, *154*, 112769. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112769>
57. Swe, M.T.H., & Asavapichayont, P. (2018). Effect of silicone oil on the microstructure, gelation and rheological properties of sorbitan monostearate–sesame oil oleogels. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, *13*(5), 485–497. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2018.04.006>
58. Trujillo-Ramírez, D., Lobato-Calleros, C., Vernon-Carter, E.J., & Alvarez-Ramirez, J. (2019). Cooling rate, sorbitan and glyceryl monostearate gelators elicit different microstructural, viscoelastic and textural properties in chia seed oleogels. *Food Research International*, *119*, 829–838. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.066>
59. Uslu, E.K., & Yilmaz, E. (2021). Preparation and characterization of oleogels with tallow and partially hydrolyzed tallow as organogelators. *Grasas y Aceites*, *72*(1), e388–e388. <https://doi.org/10.3989/gya.1031192>
60. Uvanesh, K., Sagiri, S., Senthilguru, K., Pramanik, K., Banerjee, I., Anis, A., Al-Zahrani, S., & Pal, K. (2016). Effect of Span 60 on the microstructure, crystallization kinetics, and mechanical properties of stearic acid Oleogels: An in-depth analysis. *Journal of Food Science*, *81*(2), E380–E387. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13170>

61. Wang, Z., Chandrapala, J., Truong, T., & Farahnaky, A. (2023). Oleogels prepared with low molecular weight gelators: Texture, rheology and sensory properties, a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(23), 6069–6113. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2027339>
62. Weeragul, K., & Pandolsook, S. (2022). Effects of manufacturing conditions on physical characteristics of recombined butter and quality of butter and sponge cakes. *Journal of Culinary Science & Technology*, 20(3), 197–212. <https://doi.org/10.1080/15428052.2020.1824831>
63. Wei, X., Xia, R., Wei, C., Shang, L., An, J., & Deng, L. (2024). The impact of beeswax and glycerol monolaurate on camellia oil oleogel's formulation and application in food products. *Molecules*, 29(13), 3192. <https://doi.org/10.3390/molecules29133192>
64. Yılmaz, E., & Öz, C. (2024). Utilization of hazelnut oil oleogels for the preparation of milk couverture type compound chocolates: Composition, properties, and sensory evaluations. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 101(12), 1401–1416. <https://doi.org/10.1002/aocs.12850>
65. Yilmaz, E., & Uslu, E.K. (2020). Comparison of the glycerol monostearate and polyglycerol stearate oleogels: Effects of amphiphile addition. *Authorea Preprints*. <https://doi.org/10.22541/au.158775697.74846507>
66. Yin, W.-t., Maradza, W., Xu, Y.-f., Ma, X.-t., Shi, R., Zhao, R.-y., & Wang, X.-d. (2022). Comparison of key aroma-active composition and aroma perception of cold-pressed and roasted peanut oils. *International Journal of Food Science and Technology*, 57(5), 2968–2979. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15615>
67. Zarzycki, P., Wirkijowska, A., Nawrocka, A., Kozłowicz, K., Krajewska, M., Kłosok, K., & Krawęcka, A. (2022). Effect of Moldavian dragonhead seed residue on the baking properties of wheat flour and bread quality. *LWT-Food Science and Technology*, 155, 112967. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112967>
68. Zhang, Y., Xu, J., Tang, C., & Li, Y. (2023). Crystallization behavior and physical properties of monoglycerides-based oleogels as function of oleogelator concentration. *Foods*, 12(2), 345. <https://doi.org/10.3390/foods12020345>
69. Zhao, S., Zhu, Y., Zhang, L., Hu, F., Xu, W., Zheng, M., Zhou, Y., Li, S. (2025). The structuring mechanism and in vitro digestion of novel EPA-rich medium-and long-chain triacylglycerol oleogels. *LWT-Food Science and Technology*, 215, 117299. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.117299>
70. Zulfıqar, A., Shabbir, M.A., Tahir, F., Khan, M.R., Ahmed, W., Yıkımsı, S., Manzoor, M., Abdi, G., Aadil, R .M. (2024). Development of oleogel by structuring the blend of corn oil and sunflower oil with beeswax to replace margarine in cookies. *Food Chemistry: X*, 23, 101676. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101676>

## Investigation of the Effect of Post-harvest Treatment with Water and Disinfectant Agents Activated by Cold Plasma on Certain Physicochemical Properties of Oranges

S.F. Hossieni<sup>1</sup>, S.J. Hashemi<sup>1\*</sup>, A. Ranjbar Nedamani<sup>1</sup>, F. Sohbatzadeh<sup>2</sup>

1- Mechanic of Biosystem Department, Sari Agricultural and Natural Resources University, Sari, Iran

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

2- Department of Atomic and Molecular Physics, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

Received: 01.07.2025  
Revised: 07.09.2025  
Accepted: 14.09.2025  
Available Online: 16.11.2025

### How to cite this article:

Hossieni, S.F., Hashemi, S.J., Ranjbar Nedamani, A., & Sohbatzadeh, F. (2025). Investigation of the effect of post-harvest treatment with water and disinfectant agents activated by cold plasma on certain physicochemical properties of oranges. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 21(5), 497-510. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/ifstrj.2025.94222.1452>

### Introduction

Citrus fruits are among the world's most widely cultivated crops, owing to their rich content of vitamins, minerals, and dietary fiber. Mechanical damage during harvesting and transportation can promote the growth of bacteria and fungi, increasing postharvest losses. The use of fungicides and chemicals to mitigate these damages raises environmental concerns. Modern technology and practical development are required to ensure maintaining healthy food, environmental preservation, and food quality without altering its properties. In this study, the effect of plasma technology applied on hydrogen peroxide solution, and comparing it with a fungicide-hot-water treatment and a hydrogen peroxide solution without plasma, on the physicochemical properties of Moro cultivar blood oranges were investigated.

### Materials and Methods

This study involved four treatments: hydrogen peroxide solution (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), plasma-activated hydrogen peroxide (PH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), fungicide-hot water (WT; hot water with fungicide), and a control (C). Treatments were applied on days 0, 15, 30, 45, and 75 (D0–D75) during storage. Changes in pH, total soluble solids (TSS), total acidity (TA), vitamin C content, firmness, weight loss percentage, ripening index (TSS/TA), and color variations in both the fruit and juice were determined.

### Results and Discussion

The results showed that PH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> samples had the lowest pH and the highest acidity, indicating a slowdown in fruit aging. By the end of storage period, there was no significant difference in pH between the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and WT samples. Vitamin C content was higher in samples treated with fungicide-hot-water; however, the PH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment did not reduce vitamin C levels compared to the control. Total soluble solids increased in all treatments during storage period, with the greatest change observed in WT. All treatments maintained fruit firmness, although weight loss was higher in WT. The optimal storage time for samples treated with PH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> extended to day 45, showing the most favorable effects on the physicochemical properties of oranges.

### Conclusion

In summary, hydrogen peroxide and plasma-activated hydrogen peroxide effectively contribute to controlling and reducing the viability of the green mold *Penicillium digitatum*, which is in consist with previous studies.



Authors retain the copyright. 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/).

<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2025.94222.1452>

Considering environmental and human health concerns associated with fungicides, as well as the higher cost of fungicides compared with plasma- and hydrogen peroxide-based approaches, the hydrogen peroxide-plasma treatment shows promise as an alternative to fungicide-treatment strategy, with positive impacts on certain quality traits of orange juice.

**Keywords:** Cold plasma, Hydrogen peroxide, Fungicide, Orange

مقاله پژوهشی

جلد ۲۱، شماره ۵، آذر- دی ۱۴۰۴، ص. ۵۱۰-۴۹۷

## بررسی تأثیر تیمار پس از برداشت با آب و مواد ضد عفونی فعال شده با پلاسما سرد بر برخی خواص فیزیکوشیمیایی پرتقال

سیده فاطمه حسینی<sup>۱</sup> - سید جعفر هاشمی<sup>۱\*</sup> - آزاده رنجبر ندامانی<sup>۱</sup> - فرشاد صحبت زاده<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۲۳

### چکیده

مرکبات منابعی غنی از ویتامین، مواد معدنی و فیبر غذایی فراوان بوده و جزو محبوب‌ترین میوه‌ها در جهان هستند. آسیب‌های مکانیکی در فرآیند برداشت و حمل‌ونقل منجر به رشد میکروارگانیسم‌ها و قارچ‌ها و در نتیجه افزایش ضایعات این محصولات می‌شود. استفاده از قارچ‌کش‌ها و مواد شیمیایی برای کاهش این آسیب‌ها، نگرانی‌های زیست‌محیطی را به همراه دارد، بنابراین استفاده از روشی جایگزین که دوستدار محیط‌زیست بوده و قابلیت توسعه پایدار در فرآوری مواد غذایی را با مصرف کمتری از آب و انرژی داشته باشد، ضروری است. در این پژوهش اثر محلول پراکسید هیدروژن فعال شده با پلاسما سرد و مقایسه آن با اثر قارچ‌کش و محلول پراکسید هیدروژن روی پرتقال خونی رقم مورو در شرایط انبارمانی «طی ۷۵ روز» در روزهای ۰، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۷۵ مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج نشان داد تیمار پرتقال با پراکسید هیدروژن- پلاسما باعث کاهش روند پیری میوه شد؛ زیرا این نمونه‌ها کمترین میزان pH و بیشترین اسیدیته را داشتند. تیمار قارچ‌کش- آب گرم موجب حفظ بهتر میزان ویتامین C شد؛ با این حال در مقایسه با نمونه شاهد، تیمار پلاسما سرد اثر منفی بر میزان ویتامین C نداشت. میزان مواد جامد محلول در تمامی تیمارها در طول نگهداری افزایش یافت، اما بیشترین تغییرات در تیمار قارچ‌کش- آب گرم دیده شد. تیمارها باعث حفظ سفتی پرتقال شدند، اما کاهش وزن در نمونه‌های قارچ‌کش- آب گرم بیشتر بود. تیمار پراکسید هیدروژن- پلاسما تغییرات کمتری در شاخص روشنایی «L» نسبت به سایر تیمارها ایجاد کرد. با توجه به خواص ضد میکروبی پلاسما و پراکسید هیدروژن، و نتایج این پژوهش که نشان می‌دهد این محصول تأثیر منفی بر خواص کیفی پرتقال ندارد، بلکه در برخی موارد موجب حفظ بهتر کیفیت نمونه‌ها می‌شود، همچنین با در نظر گرفتن اقتصادی بودن و سازگاری این ترکیب با محیط‌زیست، استفاده از تیمار پلاسما سرد به عنوان جایگزینی مناسب برای قارچ‌کش‌ها پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پراکسید هیدروژن، پرتقال، پلاسما سرد، قارچ‌کش

### مقدمه

(2004). کپک‌ها و قارچ‌ها از بیماری‌های مهم پس از برداشت در مرکبات هستند که در طول دوره نگهداری آسیب‌های زیادی به میوه وارد کرده و موجب افزایش ضایعات پس از برداشت پرتقال می‌شوند (Obagwu & Korsten, 2003). به همین دلیل از روش‌هایی مانند انبار سرد، تیماردهی با آب گرم، استفاده از موم و قارچ‌کش‌ها به عنوان روش‌های مرسوم برای افزایش زمان انبارمانی محصولات باغبانی از

میزان تولید کلی مرکبات در جهان حدود ۱۴۴ هزار تن گزارش شده که حدود ۷۶ هزار تن آن مربوط به پرتقال است (FAO, 2021). میوه‌جاتی مانند مرکبات به اشکال مختلف مورد مصرف قرار می‌گیرند و افزایش ماندگاری آنها در زمان غیر از فصل تولید، با کنترل فساد و بیماری‌های پس از برداشت امکان‌پذیر است (Ismail & Zhang, )

۱- گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران  
(Email: [szhash@yahoo.com](mailto:szhash@yahoo.com)) \* نویسنده مسئول:

۲- گروه فیزیک اتمی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

ماندگاری پرتقال خونی استفاده کردند. کب- گونزالس و همکاران (Queb-González, Lopez-Malo, Sosa-Morales, & Villa-) (Rojas, 2020) نیز گزارش دادند که حمام آب داغ و حرارت دهی با مایکروویو می‌تواند روش مفیدی برای کنترل فساد میوه نارنگی ماندارین باشد؛ اما باعث افت ویتامین ث طی نگهداری خواهد شد (Queb-González et al., 2020). همچنین، استفاده از محلول پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) با ویژگی‌های ضد باکتری قوی و ارزان قیمت با غلظت‌های متفاوت نیز جهت کاهش بار میکروبی و کاهش ضایعات محصولات کشاورزی پیشنهاد شده است (Maktabi, Zarei, & Rashnavady, 2018). طبق گزارش مین لین و همکاران (Lin, Moon, Doyle, & Mcwatters, 2002) تیمار پراکسید هیدروژن ۲٪ و دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد، ماندگاری برگ کاهو را تا ۱۵ روز افزایش داد. کرمی و همکاران (Karami, Rahemi, Yassaie, & Karami, 2023) گزارش دادند تیمار کشمش با پراکسید هیدروژن ۰/۹٪ باعث از بین رفتن آلودگی میکروبی آن شد. برزنونی و همکاران (Barzanouni, Sadrnia, Sohbatzadeh, & Khodavaisy, 2024) گزارش دادند که پراکسید هیدروژن با غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۵٪ موجب کاهش لگاریتمی بار میکروبی کپک سبز در زمان ۱۵ دقیقه شد.

در این بین، پلاسمای سرد یک فناوری نوظهور ضد عفونی غیرحرارتی است که می‌توان بدون مواد شیمیایی از آن جهت نگهداری میوه‌ها در راستای سازگاری با محیط زیست استفاده کرد (Fridman et al., 2008; Tarabová et al., 2021). خواجوند و همکاران (Shakerinasab & Mohsenpour, 2021) به بررسی اثر ضد میکروبی تخلیه سد دی‌الکتریک (DBD) بر ویژگی‌های زعفران پرداخته و میزان کروسین، پیکروسین و سافرانال را بررسی کردند. آنها دریافتند پلاسمای سرد ۱۵ دقیقه‌ای توانست باکتری *اشریشیا کلی* را به طور کامل از زعفران حذف کند (Shakerinasab & Mohsenpour, 2021).

در مطالعه‌ای، آب فعال شده با پلاسما «PAW» تولیدی از گازهای  $Ar/O_2$  «۹۸٪ Ar و ۲٪  $O_2$  در هر حجم» روی توت فرنگی تلقیح شده با باکتری استافیلوکوکوس اورئوس<sup>۴</sup> منجر به کاهش ۱/۶ تا  $\log 2/3$  در روز صفر و ۱/۷ تا  $\log 3/4$  در روز چهارم ذخیره‌سازی شد. علاوه بر این، هیچ تغییر قابل توجهی در رنگ، سفتی و pH توت فرنگی تیمار شده با PAW مشاهده نشد (Ma et al., 2015). همچنین فعال کردن محلول‌های ضد عفونی و ضد میکروبی مانند پراکسید هیدروژن با استفاده از پلاسما موجب هم‌افزایی خواص ضد میکروبی محلول و

جمله پرتقال استفاده می‌شود (Faghieh nasiri, Omidbaigi, Fakhr & Tabatabaie, Arzani, & Zare, 2019).

استفاده از قارچ‌کش برای میوه تازه برداشت شده، از جمله روش‌های بسیار رایجی است که برای جلوگیری از بیماری‌های قارچی محصولات باغی به‌ویژه مرکبات استفاده می‌شود. نیکخواه و گنجی مقدم (Nikkhah & Moghadam, 2005) گزارش دادند که با غوطه‌وری سیب گل‌دن دلشس در محلول قارچ‌کش، ویژگی‌های کیفی و حسی میوه پس از نگهداری شش ماهه در سردخانه حفظ شد. تقی پور و همکاران (Taghipour, Katabchi, & Shorzei, 2012) به بررسی عملکرد باکتری‌های جداسازی شده با استفاده از آب گرم و قارچ‌کش تیابندازول<sup>۱</sup> در جلوگیری از رشد و گسترش بیماری کپک سبز میوه لیموترش پرداختند. آنها گزارش کردند که تیمار قارچ‌کش به‌مدت ۲ دقیقه با ۱۰۰ درصد بازدارندگی، بیشترین تأثیر جلوگیری از رشد و گسترش کپک سبز در میوه لیموترش را داراست. طولانی شدن زمان نگهداری و کاش ضایعات میوه جات طی انبارداری نقطه قوت استفاده از قارچ‌کش‌ها است. اما اثر نامطلوب آن از نظر آلودگی‌های محیط‌زیستی و سلامتی انسان، سبب شد تا روش‌های جایگزین کنترل عوامل افت میوه‌جات پس از برداشت (مانند به‌کارگیری عصاره‌های گیاهی، کیتوزان، پتیرسین و متیل جاسمونات، پرتودهی و پلاسما سرد) مورد بررسی قرار بگیرد. رستگار و طهماسبی (Rastgar & Tahmasabi, 2018) با بررسی تأثیر اسانس گل راعی، مورخوش و سالویا در جلوگیری از رشد قارچ بوتریتیس<sup>۲</sup> در توت‌فرنگی، گزارش کردند که اسانس‌های گیاهی تأثیر معنی‌داری بر حفظ کیفیت و افزایش سفتی میوه توت‌فرنگی داشته و تأثیر آن‌ها بسته به رقم، متفاوت بود (Rastgar & Tahmasabi, 2018). باران زهی و همکاران (Baran Zehi, Gholam Nezhad, Dehestani, Jafari, & Naseri, 2019) عصاره‌های آبی و اتانولی اسطوخودوس، چریش و میخک را به همراه استفاده از موم و کیتوزان با غلظت‌های مختلف استفاده کردند تا اثر آنها بر ماندگاری پرتقال تامسون بررسی کنند. آنها دریافتند طی ۱۰۰ روز نگهداری نمونه‌های پوشش یافته در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد، تیمار موم به همراه عصاره اتانولی اسطوخودوس و همچنین ترکیب تیمار اتانولی میخک و کیتوزان اثر بهتری در افزایش ماندگاری میوه داشتند (Baran Zehi et al., 2019).

روش‌های حرارتی نیز به‌عنوان تیمار پس از برداشت در برخی میوه‌ها و محصولات کشاورزی استفاده می‌شوند. فتاحی مقدم و همکاران (Fattahi, Hashempour, Hamidoghli, & Fotouhi, 2018) از پیش تیمار حرارتی با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد برای افزایش

3- Plasma activated water  
4- *Staphylococcus aureus*

1- Thiabendazole  
2- *Botrytis cinerea*

کیلوولت پیک-تا-پیک با جریان مصرفی ۱/۷ آمپر پلاسما سرد تولید گردید و برای فعال کردن پراکسید هیدروژن استفاده شد. محلول قارچ کش Deccomix با غلظت ۵ میلی گرم در لیتر تهیه و در دستگاه گرمادرمانی «فقانی، ساخت ایران» به دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد رسانده شد. با استفاده از محلول ۳۰٪ حجمی پراکسید هیدروژن یک محلول ۰/۵٪ پراکسید هیدروژن نیز تهیه و سپس دو بخش تقسیم شد. یک بخش از آن برای هر بار استفاده به مقدار ۲۰۰ میلی‌لیتر با استفاده از پلاسما به مدت ۱۵ دقیقه فعال شد. سپس نمونه‌های پرتقال در ۱۰۰ میلی‌لیتر از پراکسید هیدروژن فعال شده، به مدت ۸ دقیقه غوطه‌ور شدند. همچنین به منظور بررسی تأثیرات روش سنتی، نمونه‌های پرتقال در تیمار قارچ‌کش - آب گرم به مدت ۳ دقیقه غوطه‌ور شدند. در تیمار شاهد، نمونه‌ها پس از برداشت با آب شسته و بدون هیچ فرآیندی در شرایط معمولی به عنوان نمونه کنترلی لحاظ شدند. سپس تیمارها در دمای محیط خشک و در کیسه‌های نایلونی بسته‌بندی شدند. تمامی نمونه‌ها به مدت ۷۵ روز جهت بررسی تغییرات در دمای ۲۵°C درون جبهه‌های پلاستیکی و در یک محیط بسته تهویه دار شده و بدون رفت‌وآمد افراد، پایش شدند.

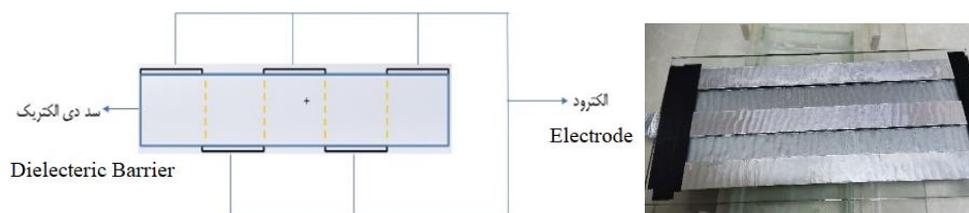
بر اساس برنامه زمان‌بندی، تغییرات pH، مواد جامد محلول «TSS»، اسیدیته کل «TA»، ویتامین ث، سفتی، درصد کاهش وزن، اندیس رسیدگی «TSS/TA»، تغییرات رنگ میوه و آب‌میوه پرتقال مورد ارزیابی قرار گرفت. از یک ترازی آزمایشگاهی «WT500-3G» با دقت ۰/۰۰۱ گرم برای تعیین وزن استفاده شد. آزمون میزان سفتی با استفاده از دستگاه بافت‌سنج صورت گرفت. نیروی مورد نیاز برای فشردگی میوه به میزان ۱۰٪ قطر آن در نظر گرفته شد. از دستگاه pH متر «PB-10SARTORIUS آلمان» برای سنجش pH استفاده شد. مقدار مواد جامد محلول «درجه بریکس» با استفاده از دستگاه رفراکتومتر دیجیتال «سری Huxia D چین» اندازه‌گیری شد. برای سنجش اسیدیته کل «TA» مطابق با استاندارد ملی ایران «شماره ۳۶۸۵» انجام شد (Hosseini, Asghari, & Khezri, 2023). از روش تیتراسیون ید برای اندازه‌گیری ویتامین ث استفاده شد (Barzani, Aghkhani, Moskouki, & Abbaspourfard, 2014).

تأثیر چهار تیمار طراحی شده و زمان انبارمانی بر ویژگی‌های کیفی از جمله ویژگی‌های شیمیایی، فیزیکی و مکانیکی میوه پرتقال در سه تکرار بررسی شد. ارزیابی آماری نتایج به دست آمده با استفاده از طرح فاکتوریل دوعاملی در نرم‌افزار SPSS v.26 انجام شد. برای مقایسه میانگین از آزمون دانکن تا سطح اطمینان ۵٪ استفاده شد.

کاهش نیاز به غلظت‌های بالای این مواد می‌شود. محلول ۰/۱ و ۰/۵ درصد پراکسید هیدروژن فعال شده با پلاسما در زمان ۱۵ دقیقه سبب افزایش اکسیداسیون محلول، توقف کامل رشد قارچ پنیسیلوم و در نتیجه منجر به مرگ سلولی بیشتر اسپورها شد (Barzanouni et al., 2024). محلول H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> با غلظت کم در حدود ۱ تا ۵ درصد برای ضدعفونی در صنایع غذایی و بسته‌بندی مواد غذایی استفاده می‌شود (Parish et al., 2003). با توجه به موارد ذکر شده و اهمیت استفاده از روش‌های سالم زیست‌محیطی و حفظ سلامتی مصرف‌کنندگان مرکبات، هدف از انجام این تحقیق بررسی تأثیر غوطه‌وری نمونه‌های پرتقال خونی در محلول فعال شده با پلاسما سرد و مقایسه آن با روش‌های رایج افزایش انبارمانی پرتقال از جمله قارچ‌کش - آب گرم بر برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی پرتقال خونی است.

## مواد و روش‌ها

این تحقیق شامل چهار تیمار پراکسید هیدروژن «H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>»، پراکسید هیدروژن فعال شده با پلاسما «PH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>»، قارچ‌کش - آب گرم «WT» و شاهد «C» جهت بررسی انبارمانی پرتقال خونی رقم مورو «Moro blood orange» به مدت ۷۵ روز در دمای محیط بود. آزمون‌ها در روزهای ۰، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۷۵ «D75- D0» روی نمونه‌ها صورت گرفت. برای انجام هر تیمار، ۵۰ عدد پرتقال به صورت تصادفی از باغ پرتقال در شهر بابل و با وزن و ابعاد مشابه انتخاب شدند. تمامی ۲۰۰ پرتقال خونی، با آب شسته و در دمای محیط به آرامی خشک شدند. سیستم تولیدکننده پلاسما سد دی‌الکتریک سطحی<sup>۱</sup> «SDB» شامل تعدادی الکتروتخت آلومینیومی که به فاصله ۴ میلی‌متر از یکدیگر قرار گرفته و پلاسما بین لبه دو الکتروتخت مقابل هم ایجاد می‌شود، برای فعال کردن پراکسید هیدروژن استفاده شد. در این سیستم از یک شیشه به عنوان سد دی‌الکتریک استفاده شد (شکل ۱). جهت تولید پلاسما از انرژی یک منبع تغذیه ولتاژ بالا با ۲۴ KV و جریان ۱/۷ A استفاده شد. تمامی مراحل ساخت، تأیید، بررسی و کالیبراسیون دستگاه مطابق استانداردها توسط گروه فیزیک اتمی و مولکولی دانشگاه مازندران انجام شد (Amirabadi, Milani, & Sohbatazadeh, 2020). سیستم تولیدکننده پلاسما سد دی‌الکتریک سطحی «SDB» شامل تعدادی الکتروتخت موازی از جنس آلومینیومی با ضخامت ۲۰۰ میکرومتر که بر روی سمت بالایی یک شیشه تخت با ضخامت ۴ میلی‌متر قرار داده شدند. در سمت پایین شیشه نیز الکتروتخت‌های آلومینیومی موازی مقابل الکتروتخت‌های سطح بالایی قرار داده شدند. فاصله‌هایی الکتروتخت‌های بالایی و پایینی ۲ میلی‌متر تنظیم شد. با اعمال ولتاژ سینوسی ۲۴



شکل ۱- سیستم تولیدکننده پلاسمای سرد  
Fig. 1. Cold plasma generator system

### مقایسه میانگین ویژگی‌های کیفی آب پرتقال

مطابق شکل ۲، تغییرات pH آب میوه طی دوره نگهداری روند متغیری داشته است. در این شکل نشان داده می‌شود که در نمونه‌هایی که با پراکسید هیدروژن و پراکسید هیدروژن-پلاسمای تیمار شده بودند، pH پس از ۱۵ روز کاهش و سپس افزایش یافت. اما مقدار pH نمونه‌ها در روز ۷۵، کمتر از روز صفر بود. در نمونه‌هایی که با آب گرم تیمار شده بودند، pH پس از ۱۵ روز کاهش و سپس تا پاسان روز ۴۵ ام، افزایش و مجدداً کاهش یافت.

در مقایسه با pH روز صفر، در روز ۱۷۵ ام pH تمامی تیمارها به جز شاهد کاهش یافت و از این نظر تفاوت معناداری بین تیمارهای پراکسید هیدروژن و قارچ‌کش-آب‌گرم وجود نداشت. نمونه‌هایی که با پراکسید هیدروژن-پلاسمای تیمار شده بودند، کمترین pH را داشتند که احتمالاً این کاهش به دلیل تشکیل گونه‌های فعال نظیر  $H_2O_2$   $HNO_3$   $ONOOH$  طی اثر پلاسمای سرد و اثر آنها بر pH نمونه باشد (Oehmigen et al., 2010).

از آنجاکه این پژوهش توسط دانشجوی تحصیلات تکمیلی رشته مکانیک بیوسیستم- فناوری پس از برداشت انجام شده است، شرایط بررسی میکروبی در نظر گرفته نشد و تنها تا زمانی که چروکیدگی شدید پوست و افت وزن (به نشانه پیری) و یا آغاز کپک زدن در نمونه‌ها مشاهده شد، انبارداری ادامه یافت. هدف مقایسه زمان انبارداری در مقایسه با تیمار حاوی قارچ‌کش و بررسی حذف قارچ‌کش برای نگهداری مرکبات بود.

### نتایج و بحث

جدول ۱ و ۲ به ترتیب نتایج تحلیل آماری تیمارها و مدت زمان انبارداری میوه پرتقال را نشان می‌دهند. طبق این دو جدول، اثر تیمارهای موردبررسی و همچنین مدت زمان انبارداری میوه‌ها، در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. بعد از بررسی اثر متقابل فاکتورهای مورد مطالعه نیز مشخص شد که اثر متقابل فاکتورها بر تمامی پاسخ‌های مورد مطالعه به جز وزن معنی‌دار بود.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تیمارها و انبارداری بر ویژگی‌های کیفی آب پرتقال

منابع تغییرات S.O.V	df	pH	میانگین مربعات Mean of Squares				تغییرات رنگ آب پرتقال Orange Juice color changes
			TSS (%)	TA (ml/100g)	Ascorbic acid (mg/100ml)	TSS/TA	
محلول‌ها Solutions	3	0.024*	1.109*	0.038*	0.680*	1.425*	469.605*
زمان انبارداری Storage time	4	0.131*	8.724*	0.312*	5.072*	40.045*	728.671*
محلول × زمان انبارداری Solution*Storage time	12	0.049*	0.320*	0.010*	0.249*	0.889*	32.914*
خطا Error	40	0.001	0.015	0.000	0.033	0.028	0.160
F		32.46	2.77	3.481	2.177	3.149	4.464
p-Value		0.000	0.004	0.001	0.020	0.001	0.000

\* و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵٪ و غیر معنی‌دار

\* and ns are significant at the 5% level and not significant, respectively.

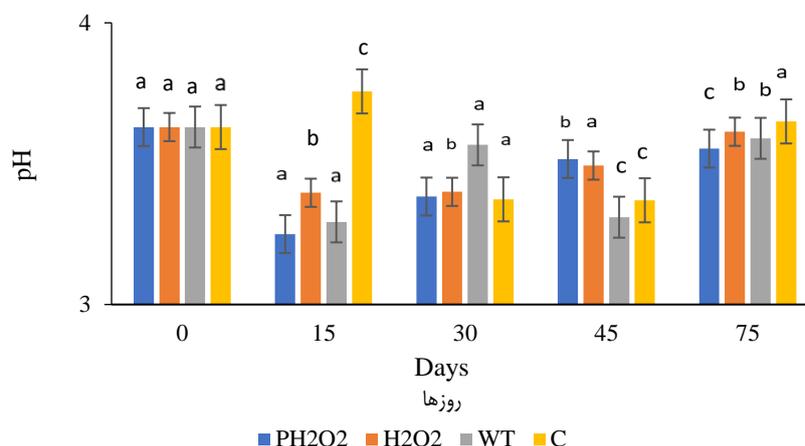
جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تیمار و زمان انبارمانی بر ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی پرتقال

Table 2- Variance analysis of the effect of treatments and storage period on quality characteristics of the orange

میانگین مربعات Mean of Squares				
منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Degree of freedom	ماکزیمم فشار-سفتی (g) Maximum pressure-hardness	درصد کاهش وزن Weight loss percent	تغییرات رنگ پرتقال Orange color changes
محلول‌ها Solutions	3	51927.227*	0.986*	9.101*
زمان انبارمانی Storage time	4	24616.849*	36.181*	114.182*
محلول × زمان انبارمانی Solution*Storage time	12	222293.501*	0.118 <sup>ns</sup>	2.603*
خطا Error	40	391.846	0.072	0.698
F		1.077	3.025	2.346
p-Value		0.424	0.002	0.013

\*ns به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵٪ و غیر معنی‌دار

\* and ns are significant at the 5% level and not significant, respectively.



شکل ۲- تغییرات pH آب‌میوه پرتقال تحت اثر تیمارهای مختلف در هر دوره انبارمانی

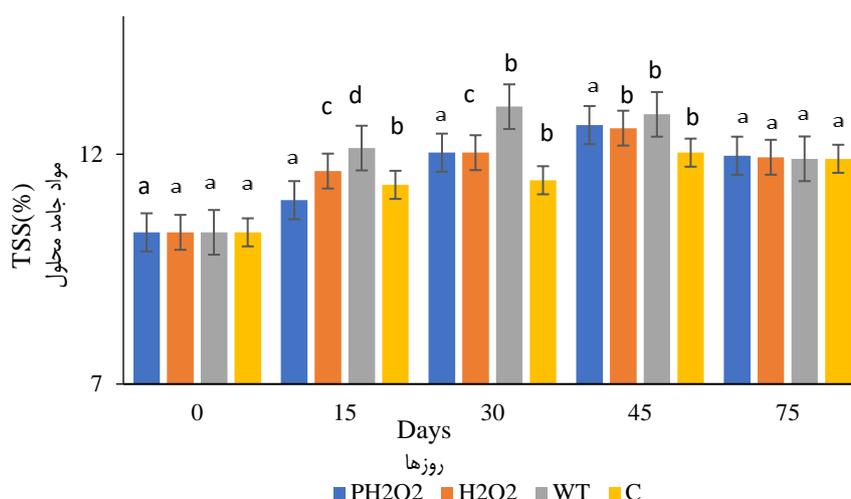
ستون‌های عمودی: میزان pH نمونه‌ها در آن روز - حروف متفاوت در هر روز نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است « $p < 0.05$ ».

Fig. 2. Comparison of the average pH of fruit juice for different treatments in each storage period

Vertical columns: pH values of the samples on that day - different letters on each day indicate a significant difference between the data ( $p < 0.05$ ).

انبارمانی فعالیت داشته باشند، میزان مواد جامد محلول در آب‌میوه افزایش می‌یابد. شکل ۳ نشان می‌دهد مقدار مواد جامد محلول تمامی تیمارها تا روز ۴۵ ام افزایش و سپس تا روز ۷۵ ام به مقدار کمی کاهش نشان داد. بیشترین تغییرات مواد جامد محلول مربوط به نمونه‌های تیمار شده با ترکیب قارچ‌کش - آب‌گرم در پایان روز ۴۵ ام بوده و تغییر معنی‌داری در نمونه‌های چهار تیمار در پایان ۷۵ روز مشاهده نشد.

در این رابطه، علی و همکاران (Ali, Cheng, & Sun, 2021) در تحقیقی نشان دادند که پلاسما DBD باعث کاهش pH آب‌گوجه‌فرنگی شد. آنها دلیل این اتفاق را حل شدن رادیکال هیدروکسیل تولید شده در اثر پلاسما سرد اعلام کردند (Ali et al., 2021). همچنین تابش مستقیم پلاسما سرد بر آب سیب نیز موجب کاهش pH در نمونه شد (Illera et al., 2019). زمانی که آنزیم‌های هیدرولیتیک طی



شکل ۳- مقایسه میانگین مواد جامد محلول (TSS) آبمیوه برای تیمارهای مختلف در هر دوره انبارمانی

ستون‌های عمودی: میزان TSS نمونه‌ها در آن روز - حروف متفاوت در هر روز نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است « $p < 0.05$ ».

**Fig. 3. Comparison of the average soluble solids TSS of fruit juice for different treatments in each storage period**

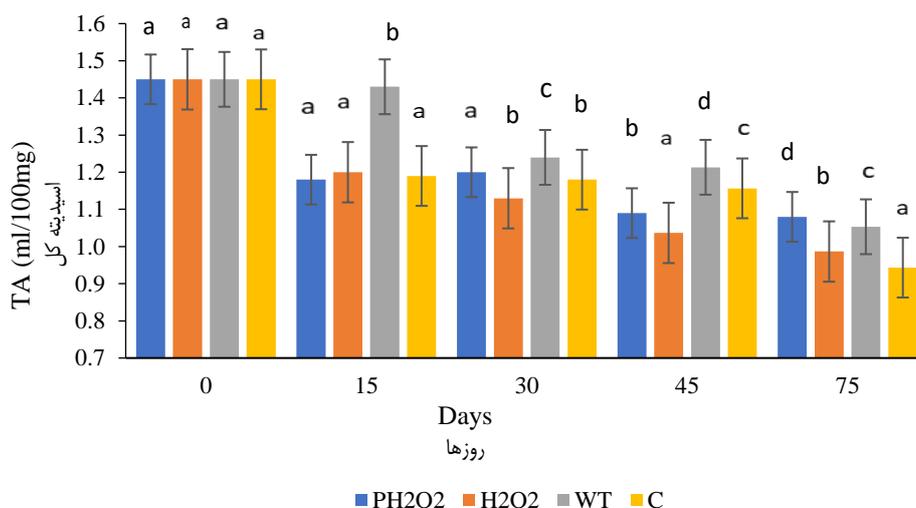
Vertical columns: TSS values of the samples on that day - different letters on each day indicate a significant difference between the data  $p < 0.05$ .

ریپسردا و همکاران (Rapisarda et al., 2008) گزارش دادند به‌دلیل استفاده از اسیدهای آلی برای تولید انرژی و تخمیر الکلی، میزان اسیدسیتریک در میوه کاهش می‌یابد. زیرا به‌مرور و طی انبارمانی، پیری، باعث مصرف اسیدها در چرخه کربس<sup>۲</sup> و تنفسی میوه می‌شود (Rapisarda et al., 2008). استفاده از پلاسما سرد باعث کاهش روند پیری و تنفس میوه شده و در نتیجه کمترین تغییرات اسیدیته طی انبارداری مشاهده شد.

در این تحقیق تأثیر تیمار و زمان انبارمانی در سطح احتمال ۵٪ بر روی TSS/TA معنی‌دار بود. نسبت میزان TSS/TA در نمونه‌های شاهد، قارچ‌کش- آب‌گرم و پراکسید تا پایان ۷۵ روز میزان آن افزایش داشت. اما در نمونه‌هایی که با پلاسما- پراکسید هیدروژن تیمار شده بودند، تا روز ۴۵ام روند صعودی داشته و بعد از آن مقداری کاهش یافت (شکل ۵). این نسبت در تمامی نمونه‌ها با افزایش انبارمانی افزایش یافت. تغییرات نسبت قند به اسید طی انبارداری، در نمونه‌های تیمار شده با پراکسید هیدروژن- پلاسما حدود ۵۷٪، پراکسید هیدروژن حدود ۷۱٪، قارچ‌کش ۶۴٪ و برای نمونه‌های شاهد حدود ۸۵٪ بود. به‌دلیل حفظ میزان اسیدیته در نتیجه‌ی کاهش تنفس و پیری، تغییرات قند به اسید نمونه‌های تیمار شده با پراکسید هیدروژن- پلاسما، نسبت به سایر تیمارها کمتر بود.

تشکیل قندها از اسیدهای آلی، باعث افزایش قند در آبمیوه مرکبات می‌شود. آنزیم‌های گلیکولیتیک<sup>۱</sup> می‌توانند طی انبارداری باعث تغییر میزان قند شوند. نتایج این تحقیق مشابه پژوهش ریپسردا و همکاران (Rapisarda, Bianco, Pannuzzo, & Timpanaro, 2008) بود. آنها محتوا و فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی پنج رقم پرتقال طی انبارداری سرد را طی ۴۰ روز پایش کردند. همچنین گزارش دادند میزان مواد جامد محلول پرتقال والنسیا بعد از ۴۰ روز انبارداری افزایش و سپس کاهش یافت (Rapisarda et al., 2008).

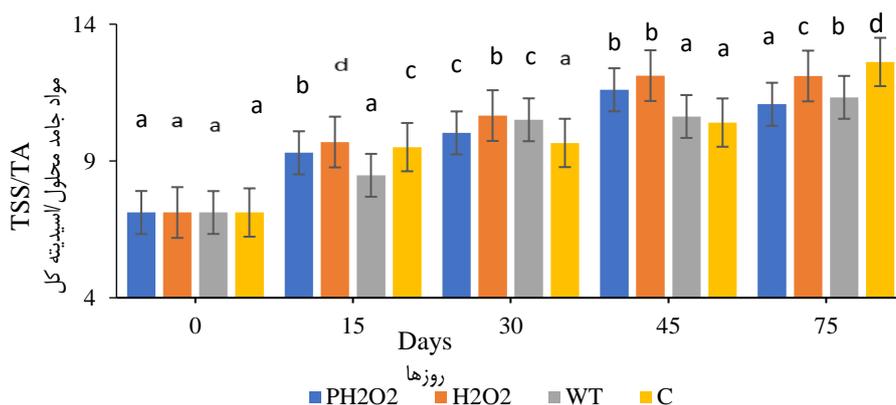
در بین اسیدهایی که در پرتقال یافت می‌شوند (اسیدسیتریک، مالیک، بنزوئیک، تارتاریک و اگزالیک)، اسیدسیتریک اسید غالب بوده و در این مطالعه نیز بررسی شد (Violeta, Trandafir, & Ionica, 2010). همانگونه که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، مقدار اسید غالب نمونه‌ها طی انبارمانی کاهش داشته است. در مقدار اسیدیته روز ۱۵ام انبارمانی تفاوت معنی‌داری میان میزان اسیدیته تیمارهای پلاسما- پراکسید هیدروژن، پراکسید هیدروژن و نمونه‌های شاهد وجود نداشت، اما میزان اسیدیته تیمار قارچ‌کش- آب‌گرم به‌طور معنی‌داری بیشتر از سه تیمار دیگر بود. روند نزولی میزان اسیدیته در تیمارها تا روز ۷۵ام انبارمانی ادامه داشت. به‌طوری‌که در پایان نگهداری، کمترین اسیدیته مربوط به نمونه‌های شاهد و بیشترین آن مربوط به نمونه‌های تیمار شده با پراکسید هیدروژن- پلاسما بود.



شکل ۴- مقایسه اسیدیته کل TA (ml/100mg) آب میوه برای تیمارهای مختلف در هر دوره انبارمانی

ستون‌های عمودی: میزان TA (ml/100mg) نمونه‌ها در آن روز \_ حروف متفاوت در هر روز نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است « $p < 0.05$ ».

**Fig. 4. Comparison of total acidity ml/100mg TA of fruit juice for different treatments in each storage period**  
Vertical columns: TA levels ml/100mg f samples on that day. Different letters on each day indicate a significant difference between the data  $p < 0.05$ .



شکل ۵- مقایسه میانگین اندیس رسیدگی (نسبت TSS به TA) برای تیمارهای مختلف در هر دوره انبارمانی

ستون‌های عمودی: TSS/TA نمونه‌ها در آن روز \_ حروف متفاوت در هر روز نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است « $p < 0.05$ ».

**Fig. 5. Comparison of the average processing index TSS/TA for different treatments in each storage period**  
Vertical columns: TSS/TA levels of samples on that day - different letters on each day indicate a significant difference between the data  $p < 0.05$ .

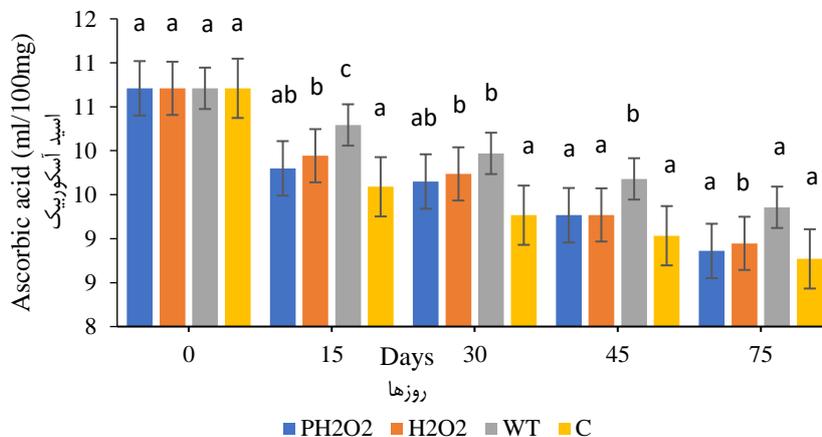
برای نمونه‌های پراکسید هیدروژن-پلاسما ۱۷٪، پراکسید هیدروژن ۱۶٪، قارچ کش ۱۳٪ و برای نمونه‌های شاهد ۱۸٪ بود.

ویتامین ث ترکیبی ناپایدار است که طی انبارمانی بسته به شرایط نگهداری کاهش می‌یابد (Klimczak, Małecka, Szlachta, & Gliszczynska-Świgło, 2007). در این تحقیق، بیشترین کاهش مربوط به نمونه شاهد و کمترین کاهش مربوط به نمونه قارچ کش بود. این بدین معناست که تیمار قارچ کش موجب حفظ بیشتر ویتامین ث در آب‌پرتقال خونی شده و پس از آن تیمارهای پراکسید هیدروژن و

مطابق شکل ۶، مقدار آسکوربیک اسید (ویتامین ث) در نمونه‌های هر چهار تیمار روند نزولی داشته و در طول نگهداری کاهش یافتند. طی ۱۵ روز انبارمانی، میزان ویتامین ث در نمونه‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و بیشترین درصد کاهش در شاهد (۱۰/۵٪) و سپس در نمونه‌های تیمار شده با پراکسید هیدروژن-پلاسما (۸/۵٪) و پراکسید هیدروژن (۷٪) رخ داد و از روز ۱۵ به بعد درصد کاهش این دو نمونه کمتر شد. لیکن نمونه قارچ کش کمترین درصد کاهش (۳/۵٪) را طی ۱۵ روز دارا بود. تغییرات آسکوربیک اسید طی ۷۵ روز نگهداری

همچنین نتایج این مطالعه با نتایج ریپسردا و همکاران (Rapisarda *et al.*, 2008) مبنی بر کاهش غلظت ویتامین ث سه وارپته‌ی پرتقال خونی نگهداری شده طی ۶۵ روز سازگار است.

پراکسید هیدروژن-پلاسما بهترین عملکرد را داشتند. مطابق پژوهش دانگ و یانگ (Dong & Yang, 2019) میزان ویتامین ث موجود در ذغال‌اخته تیمار شده با پلاسما سرد طی انبارمانی کاهش یافت.



شکل ۶- مقایسه میانگین ویتامین ث (mg/100ml) آب میوه برای تیمارهای مختلف در هر دوره انبارمانی

ستون‌های عمودی: میزان ویتامین ث نمونه‌ها در آن روز \_ حروف متفاوت در هر روز نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است « $p < 0.05$ »

**Fig. 6. Comparison of average vitamin C mg/100ml f fruit juice for different treatments in each storage period**  
Vertical columns: Vitamin C levels of the samples on that day. Different letters on each day indicate a significant difference between the data  $p < 0.05$ .

تیمارهای قارچ‌کش- آب گرم و پراکسید هیدروژن در روز ۷۵ ام معنی‌دار نبود.

پایش میزان وزن از دست رفته میوه یکی از شاخصه‌های مهم کیفیت آن است که تابع تنفس و تعرق و نیز اتلاف آب در آن است. **جدول ۴** میزان وزن نمونه‌ها طی انبارداری را نشان می‌دهد. طبق این جدول، وزن طی انبارداری در تمامی تیمارها کاهش یافت اما تغییر وزن نمونه‌ها در ۱۵، ۴۵ و ۷۵ روز از زمان انبارمانی در نمونه‌های تیمار شده با پراکسید هیدروژن-پلاسما، شاهد و قارچ‌کش-آب گرم تقریباً مشابه بوده و تفاوت معنی‌داری میان آن‌ها وجود نداشت.

رنگ اولین پارامتر کیفی است که توسط مصرف‌کننده ارزیابی می‌شود و در پذیرش محصول نقش اساسی دارد. مطابق نتایج این پژوهش در طول انبارمانی، بیشترین تغییرات رنگ در نمونه‌های تیمار شده با پراکسید هیدروژن-پلاسما و کمترین تغییرات در نمونه‌های قارچ‌کش-آب گرم مشاهده شد (**جدول ۳**). میزان تغییرات در زمان‌های مختلف انبارمانی برای نمونه شاهد ۳۲٪، قارچ‌کش ۳۲٪، پراکسید هیدروژن ۱۹٪ و پراکسید هیدروژن-پلاسما ۷۵٪ است. کمترین تغییرات را تیمار قارچ‌کش و بعد از آن پراکسید هیدروژن-پلاسما به خود اختصاص داد.

باتوجه به شکل ۷، کمترین میزان L در پایان نگهداری مربوط به نمونه‌های قارچ‌کش- آب گرم بود. تفاوت میزان این شاخص در بین

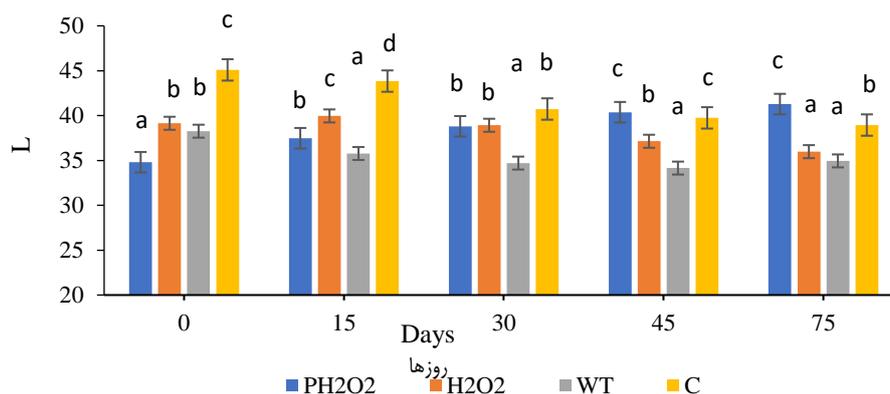
**جدول ۳- مقایسه میانگین تغییرات رنگ کل میوه پرتقال برای تیمارهای مختلف در هر دوره انبارمانی**

**Table 3- Comparison of average color changes of orange fruit for different treatments in each storage period**

زمان انبارمانی Storage time Day	PH <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	WT	C
0	0	0	0	0
15	5.207 <sup>b</sup>	2.616 <sup>a</sup>	4.752 <sup>b</sup>	2.0123 <sup>a</sup>
30	6.890 <sup>a</sup>	4.906 <sup>a</sup>	5.231 <sup>a</sup>	5.601 <sup>a</sup>
45	8.208 <sup>b</sup>	5.368 <sup>a</sup>	5.721 <sup>a</sup>	7.171 <sup>b</sup>
75	9.149 <sup>c</sup>	7.782 <sup>b</sup>	6.238 <sup>a</sup>	8.464 <sup>bc</sup>

حروف مشترک در هر ردیف به معنای عدم تفاوت معنادار بین تیمارها است.

Common letters in each row mean no significant difference between treatments.



شکل ۷- مقایسه میانگین تغییرات شاخص L (میزان روشنایی) میوه پرتقال برای تیمارهای مختلف در هر دوره انبارمانی

ستون‌های عمودی: تغییرات شاخص L نمونه‌ها در آن روز \_ حروف متفاوت در هر روز نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است « $p < 0.05$ ».

**Fig. 7. Comparison of the average changes in the L index luminosity of the whole orange fruit for different treatments in each storage period**

Vertical columns: Changes in the L index of the samples on that day. Different letters on each day indicate a significant difference between the data  $p < 0.05$ .

کاهش وزن نمونه‌ها در این پژوهش با پژوهش‌های دیگر روی توت‌فرنگی (Shirani Rad, Sayyari, & Zolfigol, 2024) و آلو (Shokrollahfam, Hajilou, Zare, Tabatabaei, & Naghshbandhasani, 2012) مطابقت داشت.

بیشترین کاهش وزن مربوط به نمونه‌های قارچ‌کش-آب‌گرم و پس از آن نمونه‌های شاهد بود (جدول ۴). طی افزایش انبارمانی و تنفس و تعرق میوه، به دلیل عدم تعادل فشار بخار آب در فضای بین سلولی بافت‌ها و اتمسفر احاطه‌کننده میوه از یک سو و نیز تشدید فرآیندهای تنفسی از سوی دیگر، کاهش وزن طی زمان امری طبیعی است. روند

جدول ۴- مقایسه میانگین درصد کاهش وزن برای تیمارهای مختلف در هر دوره انبارمانی

**Table 4- Comparison of average weight reduction for different treatments in each storage period**

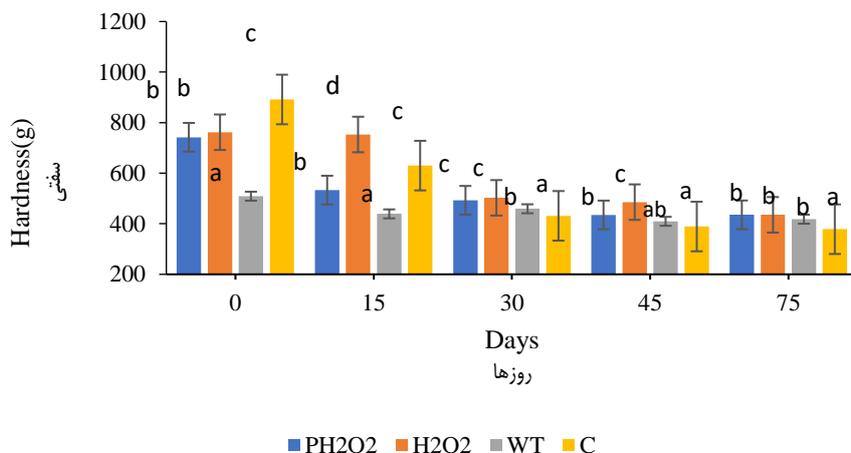
زمان انبارمانی Storage time Day	PH <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	WT	C
0	0	0	0	0
15	0.929 <sup>a</sup>	0.707 <sup>a</sup>	0.977 <sup>a</sup>	1.208 <sup>a</sup>
30	1.793 <sup>ab</sup>	1.565 <sup>a</sup>	1.968 <sup>ab</sup>	2.113 <sup>b</sup>
45	2.776 <sup>b</sup>	2.234 <sup>a</sup>	2.977 <sup>b</sup>	3.099 <sup>b</sup>
75	4.672 <sup>a</sup>	4.163 <sup>a</sup>	4.828 <sup>a</sup>	4.791 <sup>a</sup>

حروف مشترک در هر ردیف به معنای عدم تفاوت معنادار بین تیمارها است.

Common letters in each row mean no significant difference between treatments

مطابق شکل ۸، نمونه‌ها پس از اعمال تیمار قارچ‌کش-آب‌گرم به‌طور معنی‌داری سفتی خود را از دست دادند و نمونه‌های شاهد در شروع انبارمانی (روز صفر) از سفتی بیشتری نسبت به سایر تیمارها برخوردار بودند. در میان نمونه‌های تیمار شده، تیمار پراکسید هیدروژن و پراکسید هیدروژن-پلازما از نظر سفتی در شروع انبارمانی تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند، اما سفتی تیمار قارچ‌کش-آب‌گرم بطور معنی‌داری کاهش یافت که این می‌تواند به سبب بالا رفتن دمای سطحی پرتقال بواسطه آب‌گرم باشد. با گذشت زمان انبارمانی، سفتی نمونه‌های هر چهار تیمار کاهش یافت.

نگهداری طولانی‌مدت باعث افزایش فشار داخل سلولی و شروع تخریب می‌شود. در این فرآیند آب موجود در ساختار سلولی میوه که به‌صورت ضعیف با مولکول‌های دیگر پیوند دارد (آب تک‌مولکولی)، جدا و تبخیر شده و منجر به کاهش وزن می‌شود (Güler, Bostan, & Çon, 2017). تیمار با پراکسید هیدروژن و پراکسید هیدروژن-پلازما در مقایسه با بقیه تأثیر بیشتری بر جلوگیری از کاهش وزن نمونه‌ها داشتند. این می‌تواند بواسطه اثر پلازما باشد و این نتیجه با یافته هلالی و همکاران (Helali, Shahidi, Lavasani, & Habibiyani, 2023) مطابقت دارد.



شکل ۸- مقایسه میانگین سفتی (g) بر روی پرتقال برای تیمارهای مختلف در هر دوره انبارمانی

ستون‌های عمودی: میزان سفتی (g) نمونه‌ها در آن روز - حروف متفاوت در هر روز نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است « $p < 0.05$ »

**Fig. 8. Comparison of average firmness g on oranges for different treatments in each storage period**

Vertical columns: stiffness g» of the samples on that day. Different letters on each day indicate a significant difference between the data»  $p < 0.05$ .

باتوجه به اثرات سوء مواد قارچ‌کش بر روی محیط‌زیست و سلامتی انسان، بالابودن هزینه استفاده از قارچ‌کش نسبت به پلاسما سرد و پراکسید هیدروژن و همچنین تأثیر مثبت تیمار پراکسید هیدروژن-پلاسما بر برخی صفات کیفی آب‌پرتقال، استفاده از فناوری پراکسید هیدروژن تحت تابش پلاسما سرد به‌عنوان روشی جایگزین برای تیمار قارچ‌کش پیشنهاد می‌شود. از طرفی ترکیب پراکسید هیدروژن و پلاسما موجب هم‌افزایی خواص ضدعفونی این ماده می‌شود که در نتیجه این امر می‌توان از استفادهٔ محلول‌هایی با غلظت بالای پراکسید هیدروژن در هنگام شستشوی میوه‌ها و سبزی‌ها به‌منظور حفظ خواص پس از برداشت آنها در مقیاس صنعتی اجتناب کرد.

### میزان مشارکت نویسندگان

**سیده فاطمه حسینی:** مفهوم‌سازی، مدیریت داده‌ها، تحلیل رسمی، تأمین مالی، تحقیق و بررسی، روش‌شناسی، منابع، اعتبارسنجی، تجسم، نوشتن، پیش‌نویس اصلی. **سید جعفر هاشمی:** مفهوم‌سازی، مدیریت داده‌ها، تحلیل رسمی، تأمین مالی، روش‌شناسی، مدیریت پروژه، نظارت، اعتبارسنجی، تجسم، نوشتن، بررسی و ویرایش. **آزاده رنجبر ندامانی:** مفهوم‌سازی، مدیریت داده‌ها، تحلیل رسمی، روش‌شناسی، مدیریت پروژه، نرم‌افزار، نظارت، اعتبارسنجی، تجسم، بررسی و ویرایش. **فرشاد صحبت زاده:** مفهوم‌سازی، روش‌شناسی، مدیریت پروژه، نظارت، اعتبارسنجی، تجسم.

تیمار پراکسید هیدروژن و پراکسید هیدروژن - پلاسما تا روز ۳۰ ام انبارمانی تیمارهای مناسب‌تری برای حفظ سفتی نمونه‌ها نسبت به تیمار شاهد و قارچ‌کش بودند. دلیل این اتفاق می‌تواند وجود آلودگی بیشتر نمونه‌های شاهد به کپک سبز باشد. زیرا سیستم توسعه‌ی کپک سبز به گونه‌ای است که سبب انحلال مواد پکتیکی<sup>۱</sup> داخل میوه شده و نیروی شکست را کاهش می‌دهد (Sadmia, Yampi, & Aghkhani, 2015).

در پایان انبارمانی اختلاف معنی‌داری میان میزان سفتی تیمارها وجود نداشت و اعمال تیمارها توانست اثر خوبی در سفتی و در نتیجه سلامت بافت نمونه‌ها نسبت به شاهد داشته باشد. گونزالس و همکاران (Queb-González et al., 2020) اثر زمان ماندگاری را بر نرم شدن میوه گزارش نمودند. آن‌ها اثرات عملیات حرارتی پس از برداشت (به کمک مایکروویو) را بر روی نارنگی‌های تلقیح شده با قارچ پنسیلیوم ارزیابی کردند و گزارش دادند که تیمارهای شاهد و مایکروویو با توان اسمی ۸۰ و ۱۰۰ درصد موجب کاهش سفتی نارنگی‌های مانداری پس از ۱۳ روز شدند.

### نتیجه‌گیری

در این تحقیق، تأثیر به‌کارگیری تکنولوژی پلاسما در محلول پراکسید هیدروژن و مقایسه آن با قارچ‌کش - آب‌گرم بر برخی خواص فیزیکوشیمیایی پرتقال خونی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد

## منابع تأمین مالی

این تحقیق در قالب پایان نامه کارشناسی ارشد توسط دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری حمایت مالی گردید.

## References

1. Ali, M., Cheng, J.-H., & Sun, D.-W. (2021). Effects of dielectric barrier discharge cold plasma treatments on degradation of anilazine fungicide and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) juice. *International Journal of Food Science and Technology*, 56(1), 69-75. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14600/v1/review5>
2. Amirabadi, S., Milani, J.M., & Sohbatazadeh, F. (2020). Application of dielectric barrier discharge plasma to hydrophobically modification of gum arabic with enhanced surface properties. *Food Hydrocolloids*, 104, 105724. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105724>
3. Baran Zehi, T., Gholam Nezhad, J., Dehestani, M., Jafari, A., & Naseri Nasab, F. (2019). The evolution of activity and gene expression of some antioxidant enzymes and qualitative characters of orange fruits under cover treatments. *Cell and Tissue Journal*, 10(4), 226-242. <https://doi.org/10.52547/JCT.10.4.226>
4. Barzanoni, A., Aghkhani, M., Moskouki, A., & Abbaspourfard, M. (2014). The effect of heat pretreatment and plant essential oils on the post-harvest properties of blood oranges. *Journal of Horticultural Sciences (Agricultural Sciences and Industries)*, 1392(4), 423-418. <https://doi.org/10.22067/jhorts4.v0i0.30589>
5. Barzanouni, E., Sadrnia, H., Sohbatazadeh, F., & Khodavaisy, S. (2024). Synergistic effect of atmospheric pressure cold plasma and hydrogen peroxide as an efficient approach for the control of citrus postharvest green mold. *Journal of Agricultural Machinery*, 14(4), 355-366. <https://doi.org/10.22067/jam.2023.82325.1165>
6. Dong, X.Y., & Yang, Y.L. (2019). A novel approach to enhance blueberry quality during storage using cold plasma at atmospheric air pressure. *Food and Bioprocess Technology*, 12(8), 1409-1421. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02305-y>
7. Faghhi nasiri, M., Omidbaigi, R., Fakhr Tabatabaie, S.M., Arzani, K., & Zare, R. (2019). Comparison of the effect of physical and chemical treatments on decay control, qualitative characteristics and some flavonoids of Thomson-navel orange fruits in cold storage. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 16(86), 133-147.
8. FAO. (2021). *Citrus Fruit Fresh and Processed: Statistical Bulletin 2020*. FAO. <https://coilink.org/20.500.12592/bsg3dv>
9. Fattahi, J., Hashempour, A., Hamidoghli, Y., & Fotouhi, R. (2018). The effect of heat treatment on bioactive compounds and antioxidant capacity of fruits pulp and peel of two blood orange varieties ('Sanguinello' and 'Moro') during storage. *Food Research Journal*, 28(4), 129-141.
10. Fridman, G., Friedman, G., Gutsol, A., Shekhter, A. B., Vasilets, V.N., & Fridman, A. (2008). Applied plasma medicine. *Plasma Processes and Polymers*, 5(6), 503-533. <https://doi.org/10.1002/ppap.200700154>
11. Güler, S.K., Bostan, S.Z., & Çon, A.H. (2017). Effects of gamma irradiation on chemical and sensory characteristics of natural hazelnut kernels. *Postharvest Biology and Technology*, 123, 12-21. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.08.007>
12. Helali, N., Shahidi, S.A., Lavasani, A.S., & Habibiyan, M. (2023). Evaluation of the effect of cold plasma on the shelf life of sour lemon. *Journal of Applied Microbiology in food industry*, 9(1), 74-85. <https://www.magiran.com/paper/2601670>
13. Hosseini, C., Asghari, M.R., & Khezri, M. (2023). Increasing antioxidant compounds and maintaining the appearance quality of cherry fruit after harvest under the influence of marjoram essential oil. *Journal of Horticultural Science*, 37(1), 151-166. <https://doi.org/10.22067/jhs.2022.73954.1114>
14. Illera, A., Chaple, S., Sanz, M., Ng, S., Lu, P., Jones, J., Carey, E., & Bourke, P. (2019). Effect of cold plasma on polyphenol oxidase inactivation in cloudy apple juice and on the quality parameters of the juice during storage. *Food Chemistry: X*, 3, 100049. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2019.100049>
15. Ismail, M., & Zhang, J. (2004). Post-harvest citrus diseases and their control. *Outlooks on Pest Management*, 15(1), 29. <http://doi.org/10.1564/15feb12>
16. Karami, M., Rahemi, M., Yassaie, M., & Karami, A. (2023). Effects of hydrogen peroxide on decreasing microbial contaminations in raisins of Bavanat region. *Journal of Horticultural Science*, 37(1), 63-73. <https://doi.org/10.22067/jhs.2022.71532.1074>
17. Klimczak, I., Małecka, M., Szlachta, M., & Gliszczyńska-Świągło, A. (2007). Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(3-4), 313-322. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.02.012>
18. Lin, C.-M., Moon, S.S., Doyle, M.P., & Mcwaters, K.H. (2002). Inactivation of *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella enterica* serotype *Enteritidis*, and *Listeria monocytogenes* on lettuce by hydrogen peroxide and lactic

- acid and by hydrogen peroxide with mild heat. *Journal of Food Protection*, 65(8), 1215-1220. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-65.8.1215>
19. Ma, R., Wang, G., Tian, Y., Wang, K., Zhang, J., & Fang, J. (2015). Non-thermal plasma-activated water inactivation of food-borne pathogen on fresh produce. *Journal of Hazardous Materials*, 300, 643-651. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.07.061>
20. Maktabi, S., Zarei, M., & Rashnavady, R. (2018). Effect of sequential treatments with sodium dodecyl sulfate and citric acid or hydrogen peroxide on the reduction of some foodborne pathogens on eggshell. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 19(2), 113.
21. Nikkhah, S., & Moghadam, E.G. (2005). Effect of plant oils on reducing decay and extending storage life in—Golden delicious—and—Red delicious—apples. *Frutic*, 5(12), 61-67.
22. Obagwu, J., & Korsten, L. (2003). Integrated control of citrus green and blue molds using *Bacillus subtilis* in combination with sodium bicarbonate or hot water. *Postharvest Biology and Technology*, 28(1), 187-194. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(02\)00145-X](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(02)00145-X)
23. Oehmigen, K., Hähnel, M., Brandenburg, R., Wilke, C., Weltmann, K.D., & Von Woedtke, T. (2010). The role of acidification for antimicrobial activity of atmospheric pressure plasma in liquids. *Plasma Processes and Polymers*, 7(3-4), 250-257. <https://doi.org/10.1002/ppap.200900077>
24. Parish, M., Beuchat, L., Suslow, T., Harris, L., Garrett, E., Farber, J., & Busta, F. (2003). Methods to reduce/eliminate pathogens from fresh and fresh-cut produce. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2, 161-173. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2003.tb00033.x>
25. Queb-González, D.B., Lopez-Malo, A., Sosa-Morales, M.E., & Villa-Rojas, R. (2020). Postharvest heat treatments to inhibit *Penicillium digitatum* growth and maintain quality of Mandarin (*Citrus reticulata* blanco). *Heliyon*, 6(1). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03166>
26. Rapisarda, P., Bianco, M.L., Pannuzzo, P., & Timpanaro, N. (2008). Effect of cold storage on vitamin C, phenolics and antioxidant activity of five orange genotypes [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]. *Postharvest Biology and Technology*, 49(3), 348-354. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.02.002>
27. Rostgar, S., & Tahmasabi, S. (2018). Using the essence of rose, Morkhush and Salvia in preventing the growth of *Botrytis sinerer* fungus in two varieties of strawberry fruit. *Journal of Innovation in Food Science and Technology*, 10(3), 85\_96.
28. Sadrnia, H., Yampi, E., & Aghkhani, M. (2015). Control of postharvest green mold using sodium bicarbonate in Jaffa and blood orange varieties. <https://doi.org/10.22059/ijhs.2015.55868>
29. Shakerinasab, E., & Mohsenpour, T. (2021). Comparison of the effect of dielectric barrier discharge plasma in surface and volume mode of treatment on physical and chemical properties of saffron. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 18(120), 13-25. <https://doi.org/10.52547/fsct.18.120.2>
30. Shirani Rad, S., Sayyari, M., & Zolfigol, M.A. (2024). The effect of coating with pomegranate peel and tomato seedlings extracts on the phytochemical traits and maintaining the quality of strawberry fruits cv. Paros during cold storage. *Journal Of Horticultural Science*, 37(4), 1115-1134. <https://doi.org/10.22067/jhs.2023.81683.1249>
31. Shokrollahfam, S., Hajilou, J., Zare, F., Tabatabaei, S., & Naghshibandhasani, R. (2012). Effects of calcium chloride and salicylic acid on quality traits and storage life of plum cultivar. *Journal of Food Research*, 22(1), 75-76.
32. Taghipour, A., Katabchi, M., & Shorzei, S. (2012). Comparison of the treatment effect of antagonistic bacteria isolated from the surface of Mexican lime fruit, hot water and thiabendazole fungicide in controlling green mold disease of lime fruit (*Penicillium digitatum*). *Quarterly Journal of Physiology and Technology after Harvest of Garden Products*, 1(1), 87-79.
33. Tarabová, B., Tampieri, F., Maran, E., Marotta, E., Ostrihoňová, A., Krewing, M., & Machala, Z. (2021). Chemical and antimicrobial effects of air non-thermal plasma processing of fresh apple juice with focus on safety aspects. *Foods*, 10(9), 2055. <https://doi.org/10.3390/foods10092055>
34. Violeta, N., Trandafir, I., & Ionica, M.E. (2010). HPLC organic acid analysis in different citrus juices under reversed phase conditions. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-napoca*, 38(1), 44-48. <https://doi.org/10.15835/nbha.43.2.10081>

## Green Synthesis of ZnO Nanoparticles by Using Propolis Extract and Its Application in Preparation of Biodegradable Active Film Based on Whey Protein Isolate

B. Imani<sup>1</sup>, H. Almasi<sup>1\*</sup>, M.K. Pirouzifard<sup>1</sup>, H. Nourbakhsh<sup>2</sup>

1- Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

(\*- Corresponding Author Email: [h.almasi@urmia.ac.ir](mailto:h.almasi@urmia.ac.ir))

2- Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

Received: 30.08.2025  
Revised: 07.11.2025  
Accepted: 15.11.2025  
Available Online: 16.11.2025

### How to cite this article:

Imani, B., Almasi, H., Pirouzifard, M.K., & Nourbakhsh, H. (2025). Green synthesis of ZnO nanoparticles by using propolis extract and its application in preparation of biodegradable active film based on whey protein isolate. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 21(5), 511-527. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/ifstrj.2025.95130.1470>

### Introduction

Whey protein isolate has been considered in food packaging due to its edibility, biodegradability, ability to produce transparent, colorless and odorless films and coatings, cheapness and high relative abundance, as well as high barrier to oxygen and aromatic compounds at low relative humidity. However, the poor mechanical properties of these films, such as low tensile strength, inherent stiffness and poor water vapor barrier, have limited their application. Therefore, to overcome this limitation, in this study, the use of zinc oxide nanoparticles produced by green synthesis method from propolis alcoholic extract in the production of biodegradable films based on whey protein isolate was investigated. The effect of ultrasound treatment on the green synthesis process and the characteristics of the manufactured nanoparticles were also studied.

### Materials and Methods

The production of zinc oxide nanoparticles by green synthesis method was as follows: first, zinc nitrate was prepared with different concentrations of 0.075, 0.15 and 0.25 M. The alcoholic extract of propolis was slowly and dropwise added to the prepared zinc nitrate solution. The reaction was carried out on a heater stirrer at 60 °C for 5 h. The pH of the solution was adjusted to 10 during the reaction using sodium hydroxide so that after the end of mixing, a brick-colored precipitate of zinc oxide nanoparticles was observed at the bottom of the container. The precipitates were centrifuged for 10 min at 4000 rpm. After this stage, the accumulated zinc oxide precipitates were washed with distilled water to separate impurities and finally placed in an electric furnace at 350 °C for 2 h. After this time, zinc oxide nanoparticles can be obtained in a light gray to white color. In the ultrasonic method, the brick-colored solution obtained before centrifugation was subjected to ultrasonic waves in an ultrasonic bath for 15 min, and then the same procedure was followed. To prepare the alcoholic extract of propolis, 15 g of propolis was mixed with 20 mL of 99% ethanol and placed in a shaker at 180 rpm for 24 h at room temperature. The resulting solution was filtered with Whatman paper No. 1. Finally, the solvent was recovered in a rotary evaporator at 45 °C. The superior nanoparticles were then obtained to be incorporated in the films of whey protein isolate at different concentrations of 3, 5 and 7 % and the physicochemical, antioxidant and antimicrobial properties were studied.

### Results and Discussion

The results of FTIR analysis of nanoparticles showed a decrease in the intensity or elimination of some bands presented in propolis extract, which indicated the participation of these functional groups in the process of zinc ion reduction and surface coating of nanoparticles. The morphology of nanoparticles also showed that the samples treated by ultrasound had a more homogeneous morphology than those without ultrasound. So, zinc oxide nanoparticles synthesized at a concentration of 0.25 M zinc nitrate with



Authors retain the copyright. 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/).

<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2025.95130.1470>

ultrasound were selected as the superior sample due to their appropriate density, regular shape and uniform distribution of particles. These particles were then added to whey protein isolate film at concentrations of 3, 5 and 7% to compare their performance and their properties in comparison with the control whey protein isolate film. The results showed that with increasing the percentage of nanoparticles, the solubility and water vapor permeability decreased and the antioxidant property, tensile strength, elongation and Young's modulus increased significantly ( $p < 0.05$ ). This increase was greater in samples containing zinc oxide nanoparticles treated with ultrasound than in samples without ultrasound ( $p < 0.05$ ). The findings of the antimicrobial property also indicated that the gram-positive bacterium *Staphylococcus aureus* was more sensitive to zinc oxide nanoparticles treated with propolis extract than the gram-negative bacterium *Escherichia coli*.

## Conclusion

In general, the findings of this study showed that the use of zinc oxide nanoparticles synthesized with propolis extract using ultrasound improves the physicochemical and microbial properties of the whey protein isolate.

**Keywords:** Biodegradable film, Green synthesis of nanoparticles, Propolis extract, Zinc oxide nanoparticles

## مقاله پژوهشی

جلد ۲۱، شماره ۵، آذر- دی ۱۴۰۴، ص. ۵۲۷-۵۱۱

## سنتز سبز نانوذرات اکسید روی با استفاده از عصاره برهموم و استفاده از آن در تهیه فیلم زیست تخریب پذیر فعال بر پایه ایزوله پروتئین آب پنیر

بهنوش ایمانی<sup>۱</sup> - هادی الماسی<sup>۱\*</sup> - میرخلیل پیروزی فرد<sup>۱</sup> - هیمن نوربخش<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۲۴

### چکیده

این مطالعه با هدف سنتز سبز نانوذرات اکسید روی با استفاده از عصاره برهموم و امواج فراصوت و کاربرد آن‌ها در فیلم ایزوله پروتئین آب پنیر انجام شد. نتایج مربوط به FTIR نانوذرات کاهش شدت یا حذف برخی باندهای موجود در عصاره برهموم را نشان داد که بیانگر شرکت این گروه‌های عاملی در فرآیند احیای یون‌های روی و پوشش‌دهی سطحی نانوذرات بود. مورفولوژی نانوذرات نیز نشان داد نمونه‌هایی که با فراصوت سنتز شده بودند مورفولوژی همگن‌تری نسبت به حالت بدون فراصوت داشتند. نانوذره اکسید روی سنتز شده در غلظت ۰/۲۵ مولار نیترات روی با فراصوت به دلیل تراکم مناسب، شکل منظم و توزیع یکنواخت ذرات، به‌عنوان نمونه برتر انتخاب شد. این نمونه همراه با نانوذره اکسید روی سنتز شده با غلظت ۰/۲۵ مولار نیترات روی اما بدون استفاده از فراصوت به‌منظور مقایسه عملکرد آن‌ها در غلظت‌های ۳، ۵ و ۷ درصد به فیلم ایزوله پروتئین آب پنیر اضافه و ویژگی‌های آن‌ها در مقایسه با فیلم شاهد ایزوله پروتئین آب پنیر مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج مربوط به فیلم‌ها نشان داد که با افزایش درصد نانوذرات، درصد حلالیت و میزان نفوذپذیری به بخار آب کاهش و خاصیت آنتی‌اکسیدانی، مقاومت به کشش، ازدیاد طول و مدول یانگ به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). این افزایش در نمونه‌های حاوی نانوذرات اکسید روی سنتز شده با فراصوت بیشتر از نمونه‌های بدون فراصوت بود ( $p < 0.05$ ). یافته‌های بررسی خاصیت ضد میکروبی نیز حاکی از آن بود که باکتری گرم مثبت / استافیلوکوکوس اورئوس حساسیت بیشتری به نانوذرات اکسید روی سنتز شده با عصاره برهموم نسبت به باکتری گرم منفی / اشریشیا کلی داشت. به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از نانوذرات اکسید روی سنتز شده با عصاره برهموم با استفاده از فراصوت باعث بهبود خصوصیات فیزیکوشیمیایی و میکروبی فیلم ایزوله پروتئین آب پنیر می‌گردد و می‌توان از فیلم حاصل برای بسته‌بندی محصولات غذایی حساس به فساد میکروبی استفاده کرد.

**واژه‌های کلیدی:** سنتز سبز نانوذرات، عصاره برهموم، فیلم زیست تخریب‌پذیر، نانوذرات اکسید روی

### مقدمه

اکسید روی به دلیل طیف گسترده‌ای از کاربرد در صنایع شیمیایی، دارویی، آرایشی و غذایی از نظر اقتصادی و صنعتی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. در میان ویژگی‌های مختلف اکسید روی، ویژگی‌های اصلی آن نیمه‌رسانایی، فعالیت ضد میکروبی و جذب اشعه ماوراء بنفش می‌باشند (Bandeira, Giovanela, Roesch-Ely, Devine, & da

اکسید روی به دلیل طیف گسترده‌ای از کاربرد در صنایع شیمیایی، دارویی، آرایشی و غذایی از نظر اقتصادی و صنعتی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. در میان ویژگی‌های مختلف اکسید روی، ویژگی‌های اصلی آن نیمه‌رسانایی، فعالیت ضد میکروبی و جذب اشعه ماوراء بنفش می‌باشند (Bandeira, Giovanela, Roesch-Ely, Devine, & da

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

\*- نویسنده مسئول: (Email: [h.almasi@urmia.ac.ir](mailto:h.almasi@urmia.ac.ir))

۲- گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

آزادسازی محتویات داخل سلولی استفاده می‌شود. با استفاده از فراصوت کارایی و راندمان فرآیندهای زیستی افزایش می‌یابد (Sulaiman, Ajit, Yunus, & Chisti, 2011). کاویتاسیون پدیده‌ای است که در فرآیند فراصوت رخ می‌دهد که در آن تشکیل، رشد و فروپاشی شدید حباب‌ها در مایع منجر به ایجاد ریز قطرات شبیه غبار در مایع می‌شود. این ریز قطرات به‌عنوان راکتورهایی برای تسهیل تشکیل نانوذرات جدا از هم در حین واکنش عمل می‌کنند که منجر به کاهش زمان واکنش و افزایش راندمان می‌گردند. سنتز نانوذرات به کمک فراصوت به‌عنوان یک رویکرد سازگار با محیط‌زیست (سنتز سبز) در نظر گرفته می‌شود (Saha, Chowdhury, Saini, & Babu, 2014). در همین راستا موکانو و همکاران (Mocanu et al., 2019) در مطالعه‌ای که بر روی فیلم حاوی نانوذرات اکسید روی و عصاره بره‌موم انجام دادند گزارش دادند که در غیاب امواج فراصوت، ساختارهای معدنی اکسید روی اندازه‌ها و شکل‌های مختلفی داشتند، در حالی که در مورد روش سنتز با کمک امواج فراصوت، نانوذرات معدنی به‌دلیل کاهش اثر رشد ذرات، به‌طور یکنواخت توزیع شده‌اند (Mocanu et al., 2019). در مطالعه‌ی دیگری که سلامه و همکاران (Salama et al., 2024) روی سنتز نانوذرات اکسید روی با استفاده از عصاره بره‌موم انجام دادند، گزارش دادند که نانوذرات سنتز شده دارای اندازه کوچک با توزیع مناسب و تقریباً یکنواخت هستند، همچنین این مطالعه اثر هم‌افزایی را هنگام ترکیب بره‌موم با نانوذرات اکسید روی سنتز شده به روش سبز نشان داد که به‌طور قابل توجهی کارایی آن‌ها را در برابر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی افزایش داد (Salama et al., 2024). رفیعی و همکاران (Rafiee et al., 2018) در مطالعه‌ای که روی سنتز نانوذرات اکسید روی با استفاده از استات روی و عصاره برگ گیاه اکالیپتوس انجام دادند. گزارش کردند که نانوذرات اکسید روی سنتز شده دارای اثر ضد میکروبی قابل توجهی نسبت به باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* می‌باشد (Rafiee et al., 2018). شارما و همکاران (Sharma, Jandaik, & Kumar, 2016)، اثر نانوذرات اکسید روی علیه تعدادی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا از جمله *کلبسیلا پنومونیه*، *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *سالمونلا تیفی*، *باسیلوس سوبتیلیس* را بررسی و مشاهده کردند که نانوذرات تأثیر کمتری بر باکتری‌های گرم منفی دارند. تحقیقات زیادی در جهت کاهش اثرات مخرب ضایعات پلاستیکی از طریق جایگزین کردن این مواد با منابع تجدیدپذیر بر پایه بیوپلیمرها انجام شده است. در این میان علم بسته‌بندی از زمینه‌های تحقیقاتی است که بسیار مورد توجه قرار گرفته است. بسته‌بندی‌های زیست‌تخریب‌پذیر به‌طور معمول از پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها و لیپیدها به‌تنهایی و یا به‌شکل ترکیب شده و یا لامینه ساخته می‌شوند. با وجود

ارگانیسم‌ها، ایجاد آسیب غشایی، آسیب به DNA، التهاب در سلول و تغییر در تعاملات سلولی مرتبط می‌دانند (Sanaeimehr, Javadi, & Namvar, 2018). امروزه باتوجه به خصوصیات جالب مواد با ابعاد نانومتری، تولید و استفاده از آن‌ها بسیار مورد توجه قرار گرفته است. روش‌های مختلفی برای سنتز نانوذرات وجود دارد. سنتز نانو ذرات به‌روش شیمیایی، ممکن است عوارض جانبی برای سلامت انسان و محیط‌زیست داشته باشد. از این‌رو استفاده از روش سنتز سبز می‌تواند گزینه مناسبی برای غلبه بر این محدودیت باشد. سنتز نانوذرات فلزی با استفاده از روش‌های سبز به‌دلیل خواص متفاوت نوری، شیمیایی، فتوالکتروشیمی و الکترونیکی توجه زیادی را به خود جلب کرده است. همچنین سنتز نانوذرات به‌روش سبز، روشی پاکیزه، غیرسمی و سازگار با محیط‌زیست است (Shankar, Rai, Ahmad, & Sastry, 2004). تحقیقات نشان داده است که نانوذرات سنتز شده توسط گیاهان، نسبت به نانو ذرات حاصل از فعالیت سایر موجودات سریع‌تر ساخته شده و با ثبات‌تر هستند (Rafiee, Ghani, Sadeghi, & Ahsani, 2018). اساس این روش بر آن است که زیست مولکول‌هایی که در گیاهان یافت می‌شوند کاهش یون‌های فلزی به نانوذرات را باعث می‌شوند. این فرآیند کاهش، خارج سلولی و سریع بوده که منجر به توسعه سنتز زیستی نانوذرات است. برخی از مهمترین ترکیبات فعال موجود در عصاره گیاهان که مسئول کاهش یون‌های فلزی هستند، عوامل آنتی‌اکسیدانی محلول در آب مانند اسید آسکوربیک، کربوهیدرات‌ها، ترکیبات ثانویه همچون کتون‌ها و آلدهیدها و همچنین ترکیبات فنولی می‌باشند که نقش عامل کاهنده را دارند. به زبان ساده می‌توان گفت که این ترکیبات طبیعی حاوی مواد احیا کننده‌ای هستند که وقتی نمک‌های فلزی در معرض آن قرار می‌گیرند موجب کاهش آن‌ها به یون‌های فلزی می‌شوند (Soleimani-Gorgani & Alborz, 2020). بره‌موم نوعی ترکیب گیاهی فرآوری شده توسط زنبور عسل می‌باشد که شبیه موم بوده و ظاهر آن به‌دلیل دخالت عوامل زیادی، ممکن است به‌طور گسترده‌ای متفاوت باشد. اما به‌طور معمول حالت آن خمیری و رنگ آن از سبز، قرمز تا قهوه‌ای تیره متفاوت است. بره‌موم دارای ترکیبات فنولی زیادی می‌باشد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهند (Fernandes et al., 2007). آجنگ و همکاران (Dwi Ajeng et al., 2007) به کمک عصاره متانولی بره‌موم نانوذرات اکسید روی سنتز کردند و اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضددیابتی نانوذرات سنتز شده را مورد بررسی قرار دادند. اما در خصوص تأثیر غلظت پیش‌ساز سنتز نانوذره و همچنین عصاره اتانولی بره‌موم بر روی اندازه، مورفولوژی و راندمان نانوذرات اکسید روی مطالعه‌ای صورت نگرفته است. در انجام فرآیند سنتز سبز می‌توان از فراصوت نیز به‌عنوان روش کمکی استفاده نمود. فراصوت به جهت از هم‌گسیختگی سلول‌ها و

### آماده‌سازی و تهیه نمونه‌ها

تولید نانو ذرات اکسید روی با روش سنتز سبز به این ترتیب بود که ابتدا نیترا ت روی با غلظت‌های مختلف ۰/۰۷۵، ۰/۱۵ و ۰/۲۵ مولار تهیه شد. عصاره اتانولی برهموم به آرامی و قطره قطره به محلول نیترا ت روی تهیه شده اضافه شد. واکنش مذکور بر روی هیتر استیرر (FarTest, HPMA 700، ایران) در دمای ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۵ ساعت انجام شد. pH محلول در طول انجام واکنش با استفاده از سدیم هیدروکسید به ۱۰ رسانده شد به طوری که پس از پایان اختلاط، رسوب نانو ذرات اکسید روی و عصاره باقیمانده به رنگ آجری در ته ظرف مشاهده گردید. رسوبات به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتریفوژ (FarTest, VS4000C، ایران) شد. پس از این مرحله رسوبات اکسیدروی انباشته شده، به منظور جداسازی ناخالصی‌ها با آب مقطر شست‌وشو داده شد و در نهایت در کوره الکتریکی ۳۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت قرار گرفت. پس از این زمان، نانو ذرات اکسید روی به رنگ خاکستری کم‌رنگ تا سفید قابل برداشت بود (Taherian, Hosseini, Jafari, & Etminan, 2019). برای تهیه نانوذرات اکسید روی سنتز شده با عصاره برهموم در روش استفاده از امواج فراصوت، محلول آجری رنگ به دست آمده حاصل از احیای نیترا ت نقره با عصاره اتانولی برهموم، قبل از سانتریفوژ در حمام فراصوت (RoHS، کره جنوبی) به مدت ۱۵ دقیقه تحت امواج فراصوت قرار گرفت و سپس ادامه کار مشابه با روش فوق انجام شد. برای تهیه عصاره الکی برهموم ۱۵ گرم برهموم با ۲۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۹ درصد مخلوط شده و به مدت ۲۴ ساعت در شیکر ۱۸۰ دور در دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. محلول حاصل با کاغذ واتمن شماره ۱ فیلتر شد. در نهایت در روتاری اوپراتور (Laborota 4000، آلمان) در ۴۵ درجه سلسیوس آماده شد (Ghramh, Khan, Ibrahim, & Ansari, 2019).

### تعیین ویژگی‌های نانوذرات سنتز شده

برای بررسی پیوندهای پودر نانوذرات حاصله از آزمون FTIR با کمک دستگاه طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل به فوریه (Tensor 27، آلمان) استفاده گردید. مورفولوژی نانوذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) (TESCAN/VEGA، ساخت کشور جمهوری چک) مشخص شد. پس از تهیه تصاویر میکروسکوپی، به منظور بررسی اندازه نانوذرات از نرم‌افزار Image.J 16 استفاده شد. بدین ترتیب که حداقل صد نانوذره در هر تصویر انتخاب شد و با استفاده از این نرم‌افزار، اندازه آنها محاسبه و میانگین اندازه ذرات تعیین گردید. همچنین هیستوگرام توزیع اندازه ذرات نیز برای هر نمونه رسم شد. برای تعیین شرایط مناسب تولید نانو ذرات اکسید روی، از روش SEM استفاده شد.

مزایای زیاد بسته‌های زیست‌تخریب‌پذیر، کاربرد این مواد به دلیل بسته‌بندی ضعیف در مقایسه با پلیمرهای پلاستیکی محدود است. جهت مقابله با این مشکل و بهبود خواص فیزیکی و مکانیکی این بیوپلیمرها، راهکارهایی از جمله مخلوط کردن بیوپلیمرها و تولید فیلم‌های کامپوزیت با استفاده از تقویت کننده‌های نانو مانند نانوالیاف معدنی و آلی و تولید فیلم‌ها و پوشش‌های بیونانوکامپوزیت می‌باشد (Ghanbarzadeh, Pezeshki Najafabadi, & Almasi, 2011). مواد مختلفی از جمله پروتئین‌ها مانند آب پنیر، کازئینات، ژلاتین و پلی‌ساکاریدها مانند نشاسته، آلژینات‌ها، سلولز و کیتوزان در تولید فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر استفاده می‌شوند. پروتئین‌ها به دلیل داشتن ویژگی‌هایی مانند قدرت تشکیل شبکه و الاستیسیته خوب، ترکیبات مناسبی جهت ساخت بسته‌بندی‌های زیست‌تخریب‌پذیر می‌باشند. در این بین ساخت فیلم و پوشش ایزوله پروتئین آب‌پنیر به دلیل خوراکی بودن، قابلیت زیست تخریب‌پذیری، توانایی تولید فیلم و پوشش شفاف، بی‌رنگ و بی‌بو بودن، ارزانی و فراوانی نسبی بالا و همچنین ممانعت‌کنندگی بالا در برابر اکسیژن و ترکیبات آروماتیک در رطوبت نسبی پایین مورد توجه قرار گرفته است، اما خواص مکانیکی ضعیف این فیلم‌ها مانند استحکام کششی کم، سفتی ذاتی و خاصیت ضعیف ممانعتی به بخار آب، کاربرد آن‌ها را محدود کرده است و استفاده از نانوذرات و تولید فیلم‌های نانوکامپوزیت یکی از روش‌های بهبود خصوصیات مواد بسته‌بندی بر پایه پروتئین‌های آب پنیر محسوب می‌شود (Manjamadha & Muthukumar, 2016). تاکنون مطالعه‌ای در زمینه سنتز سبز نانوذرات اکسید روی با استفاده از عصاره اتانولی برهموم و بررسی تأثیر تیمار کمکی فراصوت بر خصوصیات این نانوذرات انجام نشده است. در این پژوهش نانوذرات اکسید روی با استفاده از روش احیای نیترا ت نقره و با کمک عصاره اتانولی برهموم سنتز شده و اثر تیمار فراصوت بر روی خصوصیات نانوذرات بررسی شد. سپس نانوذرات سنتز شده در تولید فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر بر پایه ایزوله پروتئین آب‌پنیر مورد استفاده قرار گرفتند و خصوصیات فیلم‌های تولید شده بررسی شد.

### مواد و روش‌ها

نیترا ت روی از شرکت مرک آلمان، ایزوله پروتئین آب پنیر از شرکت هیلمار آمریکا و معرف دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) از شرکت سیگما آلدریج آلمان خریداری شدند. محیط‌کشت مولر هینتون آگار کیولب و باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC 1112) و *اشرشیا کلی* (PTCC 1330) H157: o7 از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران، تهیه شدند. برهموم نیز از بازار شهر ارومیه تهیه شد.

پوشانده شده با فیلم در دسیکاتور حاوی محلول اشباع شده  $K_2SO_4$  و رطوبت نسبی ۹۹ درصد در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند. سپس بطری‌ها در فواصل ۳ ساعته ده بار وزن شدند. سرعت انتقال بخار آب (WVTR) از شیب تغییر جرم بطری در برابر منحنی زمان تقسیم بر منطقه دهانه بطری شیشه (متر مربع) تعیین شد. سپس نفوذپذیری به بخار آب فیلم با استفاده از رابطه ۲ محاسبه گردید (Jafari, Pirouzifard, Khaledabad, & Almasi, 2016).

$$WVP = \frac{WVPR * L}{\Delta P} \quad (2)$$

در این معادله WVTR به‌عنوان سرعت انتقال بخار آب ( $g/m^2s$ ) اندازه‌گیری می‌شود،  $L$  میانگین ضخامت فیلم (متر) و  $\Delta P$  اختلاف فشار بخار آب (۳۱۱۵/۴۲ پاسکال) در دو سمت فیلم می‌باشد.

### خواص مکانیکی

تعیین رفتار مکانیکی فیلم‌ها با آزمون تنش-کرنش مورد ارزیابی قرار گرفت. مقاومت کششی (TS)، کشیدگی در هنگام شکست (EB) و مدول یانگ (YM) از هر نمونه فیلم با توجه به روش آزمون استاندارد ASTM D-882 اندازه‌گیری شد (Almasi, Azizi, & Amjadi, 2020). قطعات فیلم به ابعاد ۱ در ۵ سانتی‌متر بریده شده و در بین دو فک دستگاه قرار گرفت و با سرعت ۱۰ میلی‌متر در دقیقه تحت نیروی کشش قرار گرفت و فاکتورهای TS و EB و YM توسط دستگاه محاسبه و گزارش شد.

### تعیین خاصیت آنتی‌اکسیدانی

برای تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها از روش مهار رادیکال آزاد DPPH استفاده شد. ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم از هر نمونه فیلم در ۲ میلی‌لیتر اتانول بصورت مداوم به‌مدت ۲ دقیقه همزده شد و ۱ میلی‌لیتر محلول عصاره فیلم به ۰/۲ میلی‌لیتر محلول DPPH (۰/۰۴ گرم در لیتر) در اتانول اضافه گردید. مخلوط ورتکس شد و سپس به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در جای تاریک نگهداری شد. کاهش جذب در ۵۱۷ نانومتر با دستگاه طیف‌سنج UV-Vis تعیین گردید. در نهایت، فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از رابطه ۳ به‌عنوان درصد فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH اندازه‌گیری شد (Almasi et al., 2020).

$$\text{Inhibition \%} = \left( \frac{\text{absorbance of control} - \text{absorbance of sample}}{\text{absorbance of control}} \right) \times 100 \quad (3)$$

جذب کنترل میزان جذب محلول DPPH بدون حضور عصاره فیلم و جذب نمونه میزان جذب محلول DPPH در حضور عصاره فیلم است.

### خصوصیات ضد میکروبی فیلم

در این روش شکل نانو ذرات سنتز شده مورد بررسی قرار گرفته و نمونه برتر از لحاظ مورفولوژی در تولید فیلم مورد استفاده قرار گرفت (Rezai, Pirs, & Chavoshizadeh, 2020).

### تهیه فیلم فعال

روش تهیه فیلم بدین‌صورت بود که مقدار ۳ گرم از پودر ایزوله پروتئین آب‌پنیر در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به‌مدت یک ساعت حل شد. سپس با استفاده از سدیم هیدروکسید ۰/۱ نرمال در دمای ۷۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۴۵ دقیقه pH محلول به ۸ رسانده شد. در مرحله بعد، دمای محلول تا دمای اتاق کاهش داده شد و به آن گلیسرول به نسبت ۳۰ درصد وزن خشک اضافه گردید. پس از آن پودر نانو اکسید روی انتخاب شده، در سه سطح ۳، ۵ و ۷ درصد به محلول فیلم به‌آرامی اضافه شد. در نهایت ۲۵ گرم از محلول فیلم داخل پلیت پلاستیکی به قطر ۱۰ سانتی‌متر ریخته و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد تا خشک گردد (Ghadetaj, Almasi, & Mehryar, 2018). برای نمایش غلظت ZnO از کدهای ZnO<sub>3</sub> و ZnO<sub>5</sub> استفاده شد. برای نشان دادن انجام یا عدم انجام تیمار فراصوت بر روی نانو ذرات استفاده شده نیز از کد US استفاده شد.

### آزمون حلالیت فیلم

حلالیت<sup>۱</sup> فیلم‌ها بدین‌ترتیب اندازه‌گیری شد که ابتدا فیلم با ابعاد ۲×۲ cm برش داده شده سپس در آون (T5050 EK، شرکت Haraeus، آلمان) ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت قرار گرفته و وزن گردید (M<sub>1</sub>). پس از این مرحله قطعات فیلم در بشر حاوی ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار گرفته و بشر در انکوباتور شیکر در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۲۴ ساعت نگهداری گردید. در نهایت تکه‌های باقی‌مانده فیلم در آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت قرار گرفته و مجدداً وزن گردید (M<sub>2</sub>). حلالیت فیلم‌ها از رابطه ۱ محاسبه شد (Rezai et al., 2020).

$$\text{Solubility}(\%) = \left( \frac{M_1 - M_2}{M_1} \right) \times 100 \quad (1)$$

در این معادله M<sub>1</sub> وزن اولیه فیلم (gr) و M<sub>2</sub> وزن ثانویه پس از حل شدن در آب و خشک کردن (g) می‌باشد.

### نفوذپذیری به بخار آب

WVTR<sup>۲</sup> فیلم‌ها با استفاده از استاندارد ASTM E96-05 با برخی تغییرات به‌صورت وزنی تعیین شد. برای انجام آزمایش از ویال‌های شیشه‌ای با قطر ۲۰ میلی‌متر و عمق ۴۵ میلی‌متر استفاده گردید. بطری‌ها با ۳ گرم CaCl<sub>2</sub> پر و با نمونه فیلم پوشانده شدند. بطری‌های

که سلامه و همکاران (Salama et al., 2024) بر روی نانوذرات اکسید روی با استفاده از عصاره برهموم انجام دادند، گزارش دادند که نانوذرات سنتز شده دارای اندازه کوچک با توزیع مناسب و تقریباً یکنواخت هستند. از طرفی همانطور که مشاهده شد افزایش مقدار نیترات روی باعث زبر شدن سطح نانوذرات و افزایش اندازه نانوذرات شد. میانگین اندازه ذرات در غلظت ۰/۰۷۵ مولار نیترات نقره در هر دو تیمار، زیر ۱۰۰ نانومتر بود (۹۸ نانومتر نمونه بدون فراصوت و ۸۱ نانومتر با تیمار فراصوت). با افزایش غلظت نیترات نقره، میانگین اندازه ذرات بیشتر شد و در غلظت ۰/۲۵ مولار و بدون فراصوت به ۲۱۱ نانومتر افزایش یافت و در نمونه تیمار شده با فراصوت به ۱۶۱ نانومتر رسید. بطور کلی نمونه‌هایی که با فراصوت سنتز شده‌اند مورفولوژی همگن تری نسبت به حالت بدون فراصوت داشتند. طوری که نانوذره در غلظت ۰/۲۵ مولار نیترات روی سنتز شده با فراصوت هر چند که اندازه بزرگتری داشت اما به دلیل تراکم مناسب، شکل منظم و توزیع یکنواخت ذرات، بهترین عملکرد را نشان داد. به‌طور کلی، عوامل متعددی مانند pH واکنش، غلظت واکنش‌دهنده که با غلظت ترکیبات زیست‌فعال عصاره مرتبط است، دمای واکنش و مدت زمان واکنش می‌توانند بر اندازه و مورفولوژی ذرات تأثیر بگذارند (Shah, Fawcett, Sharma, Tripathy, & Poinern, 2015). با توجه به تصاویر SEM نانوذره در غلظت ۰/۲۵ مولار نیترات روی سنتز شده با فراصوت علی‌رغم اندازه ذرات بزرگتر در مقایسه با غلظت‌های پایین، مورفولوژی بهتری نسبت به سایر نمونه‌ها داشت. در این نمونه فراصوت توانست با غلظت بالای یون فلزی، از ایجاد توده‌های درشت جلوگیری کرده و نانوذرات را به‌صورت نسبتاً پراکنده و همگن در سطح پخش کند. این ویژگی باعث می‌شود تا کاربرد این نانوذره در بسته‌بندی، عملکرد مناسب و نتایج بهتری ارائه دهد. بنابراین به‌عنوان مطلوب‌ترین نانوذره انتخاب شده و همراه با نانوذره در غلظت ۰/۲۵ مولار نیترات روی بدون فراصوت به‌منظور مقایسه بهتر عملکرد آن در فیلم مورد بررسی قرار گرفت.

#### طیف‌سنجی FTIR

از تکنیک طیف‌سنجی FTIR برای مطالعه ترکیبات شیمیایی و ساختارهای عصاره برهموم، نانوذرات اکسید روی سنتز شده با عصاره برهموم با استفاده و بدون استفاده از فراصوت استفاده شد (شکل ۲). عصاره برهموم یک باند پهن در  $3341\text{ cm}^{-1}$  نشان داد که با ارتعاشات کششی مولکول گروه هیدروکسیل (OH) که در فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی وجود دارد و همچنین با ارتعاشات کششی پیوندهای آمیدی نوع دوم N-H در عصاره برهموم مرتبط است (Osman et al., 2023; Shahab-Navaei & Asoodeh, 2023).

برای انجام آزمون‌های تشخیص فعالیت ضد میکروبی، فیلم‌ها به شکل دیسک‌های دایره‌ای به قطر ۶ میلی‌متر بریده شدند. سوسپانسیون‌های باکتریایی استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1112) و اشرشیا کلی H157: o7 (PTCC 1330)، براساس استاندارد نیم مک فارلند تهیه شدند. مطابق با روش دیسک دیفیوژن، فیلم‌های بریده شده در فواصل مناسب از هم بر روی محیط کشت مولر هیتتون آگار تلقیح شده با میکروارگانیسم‌های مذکور قرار داده شد و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس قرار گرفتند. پس از طی مدت زمان مورد نظر، هاله مهاری رشد مورد ارزیابی قرار گرفته و بر اساس میلی‌متر گزارش شد (Almasi et al., 2020).

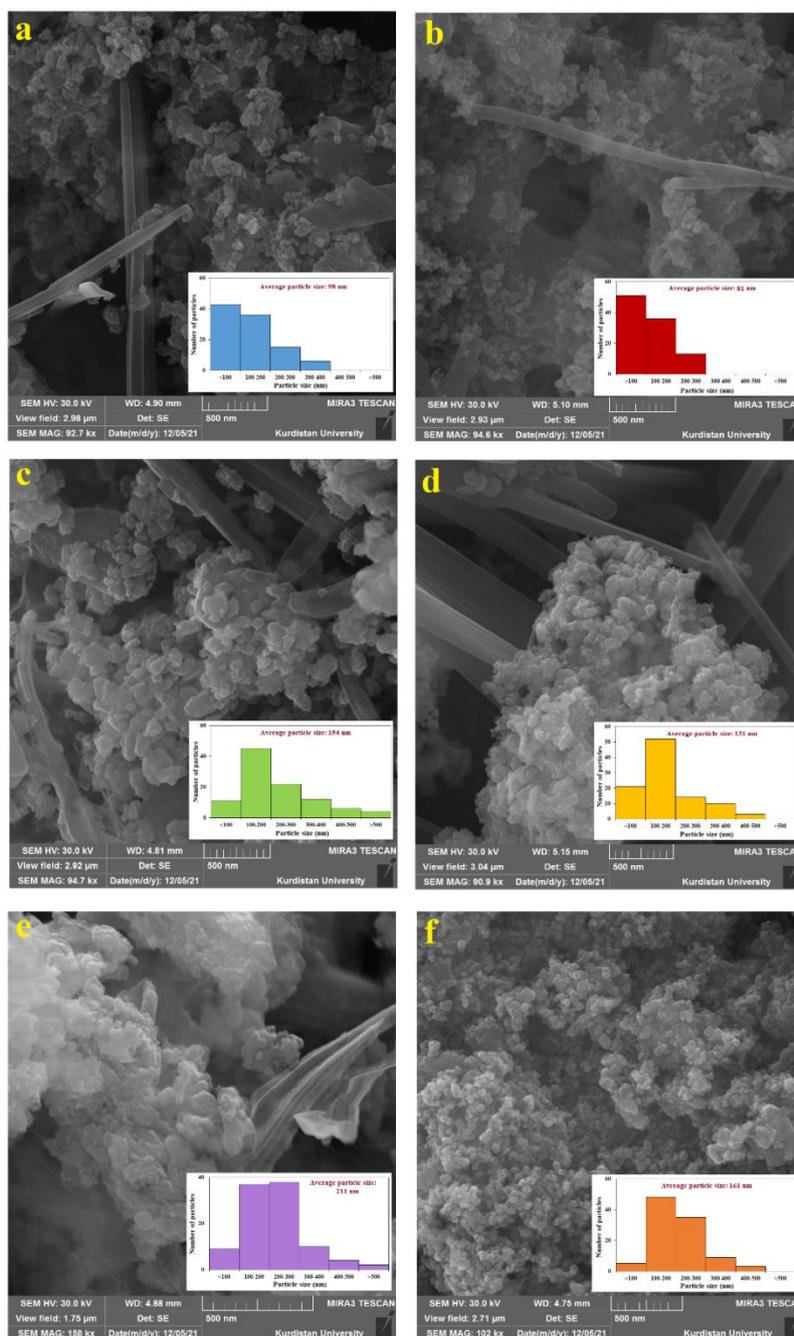
#### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آنالیز آماری داده‌های بدست آمده از تست‌های مختلف انجام شده بر روی فیلم‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS ورژن ۲۲ به کمک آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن در سطح  $p < 0.05$  مورد بررسی قرار گرفت. از نرم‌افزار Excel برای رسم نمودارها استفاده شد و داده‌ها به‌صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد گزارش شدند.

#### نتایج و بحث

##### مورفولوژی

در شکل ۱ تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM نانوذرات اکسید روی سنتز شده با عصاره برهموم در سه غلظت مختلف نیترات روی (۰/۰۷۵، ۰/۱۵ و ۰/۲۵) و به دو روش سنتز با و بدون استفاده از امواج فراصوت به همراه هیستوگرام توزیع اندازه ذرات نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود نانوذرات اکسید روی سنتز شده با عصاره برهموم با استفاده از فراصوت دارای اندازه ذرات کوچک‌تر با توزیع تقریباً مناسب و یکنواخت، عاری از فضای خالی یا ترک در مقیاس وسیع نسبت به نانوذرات تهیه شده بدون استفاده از فراصوت بودند. وجود امواج فراصوت امکان کنترل بهتر فرآیند به‌دست آوردن نانوذرات نسبتاً مونودیسپرس یا تک پخش را فراهم کرد. این موضوع به اثر کاویتاسیون امواج فراصوت برمی‌گردد که موجب شکسته شدن توده‌ها و جلوگیری از تجمع ذرات می‌شود. در راستا با این پژوهش موکانو و همکاران (Mocanu et al., 2019) در مطالعه‌ای که بر روی فیلم حاوی نانوذرات اکسید روی و عصاره برهموم انجام دادند گزارش دادند که در غیاب امواج فراصوت، ساختارهای معدنی اکسید روی اندازه‌ها و شکل‌های مختلفی داشتند، در حالی که در مورد روش سنتز با کمک امواج فراصوت، نانوذرات معدنی به‌دلیل کاهش اثر رشد ذرات، به‌طور یکنواخت توزیع شدند (Mocanu et al., 2019). در مطالعه‌ی دیگری



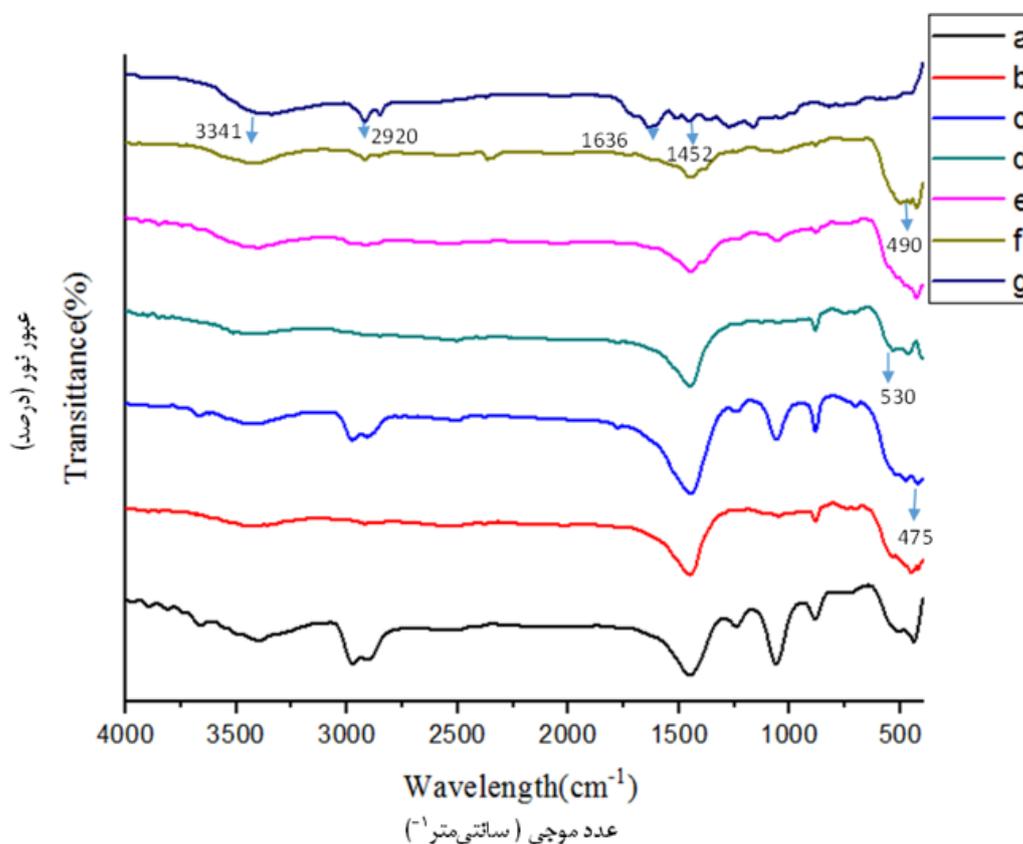
شکل ۱- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوذرات اکسید روی سنتز شده با عصاره بره‌موم

a (نانوذره سنتز شده با ۰/۰۷۵ مولار نیترات روی بدون فراصوت)، b (نانوذره سنتز شده با ۰/۰۷۵ مولار نیترات روی با فراصوت)، c (نانوذره سنتز شده با ۰/۱۵ مولار نیترات روی بدون فراصوت)، d (نانوذره سنتز شده با ۰/۱۵ مولار نیترات روی بدون فراصوت)، e (نانوذره سنتز شده با ۰/۲۵ مولار نیترات روی بدون فراصوت)، f (نانوذره سنتز شده با ۰/۲۵ مولار نیترات روی با فراصوت)

**Fig. 1. Scanning electron microscope images of zinc oxide nanoparticles synthesized with propolis extract**  
a (nanoparticle synthesized by 0.075 molar zinc nitrate without ultrasound), b (nanoparticle synthesized by 0.075 molar zinc nitrate with ultrasound), c (nanoparticle synthesized by 0.15 molar zinc nitrate without ultrasound), d (nanoparticle synthesized by 0.15 molar zinc nitrate without ultrasound), e (nanoparticle synthesized by 0.25 molar zinc nitrate without ultrasound), f (nanoparticle synthesized by 0.25 molar zinc nitrate with ultrasound)

کششی و خمشی C-H از حلقه‌های آروماتیک، که به‌طور خاص با مواد شیمیایی فنلی مرتبط هستند، در محدوده  $500-900\text{ cm}^{-1}$  شناسایی می‌شوند. همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده است در طیف نانوذرات سنتز شده، کاهش شدت یا حذف برخی باندهای موجود در عصاره برهموم مشاهده شد که بیانگر شرکت این گروه‌های عاملی در فرآیند احیای یون‌های روی و حذف ترکیبات فنولی برهموم پس از سنتز نانوذره است (Ahmed, Ahmad, Swami, & Ikram, 2016). علاوه بر این باند مشخصه‌ای در ناحیه  $470$  تا  $530\text{ cm}^{-1}$  ظاهر شد که به پیوند Zn-O مربوط بوده و تأیید کننده تشکیل موفق نانوذرات اکسید روی است (Salama et al., 2024).

ارتعاشات کششی گروه‌های  $\text{CH}_2$  نامتقارن در  $2920\text{ cm}^{-1}$  و ارتعاشات متقارن آن در  $2852\text{ cm}^{-1}$  ناشی از مواد آلی هستند که شامل گروه‌های هیدروکربنی یا زنجیره‌های آلیفاتیک هستند (Osman et al., 2023). ارتعاشات کششی کربونیل (C=O) که در موادی مانند فلاونوئیدها و اسیدهای فنلی دیده می‌شود، در پیک  $1636\text{ cm}^{-1}$  نشان داده شده است (Munoz, Ferrari, Sancho, & Montaña, 2016). ارتعاشات کششی C-H خانواده فلاونوئیدها توسط نوارهای جذبی در  $1452\text{ cm}^{-1}$  و  $1376\text{ cm}^{-1}$  نشان داده می‌شوند. این پیک‌ها با نشان دادن اجزای ساختاری خاص موجود در فلاونوئیدها، به شناسایی آن‌ها کمک می‌کنند (PP, 2020). معمولاً، باندهایی در مورد ارتعاشات



شکل ۲- نتایج مربوط به طیف سنجی FTIR عصاره برهموم و نانوذرات اکسید روی سنتز شده با آن

a (نانوذره سنتز شده با  $0.075$  مولار نیترات روی بدون فراصوت)، b (نانوذره سنتز شده با  $0.075$  مولار نیترات روی با فراصوت)، c (نانوذره سنتز شده با  $0.15$  مولار نیترات روی بدون فراصوت)، d (نانوذره سنتز شده با  $0.15$  مولار نیترات روی بدون فراصوت)، e (نانوذره سنتز شده با  $0.25$  مولار نیترات روی بدون فراصوت)، f (نانوذره سنتز شده با  $0.25$  مولار نیترات روی با فراصوت)، g (عصاره برهموم)

Fig. 2. FTIR spectroscopy results of propolis extract and the synthesized ZnO nanoparticles

a (nanoparticle synthesized by  $0.075$  molar zinc nitrate without ultrasound), b (nanoparticle synthesized by  $0.075$  molar zinc nitrate with ultrasound), c (nanoparticle synthesized by  $0.15$  molar zinc nitrate without ultrasound), d (nanoparticle synthesized by  $0.15$  molar zinc nitrate without ultrasound), e (nanoparticle synthesized by  $0.25$  molar zinc nitrate without ultrasound), f (nanoparticle synthesized by  $0.25$  molar zinc nitrate with ultrasound), g) propolis extract

مقایسه نمونه‌های با و بدون فراصوت نشان داد که نمونه‌های تیمار شده با فراصوت دارای باند Zn-O با شدت بالاتر و باندهای آلی ضعیف تر بودند که بیانگر خلوص بالاتر و برهمکنش قوی‌تر نانوذرات باهم در اثر استفاده از امواج فراصوت است. همچنین با افزایش غلظت نیترات روی از ۰/۰۷۵ به ۰/۲۵ مولار، شدت باند Zn-O افزایش یافت که احتمالاً به دلیل افزایش بازده تشکیل نانوذرات می‌باشد. این نتایج تأیید می‌کند که عصاره برهموم به‌عنوان کاهنده و پایدار کننده عمل کرده و امواج فراصوت با افزایش بازده واکنش، منجر به بهبود کیفیت ساختاری نانوذرات اکسید روی شده‌اند. نتایج مشابه پژوهش حاضر توسط سلامه و همکاران (Salama et al., 2024) گزارش شد که یافته‌های بدست آمده در پژوهش حاضر را تأیید می‌نماید.

مقایسه نمونه‌های با و بدون فراصوت نشان داد که نمونه‌های تیمار شده با فراصوت دارای باند Zn-O با شدت بالاتر و باندهای آلی ضعیف تر بودند که بیانگر خلوص بالاتر و برهمکنش قوی‌تر نانوذرات باهم در اثر استفاده از امواج فراصوت است. همچنین با افزایش غلظت نیترات روی از ۰/۰۷۵ به ۰/۲۵ مولار، شدت باند Zn-O افزایش یافت که احتمالاً به دلیل افزایش بازده تشکیل نانوذرات می‌باشد. این نتایج تأیید می‌کند که عصاره برهموم به‌عنوان کاهنده و پایدار کننده عمل کرده و امواج فراصوت با افزایش بازده واکنش، منجر به بهبود کیفیت ساختاری نانوذرات اکسید روی شده‌اند. نتایج مشابه پژوهش حاضر توسط سلامه و همکاران (Salama et al., 2024) گزارش شد که یافته‌های بدست آمده در پژوهش حاضر را تأیید می‌نماید.

## بررسی ویژگی‌های فیلم

### حلالیت

حلالیت یک ویژگی مهم در فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر است، زیرا می‌تواند میزان مقاومت فیلم نسبت به آب، به خصوص در محیط حاوی رطوبت مثل فرآورده‌های گوشتی و هم چنین سرعت آزاد شدن ترکیبات ضداکسیداسیونی و ضد میکروبی فیلم را زمانی که در تماس با سطح ماده غذایی است، تعیین کند. نتایج حاصل از آزمون حلالیت در جدول ۱ نشان داده شده است. همانطور که ملاحظه می‌شود افزودن نانوذرات اکسیدروی و استفاده از امواج فراصوت در سنتز نانوذرات بر درصد حلالیت فیلم‌ها اثر معنی‌داری داشت ( $P < 0/05$ ). فیلم شاهد دارای بالاترین درصد حلالیت بود که نشان‌دهنده ساختار کمتر متراکم و قابلیت جذب آب بیشتر آن است. اما با افزودن نانوذرات اکسید روی سنتز شده با فراصوت و بدون فراصوت درصد حلالیت کاهش یافت. این کاهش در نمونه‌های حاوی نانوذرات سنتز شده با فراصوت بیشتر بود. طوری که نمونه حاوی ۷ درصد نانوذره اکسید روی سنتز شده با فراصوت کمترین حلالیت را داشت. این کاهش احتمالاً ناشی از ماهیت غیر قابل حل نانوذرات اکسید روی و افزایش پیوندهای عرضی آنها با زنجیره‌های پروتئینی است. علت کاهش بیشتر حلالیت در نمونه‌های حاوی نانوذرات اکسید روی سنتز شده با فراصوت را می‌توان به اندازه کوچکتر، توزیع یکنواخت‌تر و واکنش‌پذیری بالاتر نانوذرات حاصل از فرآیند فراصوت دانست که منجر به تقویت بیشتر ساختار شبکه‌ای فیلم و کاهش نفوذ آب می‌گردد. مطالعات نشان داده‌اند که افزودن نانو اکسید روی موجب تشکیل پیوند هیدروژنی بین نانو اکسید روی و ماتریکس پلیمرها می‌شود و به این ترتیب اتصالات مولکول‌های آزاد آب با گروه‌های آب‌دوست بیوپلیمرها در مقایسه با نمونه شاهد کمتر شده و متعاقباً حلالیت فیلم کاهش می‌یابد (Tunç & Duman, 2010). نبوی و همکاران (Nabavi, Esmaili, & )

### نفوذپذیری به بخار آب

یکی از پارامترهای مهم فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر نفوذپذیری به بخار آب است که نقش مهمی در ایجاد فساد و واکنش‌های مخرب مواد غذایی ایفا می‌کند. نتایج مربوط به نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های حاوی نانوذرات اکسید روی سنتز شده با استفاده از فراصوت و بدون فراصوت در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که افزودن نانوذرات اکسید روی در مقایسه با نمونه شاهد میزان نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد ( $P < 0/05$ ). طوری که این کاهش در فیلم‌های حاوی نانوذرات اکسیدروی سنتز شده با فراصوت بیشتر از نمونه‌های بدون فراصوت است. کاهش معنی‌دار در میزان نفوذپذیری به بخار آب بعد از افزودن نانو اکسید روی ممکن است موجب به وجود آمدن مسیری پر پیچ و خم برای عبور مولکول‌های بخار آب گردد (Yu, Yang, Liu, & Ma, 2009). به علاوه افزودن نانو اکسید روی ممکن است موجب ایجاد لایه‌هایی شود که سدی در برابر آب ایجاد می‌کند و ذرات آب را مجبور می‌کند تا فضای پر پیچ و خمی را طی کند، بنابراین افزودن آن به پلیمر موجب افزایش خواص بازدارندگی آن می‌شود (Adame & Beall, 2009). نبوی و همکاران

تایپوکا/ژلاتین گاوی و پلی اتیلن/پلی کاپرولاکتون گزارش شده است. علاوه بر این غفوری آهنگر و همکاران (Ghafoori Ahangar *et al.*, 2018) در مطالعه‌ای که روی ارزیابی خصوصیات فیلم دولایه آگار/کازئینات سدیم حاوی نانوذرات اکسید روی انجام دادند گزارش کردند که افزودن ۲ درصد اکسید روی به فیلم دولایه باعث کاهش بیش از ۳۲ درصد نفوذپذیری نسبت به بخار آب در فیلم تولیدی شد. در تحقیقی که در سال ۲۰۱۴ توسط کنمانی و رحیم انجام شد خصوصیات بیوفیلم‌های ساخته شده بر پایه آگار، کاراگینان و کربوکسی متیل سلولز و نانوذرات اکسید روی به‌عنوان ترکیب ضد میکروبی بررسی شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که افزودن نانوذرات روی موجب کاهش نفوذپذیری به بخار آب گردید (Kanmani & Rhim, 2014).

(Nabavi *et al.*, 2025) در مطالعه‌ای که بر روی فیلم فعال حاوی نانوذره اکسید روی و اسانس گیاه زولنگ انجام دادند گزارش کردند که افزایش مقدار نانوذره در فیلم باعث کاهش نفوذ پذیری به بخار آب می‌شود. در مطالعه مشابهی که اجاق و همکاران (Ojagh *et al.*, 2017) بر روی اثر افزودن نانوذرات اکسید روی بر روی ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم دولایه آگار- کاپاکاراگینان انجام دادند گزارش دادند که افزودن نانوذرات اکسید روی باعث کاهش نفوذ پذیری به بخار آب شد. نفچی و همکاران (Nafchi, Mahmud, & Robal, 2012)، مرویزاده و همکاران (Marvizadeh, Mohammadi, 2014) و رسکک و همکاران (Nafchi, & Jekar, 2014) و رسکک و همکاران (Kratofil Krehula, Katančić, & Hrnjak-Murgić, 2015) نتایج مشابهی در خصوص کاهش نفوذپذیری نسبت به بخار آب پس از ترکیب نانوذرات اکسید روی به بیوپلیمرهای نشاسته ساگو، نشاسته

جدول ۱- حلالیت (%) و نفوذپذیری به بخار آب ( $\text{gm}^{-1}\text{s}^{-1}\text{pa}^{-1}$ ) فیلم‌های تهیه شده با درصد‌های مختلف نانوذره اکسید روی

Table 1- Solubility (%) and water vapor permeability ( $\text{gm}^{-1}\text{s}^{-1}\text{pa}^{-1}$ ) of films prepared with different percentages of zinc oxide nanoparticles

نمونه‌ها Samples	حلالیت (%) Solubility	نفوذ پذیری به بخار آب ( $\times 10^{-7} \text{ gm}^{-1}\text{s}^{-1}\text{pa}^{-1}$ ) Water vapor permeability
Control	61.74±0.73 <sup>a</sup>	12.87±0.33 <sup>a</sup>
ZnO <sub>3</sub>	53.93±1.05 <sup>b</sup>	11.33±0.36 <sup>b</sup>
ZnO <sub>5</sub>	49.00 ±0.58 <sup>c</sup>	10.76 ±0.18 <sup>c</sup>
ZnO <sub>7</sub>	45.89 ±1.24 <sup>d</sup>	10.40 ±0.17 <sup>d</sup>
ZnO <sub>3</sub> -US	36.12 ±0.45 <sup>e</sup>	10.14 ±0.16 <sup>e</sup>
ZnO <sub>5</sub> -US	32.14 ±0.15 <sup>f</sup>	9.26 ±0.26 <sup>f</sup>
ZnO <sub>7</sub> -US	28.33 ±1.12 <sup>g</sup>	8.33 ±0.34 <sup>g</sup>

داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد (n=۳) گزارش شده‌اند. حروف غیر مشابه کوچک در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بین نمونه‌های فیلم می‌باشد.

Data are reported as mean ± standard deviation (n=3). Small non-identical letters in each column indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) between film samples.

با نتایج رسکک و همکاران (Rešček *et al.*, 2015) با افزودن نانو اکسید روی به پلی اتیلن/پلی کاپرولاکتون و مطالعات مرویزاده و همکاران (Marvizadeh *et al.*, 2014) پیرامون افزودن نانو اکسید روی به نشاسته تایپوکا/ژلاتین گاوی همخوانی داشت. میزان ازدیاد طول فیلم‌ها با افزایش درصد نانوذرات اکسید روی سنتز شده با و بدون فراصوت به‌طور معنی‌داری از ۱۸/۸۲ درصد در فیلم شاهد به ۵۱/۲۱ درصد در فیلم حاوی ۷ درصد نانوذره اکسید روی سنتز شده با فراصوت افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج حاصل از پژوهش غفوری آهنگر و همکاران (Ghafoori Ahangar *et al.*, 2018) در مطالعه‌ای که روی ارزیابی خصوصیات فیلم دولایه آگار/کازئینات سدیم حاوی نانوذرات اکسید روی انجام دادند

### ویژگی‌های مکانیکی

نتایج مربوط به مقاومت کششی، ازدیاد طول و مدول یانگ نیز در جدول ۲ نشان داده شده است. طبق نتایج بدست آمده با افزایش درصد نانوذرات، مقاومت کششی روند افزایشی نشان داد که این افزایش در نمونه‌های حاوی نانوذرات اکسید روی سنتز شده با فراصوت بیشتر از سایر نمونه‌ها بود.

بهبود مقاومت کششی فیلم‌ها در حضور درصد‌های بالای نانوذره ممکن است به دلیل نقش پرکنندگی نانوذرات در ساختار شبکه فیلم‌ها به دلیل نسبت منظر بسیار بالای این نانوذرات به‌عنوان یک پرکننده مناسب در ابعاد نانومتری و پراکنده شدن یکنواخت نانوذرات اکسید روی در بستر فیلم مبتنی بر ایزوله پروتئین آب پنیر باشد. نتایج این تحقیق

پرداخته شد. نتایج به دست آمده نشان داد که افزودن نانوذرات روی موجب افزایش ازباید طول فیلم‌ها می‌گردد (Kanmani & Rhim, 2014).

نتایج مربوط به مدول یانگ نیز نشان داد که با افزایش درصد نانوذرات اکسید روی سنتز شده با و بدون فراصوت در فیلم‌ها نسبت به نمونه شاهد مدول یانگ به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است ( $p < 0.05$ )، که این افزایش در نمونه‌های حاوی نانوذرات اکسید روی سنتز شده با فراصوت بیشتر از سایر نمونه‌ها بود. نتایج مشابهی برای افزایش مقاومت کششی و مدول یانگ توسط داش و همکاران (Dash, Ali, 2019) برای افزودن نانوذرات تیتانیوم دی اکسید به فیلم بر پایه نشاسته و پکتین ضایعات لیمو گزارش شد.

مطابقت داشت. علاوه بر این یافته‌های این پژوهش با یافته‌های بدست آمده در مطالعه اجاق و همکاران (Ojagh *et al.*, 2017) بر روی اثر افزودن نانوذرات اکسید روی بر روی ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی فیلم دولایه آگار-کاپاکاراگینان همخوانی داشت. در تحقیق انجام شده توسط قادر تاج و همکاران (Ghadetaj *et al.*, 2018) خصوصیات فیلم تهیه شده با ایزوله پروتئین آب‌پنیر حاوی نانو امولسیون و اسانس مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که که نانوامولسیون و اسانس، سبب افزایش یکپارچگی فیلم تشکیل یافته می‌گردد. به‌علاوه موجب بهبود خواص مکانیکی می‌گردد (Ghadetaj *et al.*, 2018). در تحقیقی که در سال ۲۰۱۴ توسط کمنانی و رحیم انجام شد به بررسی خصوصیات بیوفیلم‌های ساخته شده بر پایه آگار، کاراگینان، کربوکسی متیل سلولز و نانوذرات اکسید روی به‌عنوان ترکیب ضد میکروبی

جدول ۲- ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های تهیه شده با درصد‌های مختلف نانوذره اکسید روی

Table 2- Mechanical properties of films prepared with different percentages of zinc oxide nanoparticles

نمونه‌ها	مدول یانگ (مگاپاسکال)	ازباید طول (%)	مقاومت کششی (مگاپاسکال)
Samples	Young's modulus	Elongation	Tensile strength
Control	22.26 ± 0.04 <sup>g</sup>	18.82 ± 0.17 <sup>g</sup>	26.17 ± 0.45 <sup>g</sup>
ZnO <sub>3</sub>	28.11 ± 0.04 <sup>f</sup>	20.13 ± 0.14 <sup>f</sup>	30.24 ± 0.16 <sup>f</sup>
ZnO <sub>5</sub>	31.92 ± 0.06 <sup>e</sup>	29.38 ± 1.13 <sup>e</sup>	38.99 ± 1.78 <sup>e</sup>
ZnO <sub>7</sub>	43.94 ± 0.08 <sup>d</sup>	31.18 ± 1.04 <sup>d</sup>	42.34 ± 1.17 <sup>d</sup>
ZnO <sub>3</sub> -US	45.47 ± 0.07 <sup>c</sup>	38.25 ± 1.27 <sup>c</sup>	47.26 ± 0.15 <sup>c</sup>
ZnO <sub>5</sub> -US	48.91 ± 0.03 <sup>b</sup>	44.19 ± 1.01 <sup>b</sup>	50.26 ± 0.36 <sup>b</sup>
ZnO <sub>7</sub> -US	50.21 ± 0.05 <sup>a</sup>	51.21 ± 1.35 <sup>a</sup>	56.33 ± 0.14 <sup>a</sup>

داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد (n=3) گزارش شده‌اند. حروف غیر مشابه کوچک در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بین نمونه‌های فیلم می‌باشد.

Data are reported as mean ± standard deviation (n=3). Small non-identical letters in each column indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) between film samples.

اکسید روی و قابلیت جذب و اتصال به رادیکال آزاد، دلیل مشاهده فعالیت آنتی‌اکسیدانی در حضور این نانوذره محسوب می‌شود. افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه‌های حاوی نانوذرات سنتز شده با فراصوت نسبت به نمونه‌های بدون فراصوت می‌تواند به علت پراکنش یکنواخت تر نانوذرات در ساختار فیلم در اثر فراصوت و افزایش سطح تماس مؤثر نانوذرات به‌دلیل کاهش اندازه ذرات در اثر انرژی فراصوت باشد. در مقابل نمونه‌هایی که نانوذرات آن‌ها بدون استفاده از امواج فراصوت سنتز شده بودند، گرچه خاصیت آنتی‌اکسیدانی داشتند، اما این فعالیت نسبت به نمونه‌های فراصوت شده کمتر بود. این موضوع می‌تواند ناشی از تجمع نانوذرات، توزیع غیر یکنواخت در بستر فیلم و کاهش دسترسی رادیکال‌ها به نقاط فعال باشد. افزایش غلظت نانوذره در ماتریکس فیلم امکان رهایش آنها در هنگام تهیه عصاره فیلم مورد استفاده از آمون DPPH را افزایش می‌دهد و با بکارگیری تیمار فراصوت و کاهش اندازه ذرات، این رهایش بیشتر شده و در نتیجه

### خاصیت آنتی‌اکسیدانی (مهار رادیکال آزاد DPPH)

اکسیداسیون یکی از مهم‌ترین راه‌های فساد مواد غذایی در هنگام فرآوری و نگهداری می‌باشد، که ویژگی‌های حسی و تغذیه‌ای را تحت تأثیر قرار می‌دهد. اکسیداسیون چربی مسئول طعم و بوی تندشدگی، تشکیل ترکیبات سمی و کاهش کیفیت مواد غذایی می‌باشد. به‌دلیل اثرات مضر نگهدارنده‌ها و افزودنی‌های شیمیایی، تمایل به استفاده از ترکیبات ضد اکسایشی طبیعی در حال افزایش است. نتایج حاصل از فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH در جدول ۳ نشان داده شده است. همانطور که ملاحظه می‌شود خاصیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها با افزایش درصد نانوذرات اکسید روی سنتز شده با عصاره بره‌موم به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است ( $P < 0.05$ ).

فیلم شاهد فعالیت آنتی‌اکسیدانی حدود ۱۱ درصد را نشان داد که می‌تواند مربوط به خاصیت احیاکنندگی گروه‌های آمین موجود در اسیدهای آمینه ایزوله پروتئین آب پنیر باشد. فعالیت سطحی نانوذرات

این پارامترها را به نحو مطلوبی بهبود می‌بخشد. در پژوهشی که توسط راجکومار و همکاران (Rajakumar, Thiruvengadam, Mydhili, ) (Gomathi, & Chung, 2018) روی سنتز سبز نانوذرات اکسیدروی به کمک عصاره برگ *Paniculata Andrographis* انجام شد، گزارش شد که با افزایش غلظت نانوذره خاصیت آنتی‌اکسیدانی روند افزایشی نشان می‌دهد.

خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر می‌شود. به‌طور کلی نقش نانوذرات اکسید روی در بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه است. نانوذرات اکسید روی با داشتن سطح فعال بالا می‌توانند از طریق جذب سطحی رادیکال‌ها یا واکنش‌های سطحی در مهار فرآیندهای اکسایشی مشارکت داشته باشند. با این حال، اثر بخشی آن به اندازه، شکل و پراکنش ذرات در ماتریس بستگی دارد که استفاده از امواج فراصوت

جدول ۳- خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی فیلم‌های تهیه شده با درصد‌های مختلف نانوذره اکسید روی  
Table 3- Antioxidant and antimicrobial properties of films prepared with different percentages of zinc oxide nanoparticles

نمونه‌ها Samples	خاصیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant property (%)	قطر هاله عدم رشد	
		اثریشیا کلی H157: o7 Inhibition zone diameter (mm) <i>Escherichia coli</i> H157: o7	استافیلوکوکوس اورئوس Inhibition zone diameter (mm) <i>Staphylococcus aureus</i>
Control	11.27±0.55 <sup>g</sup>	-	-
ZnO <sub>3</sub>	35.34±0.34 <sup>f</sup>	8.56±0.28 <sup>f</sup>	10.34±1.34 <sup>f</sup>
ZnO <sub>5</sub>	49.14±0.18 <sup>e</sup>	10.19±0.16 <sup>e</sup>	15.14±1.18 <sup>e</sup>
ZnO <sub>7</sub>	57.36±0.17 <sup>d</sup>	13.47±0.15 <sup>d</sup>	18.56±1.17 <sup>d</sup>
ZnO <sub>3</sub> -US	65.49±0.43 <sup>c</sup>	16.51±0.36 <sup>c</sup>	24.64±1.43 <sup>c</sup>
ZnO <sub>5</sub> -US	76.61±0.26 <sup>b</sup>	18.32±0.14 <sup>b</sup>	26.59±1.26 <sup>b</sup>
ZnO <sub>7</sub> -US	89.33±0.28 <sup>a</sup>	20.54±0.24 <sup>a</sup>	30.43±1.28 <sup>a</sup>

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف استاندارد (n=۳) گزارش شده‌اند. حروف غیر مشابه کوچک در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار (p < ۰/۰۵) بین نمونه‌های فیلم می‌باشد.

Data are reported as mean ± standard deviation (n=3). Small non-identical letters in each column indicate significant differences (p < 0.05) between film samples.

گزارش دادند که نانوذرات اکسید روی علیه باکتری گرم مثبت مؤثرتر از باکتری گرم منفی عمل می‌کنند (Li et al., 2009). اثر ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی را می‌توان با چندین مکانیسم توجیه کرد: (۱) از بین رفتن آرایش غشا به دلیل تجمع نانوذرات در غشای باکتری و همچنین نفوذ آن‌ها به درون سلول (۲) آزاد شدن یون‌های روی که با اتصال به غشای میکروارگانیسم‌ها سبب اعمال اثر ضد میکروبی می‌شوند. با این حال سمیت نانوذرات مستقیماً به وارد شدن آن‌ها به درون سلول نسبت داده نمی‌شود، بلکه تماس نزدیک آن‌ها با سلول موجب تغییر در ریز محیط باکتری شده و با افزایش حلالیت فلز یا تولید رادیکال‌های اکسیژن فعال در نهایت باعث آسیب به غشا می‌شوند (Emamifar, Kadivar, Shahedi, & Soleimanian-Zad, 2011). تاکنون مطالعات زیادی در زمینه اثر ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی انجام شده است. از جمله مطالعه جهان پیمای ثابت و همکاران (Sabet, Mahdavi-Ourtakand, & Baghbani-Arani, 2022) که اثرات ضد میکروبی و ضد سرطانی نانوذرات اکسید روی سنتز شده توسط عصاره گیاه آویشن شیرازی را بررسی کردند. نتایج نشان داد که نانوذرات دارای اثر ضد میکروبی قابل توجهی می‌باشند (Rafiee et al., 2018). رفیعی و همکاران (Sabet et al., 2022). در مطالعه‌ای که روی سنتز نانوذرات اکسید روی با استفاده از استات

### خاصیت ضد میکروبی

اثر ضد میکروبی فیلم‌های شاهد و حاوی سطوح مختلف نانوذرات اکسید روی سنتز شده با عصاره برهموم با استفاده از فراصوت و بدون فراصوت روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* در جدول ۳ ارائه شده است. بجز فیلم شاهد همه فیلم‌ها به‌طور واضحی ویژگی‌های ضد میکروبی روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* نشان دادند. با افزایش درصد نانوذرات اکسید روی خاصیت ضد میکروبی فیلم‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است (P < ۰/۰۵). ژانگ و همکاران (Zhang, Jiang, Ding, Povey, & York, 2007) به بررسی عوامل مختلفی از جمله سایز و غلظت نانوذرات اکسید روی بر شدت اثر ضد میکروبی علیه *اشریشیا کلی* پرداختند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که غلظت نانوذره نقش مهم‌تری نسبت به سایز آن ایفا کرده و با افزایش غلظت نانوذره اثر ضد میکروبی افزایش یافت (Zhang et al., 2007). همچنین یافته‌ها نشان داد که باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* حساسیت بیشتری به نانوذرات اکسید روی نسبت به باکتری گرم منفی *اشریشیا کلی* داشت. لی و همکاران (Li et al., 2009) اثر ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی پوشش داده شده روی فیلم پلی‌وینیل کلراید را بر باکتری‌های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و گرم منفی *اشریشیا کلی* بررسی کرده و

ایزوله پروتئین آب پنیر اضافه و ویژگی‌های آن‌ها در مقایسه با فیلم شاهد ایزوله پروتئین آب پنیر بدون نانوذرات اکسید روی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مربوط به آزمون‌های انجام شده روی فیلم‌ها نشان داد که با افزایش درصد نانوذرات، درصد حلالیت و میزان نفوذپذیری به بخار آب کاهش یافت. خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، مقاومت به کشش، ازدیاد طول و مدول یانگ با افزایش نانوذرات اکسید روی روند افزایشی نشان داد که این افزایش در نمونه‌های حاوی نانوذرات اکسید روی سنتز شده با فراصوت بیشتر از نمونه‌های بدون فراصوت بود. یافته‌های مربوط به خاصیت ضد میکروبی فیلم‌ها نشان داد که نانوذرات اکسید روی بر باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و گرم منفی *اشریشیا کلی* اثر مثبت دارد و باعث کنترل رشد آن‌ها می‌گردد طوری که با افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی در فیلم‌ها قطر هاله عدم رشد میکروارگانیسم‌ها افزایش یافت که این افزایش در نمونه فیلم‌های حاوی نانوذرات سنتز شده با فراصوت بیشتر بود. از طرفی یافته‌ها حاکی از آن بود که باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* حساسیت بیشتری به نانوذرات اکسید روی سنتز شده با عصاره بره‌موم نسبت به باکتری گرم منفی *اشریشیا کلی* داشت. به‌طور کلی یافته‌های این پژوهش نشان داد که استفاده از نانوذرات اکسید روی سنتز شده با عصاره بره‌موم با استفاده از فراصوت باعث بهبود خصوصیات فیزیکی شیمیایی، آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی فیلم ایزوله پروتئین آب پنیر می‌شود. طوری که نمونه فیلم حاوی ۷ درصد نانوذرات اکسید روی سنتز شده با فراصوت به‌عنوان بهترین فیلم انتخاب شد که قابلیت استفاده به‌عنوان بسته‌بندی فعال مواد غذایی را دارد.

### میزان مشارکت نویسندگان

**به‌نوش ایمانی:** تحقیق و بررسی، مدیریت داده، نوشتن پیش‌نویس اصلی؛ **هادی الماسی:** مفهوم‌سازی، تحلیل رسمی، مدیریت پروژه، نوشتن، بررسی و ویرایش؛ **میرخلیل پیروزی فرد:** مفهوم‌سازی، نظارت، اعتبارسنجی؛ **هیمن نوربخش:** روش‌شناسی، اعتبارسنجی، نوشتن، بررسی و ویرایش.

### منابع تأمین مالی

این تحقیق توسط دانشگاه ارومیه تأمین مالی شده است.

روی و عصاره برگ گیاه اکالیپتوس انجام دادند، گزارش کردند که نانوذرات اکسید روی سنتز شده دارای اثر ضد میکروبی قابل توجهی نسبت به باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* می‌باشد. شارما و همکاران (Sharma et al., 2016)، اثر نانوذرات اکسید روی علیه تعدادی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا از جمله کلبسیلا *پونومونیه*، *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *باسیلوس سوبتیلیس* را بررسی و مشاهده کردند که نانوذرات تأثیر کمتری بر باکتری‌های گرم منفی دارند. نتایج این مطالعه با تحقیق حاضر هم‌پوشانی دارد و نشان می‌دهد که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به نانوذرات اکسید روی حساس‌تر هستند. همچنین اختلاف در شکل و اندازه نانوذرات اکسید روی سنتز شده و همچنین اثرات ضد میکروبی آن‌ها در مطالعات مختلف را می‌توان به عواملی چون غلظت عامل احیا کننده، فرآیند واکنش، فرآیند خنک‌سازی و تبلور و نوع گیاه یا عصاره مورد استفاده و ترکیبات موجود در عصاره مرتبط دانست که از موضوعات جالب در مطالعات نانومواد است (Li et al., 2012).

### نتیجه‌گیری

در این پژوهش به بررسی استفاده از نانوذرات اکسید روی تولید شده با روش سنتز سبز از عصاره الکلی بره‌موم در تولید فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر بر پایه ایزوله پروتئین آب پنیر پرداخته شد. همچنین اثر امواج فراصوت در فرآیند سنتز سبز و ویژگی‌های نانو ذرات ساخته شده مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج مربوط به طیف‌سنجی FTIR نانوذرات سنتز شده نشان داد که در طیف نانوذرات سنتز شده، کاهش شدت یا حذف برخی باندهای موجود در عصاره بره‌موم مشاهده شد که بیانگر شرکت این گروه‌های عاملی در فرآیند احیای یون‌های روی و پوشش‌دهی سطحی نانوذرات بود. با افزایش غلظت نیترات روی شدت باند ZnO افزایش یافت. نتایج مربوط به مورفولوژی نانوذرات سنتز شده نشان داد که افزایش مقدار نیترات روی باعث زیر شدن سطح نانوذرات می‌شود. با این حال نمونه‌هایی که با فراصوت سنتز شده بودند مورفولوژی همگن‌تری نسبت به حالت بدون فراصوت داشتند. طوری که نانوذره اکسید روی سنتز شده در غلظت ۰/۲۵ مولار نیترات روی با فراصوت به دلیل تراکم مناسب، شکل منظم و توزیع یکنواخت ذرات، بهترین عملکرد را نشان داد. در نتیجه همراه با نانوذره اکسید روی سنتز شده با غلظت ۰/۲۵ مولار نیترات روی بدون استفاده از فراصوت به‌منظور مقایسه عملکرد آن‌ها در غلظت‌های ۳، ۵ و ۷ درصد به فیلم

### References

- Adame, D., & Beall, G.W. (2009). Direct measurement of the constrained polymer region in polyamide/clay nanocomposites and the implications for gas diffusion. *Applied Clay Science*, 42(3-4), 545-552. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2008.03.005>

2. Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B.L., & Ikram, S. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using *Azadirachta indica* aqueous leaf extract. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 9(1), 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2015.06.006>
3. Almasi, H., Azizi, S., & Amjadi, S. (2020). Development and characterization of pectin films activated by nanoemulsion and Pickering emulsion stabilized marjoram (*Origanum majorana* L.) essential oil. *Food Hydrocolloids*, 99, 105338. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105338>
4. Bandeira, M., Giovanela, M., Roesch-Ely, M., Devine, D.M., & da Silva Crespo, J. (2020). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: A review of the synthesis methodology and mechanism of formation. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 15, 100223. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2020.100223>
5. Dash, K.K., Ali, N.A., Das, D., & Mohanta, D. (2019). Thorough evaluation of sweet potato starch and lemon-waste pectin based-edible films with nano-titania inclusions for food packaging applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 139, 449-458. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.193>
6. Dwi Ajeng, P.D., Plashintania, D.R., Putri, R.M., Wibowo, I., Ramli, Y., & Herdianto, S. (2023). Synthesis of zinc oxide nanoparticles using methanol propolis extract (Pro-ZnO NPs) as antidiabetic and antioxidant. *PLoS ONE*, 18(7), e0289125. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0289125>
7. Emamifar, A., Kadivar, M., Shahedi, M., & Soleimanian-Zad, S. (2011). Effect of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on inactivation of *Lactobacillus plantarum* in orange juice. *Food Control*, 22(3-4), 408-413. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.09.011>
8. Fernandes, F.F., Dias, A.L.T., Ramos, C.L., Ikegaki, M., Siqueira, A.M.D., & Franco, M.C. (2007). The "in vitro" antifungal activity evaluation of propolis G12 ethanol extract on *Cryptococcus neoformans*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 49, 93-95. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652007000200005>
9. Ghadetaj, A., Almasi, H., & Mehryar, L. (2018). Development and characterization of whey protein isolate active films containing nanoemulsions of *Grammosciadium procarpum* Bioss. essential oil. *Food Packaging and Shelf Life*, 16, 31-40. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.01.012>
10. Ghafoori Ahangar, Z., Pourashouri, P., Ojagh, S.M., & Shabanpour, B. (2018). The assessment of bilayer agar-sodium caseinat film properties containing ZnO nanoparticles. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 7(2), 41-51. (In Persian with English abstract)
11. Ghanbarzadeh, B., Pezeshki Najafabadi, A., & Almasi, H. (2011). Antimicrobial edible films for food packaging. (In Persian with English abstract)
12. Ghramh, H.A., Khan, K.A., Ibrahim, E.H., & Ansari, M.J. (2019). Biogenic synthesis of silver nanoparticles using propolis extract, their characterization, and biological activities. *Science of Advanced Materials*, 11(6), 876-883. <https://doi.org/10.1166/sam.2019.3571>
13. Jafari, H., Pirouzifard, M., Khaledabad, M.A., & Almasi, H. (2016). Effect of chitin nanofiber on the morphological and physical properties of chitosan/silver nanoparticle bionanocomposite films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, 461-466. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.07.051>
14. Kanmani, P., & Rhim, J.-W. (2014). Properties and characterization of bionanocomposite films prepared with various biopolymers and ZnO nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 106, 190-199. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.02.007>
15. Li, H., Li, F., Wang, L., Sheng, J., Xin, Z., Zhao, L., Hu, Q. (2009). Effect of nano-packing on preservation quality of Chinese jujube (*Ziziphus jujuba* Mill. var. *inermis* (Bunge) Rehd). *Food Chemistry*, 114(2), 547-552. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.085>
16. Li, X., Zhang, F., Ma, C., Deng, Y., Wang, Z., Elingarami, S., & He, N. (2012). Controllable synthesis of ZnO with various morphologies by hydrothermal method. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 12(3), 2028-2036. <https://doi.org/10.1166/jnn.2012.5177>
17. Manjamadha, V., & Muthukumar, K. (2016). Ultrasound assisted green synthesis of silver nanoparticles using weed plant. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 39(3), 401-411. <https://doi.org/10.1007/s00449-015-1523-3>
18. Marvizadeh, M.M., Mohammadi Nafchi, A., & Jokar, M. (2014). Improved physicochemical properties of tapioca starch/bovine gelatin biodegradable films with zinc oxide nanorod. *Journal of Chemical Health Risks*, 4(4), 25-31. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.02.067>
19. Mocanu, A., Isopencu, G., Busuioc, C., Popa, O.-M., Dietrich, P., & Socaciu-Siebert, L. (2019). Bacterial cellulose films with ZnO nanoparticles and propolis extracts: Synergistic antimicrobial effect. *Scientific Reports*, 9(1), 17687. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54118-w>
20. Munoz, V.A., Ferrari, G.V., Sancho, M.I., & Montaña, M.P. (2016). Spectroscopic and thermodynamic study of chrysin and quercetin complexes with Cu (II). *Journal of Chemical & Engineering Data*, 61(2), 987-995. <https://doi.org/10.1021/acs.jced.5b00837>

21. Nabavi, M., Esmaili, M., & Ghaitaranpour, A. (2025). Lallemandia royleana seed mucilage-based active edible films: The effects of zinc oxide nanoparticles and zoulang plant's essential oil. *Journal of Food Science & Technology* (2008-8787), 21(160). (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22034/FSCT.22.160.110>
22. Nafchi, A.M., Mahmud, S., & Robal, M. (2012). Antimicrobial, rheological, and physicochemical properties of sago starch films filled with nanorod-rich zinc oxide. *Journal of Food Engineering*, 113(4), 511-519. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.07.017>
23. Ojagh, S.M., Adeli, A., Abdollahi, M., Kazemi, M., & Habibi, M. (2017). Effect of ZnO nanoparticles on the physico-mechanical properties of agar/kappa carrageenan bilayer film. *Innovative Food Technologies*, 5(1), 13-23. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.03.011>
24. Osman, M.S., Al-qubati, M., Saeed, M., Abdulqawi, N., Algradee, M.A., Alwan, A., & Sultan, A.M. (2023). Effective inhibition of waterborne and fungal pathogens using ZnO nanoparticles prepared from an aqueous extract of propolis: Optimum biosynthesis, characterization, and antimicrobial activity. *Applied Nanoscience*, 13(6), 4515-4526. <https://doi.org/10.1007/s13204-022-02726-w>
25. PP, V. (2020). In vitro biocompatibility and antimicrobial activities of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) prepared by chemical and green synthetic route—a comparative study. *BioNanoScience*, 10(1), 112-121. <https://doi.org/10.1007/s12668-019-00698-w>
26. Rafiee, B., Ghani, S., Sadeghi, D., & Ahsani, M. (2018). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using eucalyptus mellidora leaf extract and evaluation of its antimicrobial effects. *Journal of Babol University of Medical Sciences*, 20(10), 28-35. (In Persian with English abstract)
27. Rajakumar, G., Thiruvengadam, M., Mydhili, G., Gomathi, T., & Chung, I.-M. (2018). Green approach for synthesis of zinc oxide nanoparticles from *Andrographis paniculata* leaf extract and evaluation of their antioxidant, anti-diabetic, and anti-inflammatory activities. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 41, 21-30. <https://doi.org/10.1007/s00449-017-1840-9>
28. Rešček, A., Kratofil Krehula, L., Katančić, Z., & Hrnjak-Murgić, Z. (2015). Active bilayer PE/PCL films for food packaging modified with zinc oxide and casein. *Croatica Chemica Acta*, 88(4), 461-473. <https://doi.org/10.5562/cca2768>
29. Rezaei, M., Pirsā, S., & Chavoshizadeh, S. (2020). Photocatalytic/antimicrobial active film based on wheat gluten/ZnO nanoparticles. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 30(7), 2654-2665. <https://doi.org/10.1007/s10904-019-01407-6>
30. Sabet, B.J.P., Mahdavi-Ourtakand, M., & Baghbani-Arani, F. (2022). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by *Zataria multiflora* extract and evaluation of its antimicrobial ,cytotoxic and apoptotic effects on HT-29 cell line. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.1007/s42247-022-00413-8>
31. Saha, S.K., Chowdhury, P., Saini, P., & Babu, S.P.S. (2014). Ultrasound assisted green synthesis of poly (vinyl alcohol) capped silver nanoparticles for the study of its antifilarial efficacy. *Applied Surface Science*, 288, 625-632. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2013.10.085>
32. Salama, S.A., Essam, D., Tagyan, A.I., Farghali, A.A., Khalil, E.M., Abdelaleim, Y.F., Eweis, A.A. (2024). Novel composite of nano zinc oxide and nano propolis as antibiotic for antibiotic-resistant bacteria :a promising approach. *Scientific Reports*, 14(1), 20894. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-70490-8>
33. Sanaeimehr, Z., Javadi, I., & Namvar, F. (2018). Antiangiogenic and antiapoptotic effects of green-synthesized zinc oxide nanoparticles using Sargassum muticum algae extraction. *Cancer Nanotechnology*, 9(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s12645-018-0037-5>
34. Shah, M., Fawcett, D., Sharma, S., Tripathy, S.K., & Poinern, G.E.J. (2015). Green synthesis of metallic nanoparticles via biological entities. *Materials*, 8(11), 7278-7308. <https://doi.org/10.3390/ma8115377>
35. Shahab-Navaei, F., & Asoodeh, A. (2023). Synthesis of optimized propolis solid lipid nanoparticles with desirable antimicrobial, antioxidant, and anti-cancer properties. *Scientific Reports*, 13(1), 18290. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-45768-y>
36. Shankar, S.S., Rai, A., Ahmad, A., & Sastry, M. (2004). Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core–Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. *Journal of Colloid and Interface Science*, 275(2), 496-502. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.03.003>
37. Sharma, N., Jandaik, S., & Kumar, S. (2016). Synergistic activity of doped zinc oxide nanoparticles with antibiotics: ciprofloxacin, ampicillin, fluconazole and amphotericin B against pathogenic microorganisms. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 88(3 Suppl), 1689-1698. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201620150713>
38. Sherafatkah Azari, S., Alizadeh, A., Asefi, N., & Hamishehkar, H. (2021). Investigation the effect of ZnO and  $\beta$ -glucan on chemical and microbial characteristic of gelatin based biodegradable film over storage of chicken fillet. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 18(114), 169-180. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.52547/fsct.18.114.169>

39. Soleimani-Gorgani, A., & Alborz, R. (2020). Green synthesis of nanoparticles for using as antibacterial materials. *Journal of Biosafety*, 13(1), 23-44. (In Persian). DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.1.3.3
40. Sulaiman, A.Z., Ajit, A., Yunus, R.M., & Chisti, Y. (2011). Ultrasound-assisted fermentation enhances bioethanol productivity. *Biochemical Engineering Journal*, 54(3), 141-150. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2011.01.006>
41. Taherian, S.M.R., Hosseini, S.A., Jafari, A., & Etmnan, A. (2019). The green synthesis and characterization of Zinc Oxide nanoparticles from the leaf extracts of *Satureja hortensis*. *Herbal Medicines Journal*, 3(4), 147-153. [https://doi.org/10.4194/1303-2712-v20\\_6\\_06](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v20_6_06)
42. Tunç, S., & Duman, O. (2010). Preparation and characterization of biodegradable methyl cellulose/montmorillonite nanocomposite films. *Applied Clay Science*, 48(3), 414-424. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2010.01.016>
43. Yu, J., Yang, J., Liu, B., & Ma, X. (2009). Preparation and characterization of glycerol plasticized-pea starch/ZnO-carboxymethylcellulose sodium nanocomposites. *Bioresource Technology*, 100(11), 2832-2841. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.12.045>
44. Zhang, L., Jiang, Y., Ding, Y., Daskalakis, N., Jeuken, L., Povey, M., York, D.W. (2010). Mechanistic investigation into antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles against *E. coli*. *Journal of Nanoparticle Research*, 12(5), 1625-1636. <https://doi.org/10.1007/s11051-009-9711-1>
45. Zhang, L., Jiang, Y., Ding, Y., Povey, M., & York, D. (2007). Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids). *Journal of Nanoparticle Research*, 9, 479-489. <https://doi.org/10.1007/s11051-006-9150-1>



## Investigating the Interaction between Cyanidin-3-Glucoside and Grass Pea (*Lathyrus sativus* L.) Protein Isolate in Acidic Conditions via Fluorescence Quenching Approach

S.H. Razavizadegan Jahromi<sup>1\*</sup>, R. Farhoosh<sup>2</sup>

1- Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran  
(\*- Corresponding Author Email: [sh.razavizadegan@iut.ac.ir](mailto:sh.razavizadegan@iut.ac.ir))

2- Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Received: 31.08.2025  
Revised: 14.10.2025  
Accepted: 21.10.2025  
Available Online: 16.11.2025

### How to cite this article:

Razavizadegan Jahromi, S.H., & Farhoosh, R. (2025). Investigating the interaction between Cyanidin-3-Glucoside and Grass pea (*Lathyrus sativus* L.) protein isolate in acidic conditions via fluorescence quenching approach. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 21(5), 529-547. (In Persian with English abstract).  
<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2025.95191.1472>

### Introduction

Investigating anthocyanin-protein complexes is important for the food industry from several perspectives. 1) Utilizing the anthocyanin-protein complex formation method to stabilize anthocyanin pigments in food products against external factors. This is achieved through various physical interactions with different bond strengths established between their binding sites. Studies have shown that the higher the binding constant of this interaction and the stoichiometric ratio between them, the lower the concentration of free anthocyanin remains in the environment, and most anthocyanins are found bound to the protein. In this state, the stability of anthocyanin against external factors increases due to the physical bonds formed with the protein, and its structure is not degraded. 2) Changes in the physicochemical and physiological properties of anthocyanin. For example, it has been proven that the antioxidant properties of anthocyanins decrease in the presence of proteins. 3) The effect of this complex on protein digestibility, which plays a significant role in the nutritional value of the system under study. 4) Production of modified biopolymer for use in food formulation. As a result of these interactions, which are as covalent or non-covalent, the functional properties of proteins are altered. Consequently, suitable raw materials can be designed for various food products.

### Materials and Methods

Fluorescence emission spectra were measured using a fluorimeter (Varian Cary Eclipse, Agilent, USA) equipped with a 10 mm cell and a temperature controller at temperatures of 298, 308, and 318 K. All samples were excited at a wavelength of 280 nm, and their emission spectra were recorded in the wavelength range of 280 to 500 nm. The slit width for both excitation and emission was set at 5 nm. To record the protein fluorescence quenching spectra, a 1 mg/mL solution of grass pea protein was first prepared and titrated against different concentrations of CYG pigment (0 to  $4.5 \times 10^{-6}$  M). The corresponding fluorescence emission spectrum for quenching was recorded at each step. For synchronous fluorescence spectra, simultaneous scanning was performed at the absorption and emission wavelengths of the tyrosine and tryptophan amino acid chromophores of grass pea protein, where their wavelength differences ( $\Delta\lambda$ ) were set at 15 nm and 60 nm, respectively. Three-dimensional fluorescence spectra were recorded sequentially within the excitation wavelength range of 220 to 540 nm and the emission wavelength range of 220 to 600 nm, with a consecutive 10 nm increment in the excitation wavelength. To collect Resonance Light Scattering (RLS) data, the emission intensity of the protein monochromators was recorded simultaneously in the wavelength range of 220 to 700 nm at a zero wavelength difference ( $\Delta\lambda=0$ ) between excitation and emission. In all experiments, the concentration of CYG pigment used was in the range of 0 to  $4.5 \times 10^{-6}$  M.



Authors retain the copyright. 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/).

<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2025.95191.1472>

## Results and Discussion

The results indicated a key role of hydrogen bonds in the formation of the grass pea protein-CYG complex through a combined static and dynamic quenching mechanism, with a binding constant of  $1.73 \times 10^3 \text{M}^{-1}$  and a binding site number of 0.78 at ambient temperature. Furthermore, the synchronous and three-dimensional fluorescence spectra of the protein revealed that the CYG pigment bound near tyrosine amino acid residues in the protein structure. This binding induced a local folding change in the protein's conformation. Changes in the RLS spectra of the protein indicated that the particle size of the complex decreased at low CYG concentrations. However, when the molar ratio of CYG to protein approached 2:1, the particle size of the complex increased. The results of the protein binding site saturation also demonstrated that grass pea protein is capable of binding CYG pigment at concentrations more than two times. Therefore, the use of this complex is recommended in systems that require natural and small quantities of protein to effectively trap the CYG pigment.

**Keywords:** Anthocyanin, Binding and thermodynamic constants, Interaction, Fluorescence, Protein

مقاله پژوهشی

جلد ۲۱، شماره ۵، آذر- دی ۱۴۰۴، ص. ۵۴۷-۵۲۹

## مطالعه برهم کنش بین رنگدانه سیانیدین-۳-گلیکوزید و ایزوله پروتئین نخود خلر (*Lathyrus sativus L.*) در شرایط اسیدی با استفاده از روش فرونشانی فلئورسانس

سید حسین رضوی زادگان جهرمی<sup>۱\*</sup> - رضا فرهوش<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۲۹

### چکیده

بررسی برهم کنش آنتوسیانین با بیوپلیمرها، اطلاعات ارزشمندی در خصوص امکان‌سنجی طراحی سامانه‌های مناسب جهت پایدارسازی رنگدانه آنتوسیانین، تغییر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و فیزیولوژیکی آنتوسیانین و بیوپلیمر و همچنین اصلاح ساختار بیوپلیمرها جهت کاربردهای گوناگون فراهم می‌کند. در این پژوهش، برهم کنش بین پروتئین نخود خلر و رنگدانه سیانیدین-۳-گلیکوزید (CYG) در شرایط اسیدی (pH=3) توسط دستگاه فلوریمتری انجام شد و طیف‌های حاصل از فرونشانی نشر ذاتی و همزمان فلئورسانس پروتئین، طیف‌های نشر سه بعدی پروتئین، مشتق دوم طیف‌های فلئورسانس ذاتی پروتئین و پراکندگی نور رزونانس پروتئین در حضور و عدم حضور CYG بررسی شد. نتایج حاکی از نقش کلیدی پیوندهای هیدروژنی در شکل‌گیری کمپلکس پروتئین نخود خلر CYG از طریق مکانیسم همزمان استاتیک و دینامیک با ثابت اتصال  $10^3 \times 1/73$  بر مولار و تعداد سایت‌های اتصال  $0/78$  در دمای محیط بود. همچنین، نتایج طیف‌های همزمان و سه بعدی فلئورسانس پروتئین نشان داد که رنگدانه CYG در نزدیکی‌های اسید آمینه تیروزین در ساختار پروتئین متصل شد که در اثر این اتصال، تاخوردگی موضعی در ساختار پروتئین مشاهده گردید. تغییرات طیف‌های پراکندگی نور رزونانس پروتئین نشان داد که اندازه ذرات کمپلکس در غلظت‌های پائین CYG کاهش یافته و زمانی که نسبت غلظت CYG به پروتئین نزدیک به ۲ برابر گردد، اندازه ذرات کمپلکس افزایش یافت. نتایج اشباعیت سایت‌های اتصال پروتئین نیز نشان داد که پروتئین نخود خلر قادر به اتصال رنگدانه CYG در غلظت‌های بیشتر از ۲ برابر غلظت خود می‌باشد، لذا استفاده از کمپلکس مذکور در سیستم‌هایی که نیاز به بکارگیری مقادیر کمی از پروتئین به صورت طبیعی جهت بدام انداختن رنگدانه CYG می‌باشد، پیشنهاد می‌گردد.

**واژه‌های کلیدی:** آنتوسیانین، برهم کنش، پروتئین، ثابت‌های اتصال و ترمودینامیکی، فلئورسانس

### مقدمه

تشکیل کمپلکس‌های دو یا چند جزئی بین اجزاء یک سیستم مورد مطالعه از منظر مولکولی ارائه می‌کند (Tabasi, Maghami, Amiri- Tehranizadeh, Saberi, & Chamani, 2023) که بر اساس آن می‌توان رفتار سیستم مورد مطالعه را تفسیر کرد. از دیدگاه صنایع غذایی، دانش مولکولی برهم کنش بین ترکیبات موجود در یک ساختار غذایی می‌تواند در مواردی نظیر پایدارسازی ترکیبات حساس بواسطه تشکیل کمپلکس‌های غذایی (Yang et al., 2023)، ریزپوشانی کردن، رهایش و زیست دسترسی ترکیبات (Joye, Davidov-Pardo, Ludescher, & McClements, 2015)، پایداری امولسیون‌های

از منظر مولکولی، زمانی که دو ترکیب در یک سیستم در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند، در برخی از موارد، رفتارها و یا ویژگی‌های مختلفی از خود نشان می‌دهند که با ویژگی‌های هر یک از آنها بصورت منفرد متفاوت است. این تفاوت اغلب ناشی از برهم کنش ایجاد شده بین ترکیبات می‌باشد. بررسی برهم کنش‌های بین اجزاء موجود در یک سیستم، اطلاعات بسیار ارزشمندی در خصوص میل ترکیبی اجزاء بهم، نحوه شکل‌گیری کمپلکس، نوع پیوندهای درگیر در برهم کنش (Ma, Cheng, Jiao, & Jing, 2022)، ترتیب، تقدم و تأخر و رقابت بین

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران  
(\* نویسنده مسئول: Email: [sh.razavizadegan@iut.ac.ir](mailto:sh.razavizadegan@iut.ac.ir))

۲- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

در برابر عوامل خارجی (Cai et al., 2022; Cortez, Luna-Vital, Margulis, & Gonzalez de Mejia, 2017). برای این منظور، بدلیل حضور گروه‌های عاملی متنوع موجود در ساختار پروتئین‌ها نسبت به دیگر درشت مولکول‌ها، تمایل و میل اتصال بسیار بالای آنتوسیانین به آنها بواسطه برهم‌کنش‌های فیزیکی مختلف و متنوع با قدرت پیوندی گوناگون ایجاد شده بین سایت‌های اتصال آنها مشاهده شده است (Chung, Rojanasasithara, Mutilangi, & McClements, 2015). بررسی‌ها نشان داده است که هر چقدر ثابت اتصال این برهم‌کنش و نسبت استوکیومتری بین آنها بیشتر باشد، غلظت کمتری از آنتوسیانین بصورت آزاد در محیط باقیمانده و اغلب آنتوسیانین‌ها به صورت ترکیب با پروتئین دیده می‌شود. در این حالت، پایداری آنتوسیانین در برابر عوامل خارجی بدلیل پیوندهای فیزیکی شکل گرفته با پروتئین افزایش می‌یابد و ساختار آن تخریب نمی‌گردد (Jahromi, Farhoosh, Hemmateenejad, & Varidi, 2020). ۲- تغییر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و فیزیولوژیکی آنتوسیانین. برای مثال ثابت شده است که خواص آنتی‌اکسیدانی آنتوسیانین در حضور پروتئین‌ها کاهش می‌یابد (Zheng, Zheng, Zhao, Yi, & Cai, 2021). لذا داشتن اطلاعات در خصوص نوع برهم‌کنش و تأثیر آن بر خواص آنتوسیانینی ضرورت دارد. ۳- تأثیر این کمپلکس بر هم‌پندیری پروتئین که نقش بسزایی در ارزش غذایی سیستم مورد بررسی دارد (Zheng et al., 2021). ۴- تولید بیوپلیمرهای اصلاح شده برای کاربرد در فرمولاسیون‌های غذایی (Li et al., 2024). در اثر این برهم‌کنش‌ها که بصورت کووالانس و غیر کووالانس برقرار می‌گردد، ویژگی‌های عملکردی پروتئین‌ها تغییر کرده، لذا می‌توان برای محصولات غذایی مختلف، مواد اولیه مناسب آن را طراحی کرد. برخی از برهم‌کنش‌های بین آنتوسیانین و پروتئین مطالعه شده تاکنون عبارتند از برهم‌کنش بین آنتوسیانین و پروتئین سرمی شیر (Chung et al., 2015)، آنتوسیانین و سرم آلبومین گاوی (Jahromi et al., 2020)، آنتوسیانین و پروتئین نخود (Li et al., 2024) و آنتوسیانین و پروتئین سویا (Ma et al., 2022; Zheng et al., 2021). در تمامی این مطالعات، برهم‌کنش بین پروتئین و آنتوسیانین با قدرت‌های اتصال گوناگون تشکیل شده است. این امر نشان می‌دهد که تمایل اتصال آنتوسیانین به پروتئین از پروتئینی به پروتئینی دیگر متفاوت می‌باشد، لذا برای هر پروتئین بصورت مجزا باید بررسی گردد. همچنین نشان داده شده است که ویژگی‌های گوناگون هر یک از اجزاء شرکت کننده در برهم‌کنش، با حالت‌های منفرد آنها کاملاً متفاوت می‌باشد. نکته قابل تأمل در اینگونه مطالعات، تأثیر عوامل مختلفی نظیر نوع پروتئین و

غذایی (Zhang, Liang, & Li, 2022)، پیش‌بینی و تفسیر تغییرات فیزیکوشیمیایی مواد غذایی و بیوپلیمرها (Cao et al., 2021; Li et al., 2024)، رقابت بین اجزاء یک ماده غذایی در حالت مدل و واقعی (Cheng, Ma, Li, Yan, & Cui, 2015; Ni, Zhu, & Kokot, 2003; Rampon et al., 2011)، هم‌پندیری مواد غذایی (Abioye, Obeme-Nmom, & Udenigwe, 2024) و مواردی دیگر کاربرد بسزایی داشته باشد. لذا ضرورت پرداختن به مکانیسم‌های برهم‌کنش بین اجزاء یک سیستم غذایی، برای توسعه محصولات غذایی جدید با ویژگی‌های منحصر به فرد، در صنعت غذا بیش از پیش احساس می‌گردد.

رنگ یکی از مهمترین ویژگی‌های حسی مواد غذایی است که تأثیر زیادی در پذیرش کلی و بازاریابی محصول نهایی و همچنین ادراک طعم ماده غذایی دارد (Wu, Oliveira, & Lila, 2023). آنتوسیانین‌ها دسته‌ای از انواع رنگدانه‌های طبیعی محلول در آب هستند که به وفور در منابع گیاهی و گل‌های رنگی در طبیعت یافت می‌شوند (Mazza & Miniati, 2018). اسکلت شیمیایی عمومی این رنگدانه‌ها، از دو حلقه فنلی (A و B) و یک حلقه هتروسیکلیک (C) که بصورت کووالانس بهم متصل شده‌اند تشکیل شده است که اصطلاحاً به آن آنتوسیانیدین می‌گویند. فرم‌های گلیکوزیدی آنتوسیانیدین‌ها را آنتوسیانین می‌نامند. بر حسب قرارگیری نوع و تعداد گروه‌های هیدروکسی و متوکسی بر روی مکان‌های ویژه‌ای از حلقه فنلی B، و همچنین نوع قند و اسیدهای آلی متصل به کربن شماره سوم از حلقه C، آنتوسیانین‌ها به انواع مختلفی تقسیم می‌شوند (Castañeda-Ovando, de Lourdes Pacheco-Hernández, Páez-Hernández, Rodríguez, & Galán-Vidal, 2009). ۳- گلیکوزید<sup>۱</sup> (CYG) یکی از اجزاء مشهور آنتوسیانینی بوده که به وفور و به میزان بالا در عصاره‌های آنتوسیانینی اغلب میوه‌جات و گیاهان یافت می‌شود. ترکیبات آنتوسیانینی، علاوه بر خواص رنگی (طیف رنگی قرمز تا آبی) که از خود بروز می‌دهند، دارای نقش‌های بیولوژیکی مختلفی نظیر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد قند خون بالا، ضد چاقی (Tsuda, Horio, Uchida, Aoki, & Osawa, 2003)، ضد سرطان، ضد دیابت و فعالیت‌های محافظتی قلبی-عروقی و عصبی (Konczak & Zhang, 2004; Nichenametla, Taruscio, Barney, & Exon, 2006) می‌باشند.

بررسی کمپلکس‌های آنتوسیانین-پروتئین از چند جنبه در صنعت غذا حائز اهمیت است. ۱- استفاده از روش تشکیل کمپلکس آنتوسیانین-پروتئین برای پایداری رنگدانه آنتوسیانین در مواد غذایی

3- Bovine serum albumin (BSA)

1- Cyanidin-3-glycoside (CYG)

2- Whey protein

## مواد و روش‌ها

### مواد

رنگدانه سیانیدین-۳-گلیکوزید (CYG) از شرکت پلی فنل (St.) (Hanaveien, Sandnes, Norway) تهیه شد. نخود خلر از بازار تهیه شد. مابقی ترکیبات از درجه آزمایشگاهی بوده و از شرکت‌های معتبر خریداری شده است.

### روش‌ها

#### استخراج پروتئین نخود خلر

استخراج پروتئین از نخود خلر مطابق با روش فیضی و همکاران (Feysi, Milani and Golimovahhed, 2018) انجام شد.

#### اندازه‌گیری طیف نشر ذاتی<sup>۶</sup> فلئورسانس پروتئین

نخود خلر در حضور و عدم حضور سیانیدین-۳-گلیکوزید طیف‌های نشر فلئورسانس با استفاده از دستگاه فلوریمتر (Varian Cary Eclipse, Agilent, USA) مجهز به سل ۱۰ میلی متری و ابزار کنترل دما<sup>۷</sup> در دماهای ۲۹۸، ۳۰۸ و ۳۱۸ درجه کلونین اندازه‌گیری شد. کلیه نمونه‌ها در طول موج ۲۸۰ نانومتر تهییج شده و طیف نشری آنها در محدوده طول موجی ۲۸۰ الی ۵۰۰ نانومتر ثبت شد. پهنای شکاف عبور نور در هر دو حالت تهییج و نشر بر روی عدد ۵ نانومتر تنظیم شد. برای ثبت طیف‌های حاصل از فرونشانی فلئورسانس پروتئین، ابتدا محلول ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پروتئین نخود خلر تهیه شد و در مقابل غلظت‌های مختلف رنگدانه CYG (۰ الی  $10^{-6} \times 4/5$  مولار) تیترا شد و در هر مرحله، طیف نشر فلئورسانس مربوط به فرونشانی فلئورسانس آن ثبت گردید. بدلیل حضور فیلتر داخلی (منظور از فیلتر داخلی، حضور کروموفورها یا ترکیباتی است که در محدوده طیف نشری پروتئین جذب داشته باشند) (Shi, Wang, Zhu, & Chen, 2014)، کلیه داده‌های نشری به روش زیر اصلاح شدند (Jahromi et al., 2020).

$$F_{cor} = F_{obs} * 10 \frac{A_{exc} + A_{em}}{2} \quad (1)$$

پارامترهای  $F_{cor}$  و  $F_{obs}$  به ترتیب اعداد شدت نشر اصلاح شده و اندازه‌گیری شده می‌باشد.  $A_{em}$  و  $A_{exc}$  نیز به ترتیب اعداد جذب در طول موج‌های جذبی و نشری می‌باشد. برای رسم نحوه اشغال جایگاه‌های اتصال پروتئین در کمپلکس پروتئین-CYG، مطابق روش جهرمی و همکاران (Jahromi et al., 2020) از ایزوترم اتصال لانگمیر استفاده

همچنین پارامترهای فیزیکوشیمیایی گوناگونی نظیر pH، حرارت، قدرت یونی و غیره بر روی اتصال آنتوسیانین با پروتئین می‌باشد (Cortez et al., 2017) که می‌توانند اتصال آنتوسیانین به پروتئین و متعاقباً اصلاح ویژگی‌های هر یک از اجزاء را تحت تأثیر قرار دهند. نخود خلر<sup>۱</sup> (*Lathyrus sativus* L.)، یک منبع پروتئینی جدید از خانواده حبوبات می‌باشد که حاوی ۲۵ درصد پروتئین است (Tamburino et al., 2012). ایزوله پروتئین نخود خلر دارای ارزش غذایی (بدلیل حضور اسیدهای آمینه ضروری زیاد) و خواص عملکردی مطلوبی می‌باشد. این ویژگی‌ها، آن را به گزینه‌ای مناسب جهت استفاده در فرمولاسیون غذایی تبدیل کرده است. این پروتئین از زیرواحدهای اصلی لگومین<sup>۲</sup> (11S) و ویسیلین<sup>۳</sup> (7S) تشکیل شده است. تعادل بین اسیدهای آمینه قطبی، غیر قطبی، باردار و آب دوست و آبگریز در ساختار پروتئین نخود خلر، این پروتئین را گزینه مناسب برای ساخت نانوذرات جهت محافظت از ترکیبات دیگر کرده است (Mehr & Koocheki, 2021). در بین تمامی برهم‌کنش‌ها، برهم‌کنش‌های هیدروژنی و آبگریز، اصلی‌ترین نوع برهم‌کنش بین پروتئین و آنتوسیانین می‌باشد که از طریق گروه‌های هیدروکسی و حلقه‌های فنلی از ساختار آنتوسیانین با اسیدهای آمینه آب دوست و آبگریز در ساختار پروتئین برقرار می‌گردد (Li et al., 2024). با توجه به ویژگی‌های ایزوله پروتئین نخود خلر، انتظار می‌رود که برهم‌کنش قوی و مناسبی با آنتوسیانین ایجاد شود.

روش طیف‌سنجی فلئورسانس<sup>۴</sup> یکی از روش‌های بسیار حساس، دقیق، سریع با کاربری آسان می‌باشد که به وفور در مطالعه برهم‌کنش بین پروتئین با دیگر ترکیبات، بصورت مکرر استفاده شده است. پیش تغییرات موضعی محیط اطراف فلئورفور<sup>۵</sup> جهت تعیین تغییرات ساختار پروتئین، تعیین نوع مکانیسم اتصال پروتئین با دیگر ترکیبات در کمپلکس‌های پروتئینی، بررسی ماهیت پدیده اتصال، نوع پیوندهای درگیر در برهم‌کنش، جایگاه‌های اتصال و پارامترهای ترمودینامیکی برهم‌کنش از کاربردهای رایج این تکنیک در مطالعات پروتئین با دیگر ترکیبات می‌باشد (Jahromi et al., 2020).

هدف از این مطالعه، ۱- بررسی و مشخص کردن برهم‌کنش بین رنگدانه سیانیدین-۳-گلیکوزید با ایزوله پروتئین نخود خلر جهت امکان سنجی استفاده از این بیوپلیمر در فرمولاسیون‌های حاوی این رنگدانه در محیط‌های اسیدی (نظیر نوشیدنی‌های خوراکی) با اهداف گوناگون می‌باشد. ۲- مشخص کردن تغییرات ساختاری پروتئین طی برهم‌کنش می‌باشد.

5- Fluorophores

6- Intrinsic fluorescence spectrum

7- Peltier

1- Grass pea (*Lathyrus sativus* L.)

2- Legumin

3- Vicilin

4- Fluorescence spectroscopy

شد. برای این منظور، عدد یک بر ثابت اتصال بدست آمده از معادلات ۴ تقسیم شد تا ثابت تفکیک بدست آید ( $K_d=1/K_a$ ). سپس از طریق فرمول زیر، میزان اشغال شدن جابگاه‌های اتصال در غلظت‌های مختلف CYG محاسبه شد.

$$B = \frac{1}{1 + \frac{K_d}{[CYG]}} \quad (2)$$

#### اندازه‌گیری طیف نشری همزمان<sup>۱</sup> پروتئین نخود خرد

##### حضور و عدم حضور سیانیدین-۳-گلیکوزید

برای این منظور، بصورت همزمان طول موج‌های جذبی و نشری کروموفورهای اسیدهای آمینه تیروزین و تریپتوفان پروتئین نخود خرد، جایی که اختلاف طول موج ( $\Delta\lambda$ ) جذبی و نشری آنها به ترتیب ۱۵ و ۶۰ نانومتر است، اسکن طیفی انجام شد (Jahromi et al., 2020). این آزمون در غلظت‌های مختلف CYG (۰ الی  $10^{-6} \times 4/5$  مولار) انجام شد. طیف‌های نشر فلئورسانس با استفاده از دستگاه فلوریمتر (Varian Cary Eclipse, Agilent, USA) مجهز به سل ۱۰ میلی متری ثبت شد.

#### اندازه‌گیری طیف پراکندگی نور رزونانسی<sup>۲</sup> پروتئین

##### نخود خرد در حضور و عدم حضور سیانیدین-۳-گلیکوزید

جهت ثبت داده‌های پراکندگی نور رزونانسی (RLS)، شدت نشر مونوکروماتورهای پروتئینی در اختلاف طول موج جذبی و نشری صفر ( $\Delta\lambda=0$ ) بصورت همزمان در بازه طول موجی ۲۲۰ الی ۷۰۰ نانومتر ثبت شد (Jahromi et al., 2020). اختلاف پراکندگی نور رزونانسی پروتئین در حضور و عدم حضور غلظت‌های مختلف CYG (۰ الی  $10^{-6} \times 4/5$  مولار) در طول موج نشر حداکثر در مقابل غلظت‌های گوناگون سیانیدین-۳-گلیکوزید گزارش شد. طیف‌های نشر فلئورسانس با استفاده از دستگاه فلوریمتر (Varian Cary Eclipse, Agilent, USA) مجهز به سل ۱۰ میلی متری ثبت شد.

#### اندازه‌گیری طیف فلئورسانس سه بعدی<sup>۳</sup> پروتئین

##### نخود خرد در حضور و عدم حضور سیانیدین-۳-گلیکوزید

طیف‌های سه بعدی فلئورسانس (3D) پروتئین نخود خرد بصورت متوالی در بازه طول موج جذبی ۲۲۰ الی ۵۴۰ نانومتر و نشری ۲۲۰ الی ۶۰۰ نانومتر با افزایش متوالی ۱۰ نانومتری طول موج جذبی انجام شد. این آزمون در غلظت برابر پروتئین نخود و CYG (نسبت ۱:۱) انجام شد (Jahromi et al., 2020). طیف‌های نشر فلئورسانس با استفاده از دستگاه فلوریمتر (Varian Cary Eclipse, Agilent, USA) مجهز به سل ۱۰ میلی متری ثبت شد.

#### مشق دوم طیف‌های فلئورسانس ذاتی پروتئین نخود

##### خرد در حضور و عدم حضور سیانیدین-۳-گلیکوزید

برای این منظور، طیف‌های نشر فلئورسانس پروتئین نخود خرد ثبت شده در حضور CYG در بازه غلظتی ۰ الی  $10^{-6} \times 4/5$  مولار، را با استفاده از نرم‌افزار متلب ورژن b ۲۰۲۲ مشق دوم گرفته و پارامتر H که نمادی از هیدروفوبیسیته محیط اطراف اسید آمینه تریپتوفان است، بر اساس روش (Mozo-Villarías, 2002) محاسبه شد. طیف‌های نشر فلئورسانس با استفاده از دستگاه فلوریمتر (Varian Cary Eclipse, Agilent, USA) مجهز به سل ۱۰ میلی متری ثبت شد.

#### آنالیز آماری

کلیه داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و آزمون فاکتوریل تک فاکتوره با دو تکرار توسط نرم‌افزار SPSS 27 آنالیز شدند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد. کلیه نمودارها با نرم‌افزارهای Graphpad prism 10 و متلب ورژن b ۲۰۲۲ رسم شد.

#### نتایج و بحث

##### مکانیسم فرونشانی فلئورسانس<sup>۴</sup>

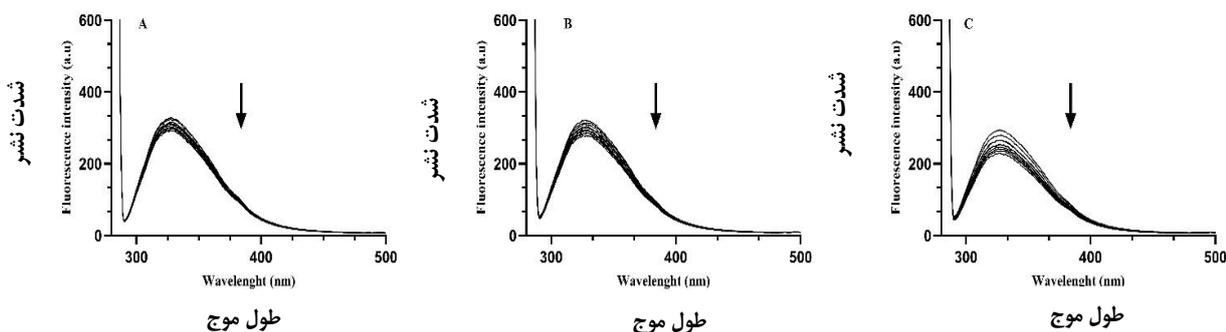
بطور کلی ترکیباتی که دارای ساختار آروماتیک و یا آلیفاتیک با تعداد زیاد پیوندهای دوگانه باشند، خاصیت نشر فلئورسانس دارند. پروتئین‌ها بدلیل دارا بودن اسیدهای آمینه حلقوی نظیر تیروزین، تریپتوفان و فنیل آلانین، دارای خاصیت نشر فلئورسانسی می‌باشند که از این خاصیت برای مطالعه برهم‌کنش‌های پروتئین با دیگر ترکیبات به وفور استفاده می‌شود (Joye et al., 2015). همانطور که در شکل ۱ دیده می‌شود، در اثر افزودن غلظت‌های مختلفی (۰ الی  $10^{-6} \times 4/5$  مولار) از CYG به پروتئین نخود خرد، شدت نشر فلئورسانس پروتئین به میزان ۱۱/۲۲ درصد کاهش یافت که می‌تواند نشانگر قدرت اتصال کم بین پروتئین و CYG باشد. این کاهش فرونشانی اندک با نتایج شی و همکاران (Shi et al., 2014) که برهم‌کنش بین پروتئین سرم آلبومین گاوی و سیانیدین-۳-گلیکوزید پرداخته‌اند و مطالعات دی کاروالو و همکاران (de Carvalho Bertozo et al., 2020) که به برهم‌کنش بین آلبومین و اکتیل گالات پرداخته‌اند مشابهت دارد. درصد فرونشانی نشر فلئورسانس با افزایش دما به میزان ۲۱/۹ درصد افزایش یافت.

3- Three-dimensional fluorescence spectra (3D)

4- Fluorescence quenching

1- Synchronous fluorescence spectra

2- Resonance light scattering (RLS)



شکل ۱- طیف های فرونشانی فلئورسانسی پروتئین نخود خمر در حضور غلظت های مختلف CYG (۰ الی  $10^{-6} \times 4/5$  مولار) در دماهای  $25^{\circ}\text{C}$  (A)،  $35^{\circ}\text{C}$  (B) و  $45^{\circ}\text{C}$  (C)

غلظت پروتئین نخود خمر ۱ میلی گرم بر میلی لیتر می باشد.

Fig. 1. Fluorescence quenching spectra of grass pea protein in the presence of varying concentrations of CYG (0 to  $4.5 \times 10^{-6}$  M) at temperatures of  $25^{\circ}\text{C}$  (A),  $35^{\circ}\text{C}$  (B), and  $45^{\circ}\text{C}$  (C). The grass pea protein concentration was 1 mg/mL.

بین پروتئین و لیگاند) و استاتیک می باشد (Van de Weert & Stella, 2011). همانطور که در جدول ۱ مشاهده می شود، ثابت  $K_q$  برای کمپلکس پروتئین-CYG در دمای محیط برابر است با  $10^{12} \times 2/53$  بر مولار ثانیه که از عدد  $10^{10} \times 2$  بر مولار ثانیه بیشتر است، لذا می توان انتظار داشت که مکانیسم فرونشانی از نوع استاتیک باشد. با توجه به روند تغییرات ثابت  $K_q$  با افزایش دما، مشاهده می شود که با افزایش دما مقادیر ثابت  $K_q$  افزایش می یابد که خلاف فرونشانی استاتیک است. این نتایج با نتایج جهرمی و همکاران (Jahromi et al., 2020) که به برهم کنش بین پروتئین سرم آلبومین گاوی و CYG پرداخته اند و نتایج جنگ و همکاران (Geng et al., 2020) که برهم کنش بین ترکیبات فلاونوئیدی و پروتئین بتالاکتوگلوبولین مطالعه کرده اند مشابهت دارد و بیانگر این مطلب است که مکانیسم فرونشانی، از نوع ترکیب مکانیسم های استاتیک و دینامیک می باشد.

#### پارامترهای اتصال در کمپلکس پروتئین نخود خمر-

##### سیانیدین-۳-گلیکوزید

برای دستیابی به پارامترهای اتصال کمپلکس پروتئین نخود خمر-CYG، داده های فرونشانی فلئورسانس ثبت شده را بر معادله دو لگاریتمی (معادله ۴) که در زیر نشان داده شده است برازش می دهیم.

این فرونشانی نشر فلئورسانس می تواند به عوامل مختلفی از جمله تشکیل کمپلکس در حالت پایه، فرونشانی ناشی از برخورد ذرات، تبادل انرژی در حالت برانگیخته<sup>۱</sup> و غیره ارتباط داشته باشد که اغلب مکانیسم این واکنش ها را به دو دسته استاتیک و دینامیک تقسیم بندی می کنند (Van de Weert & Stella, 2011).

برای اثبات مکانیسم فرونشانی فلئورسانس پروتئین نخود خمر ناشی از تماس با CYG، داده های اصلاح شده نشر فلئورسانس را بر معادله زیر که معروف به معادله استر-ولمر است برازش داده و پارامترهای حاصل از فرونشانی را بررسی می کنیم.

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{SV}[Q] = 1 + K_q \tau_0 [Q] \quad (3)$$

که در این معادله،  $F_0$ ،  $F$ ،  $K_{SV}$ ،  $[Q]$ ،  $K_q$  و  $\tau_0$  به ترتیب بیانگر شدت نشر فلئورسانس در طول موج نشری حداکثر برای پروتئین نخود خمر در عدم حضور و حضور CYG، ثابت استر-ولمر، غلظت خاموش کننده<sup>۲</sup> (CYG)، ثابت سرعت فرونشانی زیست مولکولی<sup>۳</sup> و عمر زنده مانی<sup>۴</sup> ترکیبات زیست مولکولی بدون هرگونه خاموش کننده (برابر است با  $10^{-8}$  ثانیه) می باشد.  $K_q$  شاخصی بسیار مناسبی برای تعیین مکانیسم فرونشانی پروتئین و لیگاند می باشد که در صورتی که عدد آن از  $10^{10} \times 2$  بر مولار ثانیه بیشتر باشد، مکانیسم فرونشانی از نوع استاتیک بوده و در غیر این صورت از نوع دینامیک می باشد. همچنین اگر عدد ثابت مذکور با افزایش دما، افزایش و یا کاهش یابند، به ترتیب مکانیسم فرونشانی فلئورسانس از نوع دینامیک (بدلیل تسریع برخورد

3- Biomolecular quenching

4- Lifetime

1- Excited-state reaction

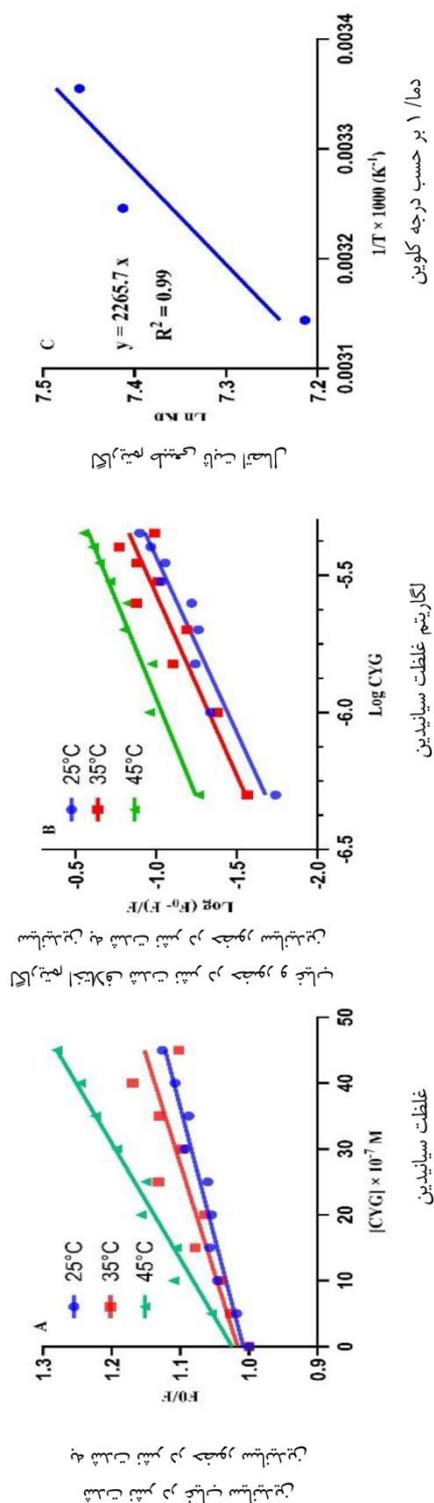
2- Quencher

جدول ۱- ثابت‌های اتصال، استر-ولمر، فرونشانی و پارامترهای ترمودینامیکی برای کمپلکس پروتئین نخود خلد - سیانیدین-۳- گلایکوزید در دماهای مختلف و ۳ pH  
حروف مختلف بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد می‌باشد.

Table 1- The quenching constant, Stern-Volmer constant, binding constant and thermodynamic parameters for the pea-CYG association at different temperatures (pH 3)

Different superscript letters denote statistically significant differences at the 95% confidence level (p < 0.05).

T (K)	$K_{sv}$ ( $\times 10^4 M^{-1}$ )	$K_q$ ( $\times 10^{12} M^{-1}$ )	ثابت فرونشانی	$R^2$	Log $K_b$ ثابت اتصالی	نگارشم اتصالی	$K_b$ ( $\times 10^6 M^{-1}$ )	ثابت اتصال	$K_d$ ( $\times 10^{-4} M$ )	ثابت تفکیک	n تعداد سایت‌های اتصال	$R^2$	$\Delta H^\circ$ ( $KJ mol^{-1}$ )	$\Delta S^\circ$ J ( $K mol^{-1}$ )	$\Delta G^\circ$ ( $KJ mol^{-1}$ ) انرژی آزاد گیبس
298	2.53±0.32B	2.53±0.34B	0.95	3.24±0.14A	1.73±0.35A	5.75	0.78±0.04A	0.93	-18.42	0	-18.07±0.31B				
308	3.01±0.12B	3.01±0.14B	0.80	3.21±0.11A	1.65±0.28A	6.03	0.75±0.01A	0.85			-18.56±0.23A				
318	5.67±0.45A	5.67±0.47A	0.96	3.13±0.05B	1.35±0.06B	7.36	0.69±0.02B	0.96			-18.65±0.11A				



شکل ۲- نمودارهای استر-ولمر (A)، دو لگاریتمی (B) و ونت هوف (C) در کمپلکس پروتئین نخود خمر - CYG  
 Fig. 2. The Stern-Volmer (A), Log (F0-F)/F versus Log [Q] (B) and Van't Hoff plots (C in the gras pea protein-CYG association, respective

در جدول ۱ نشان داده شده است، همانطور که مشاهده می‌شود، تعداد ثابت‌های اتصال و تعداد سایت‌های اتصال CYG با پروتئین نخود خمر  $\log [Q]$  و  $\text{Log} \left[ \frac{F_0 - F}{F} \right]$  برقرار شده است ( $R^2$  برابر است با ۰/۹۳).

که در این معادله،  $K_b$  و  $n$  به ترتیب عبارتند از ثابت اتصال و تعداد سایت‌های اتصال. یک ارتباط خطی بسیار خوبی بین مقادیر

$$\text{Log} \left[ \frac{F_0 - F}{F} \right] = \text{log } K_b + n \text{log} [Q] \quad (4)$$

اساس معادلات ۳ و ۴ دو پارامتر مهم و کلیدی بنام‌های ثابت‌های فرونشانی ( $K_q$ ) و اتصال ( $K_b$ ) بدست می‌آید که بر اساس مکانیسم فرونشانی می‌توانند با افزایش دما، افزایش و کاهش یابند. در صورتی که مکانیسم فرونشانی از نوع استاتیک باشد، با افزایش دما ثابت فرونشانی کاهش می‌یابد اما ثابت اتصال در صورتی که نوع برهم‌کنش بین لیگاند و پروتئین گرماده (مانند پیوندهای هیدروژنی) باشد کاهش (Li et al., 2018; Tang et al., 2016) و در صورتی که گرماگیر (مانند برهم‌کنش‌های آبگریز) باشد، افزایش می‌یابد (Guo et al., 2025; Li et al., 2018; Meng et al., 2021). در صورتی که مکانیسم فرونشانی از نوع ترکیب استاتیک و دینامیک باشد، با افزایش دما، ثابت فرونشانی افزایش اما ثابت اتصال در صورتی که برهم‌کنش از نوع گرماده (مانند پیوندهای هیدروژنی) باشد کاهش (Fenner, Reynolds, & Basu, 2020; Geng et al., 2020; Jahromi et al., 2020) و در صورتی که گرماگیر (مانند برهم‌کنش‌های آبگریز) باشد افزایش می‌یابد (Fenner et al., 2020; Peng, Wang, Qi, 2012; Su, & He, 2016; Tian et al., 2012). لذا درست است که با افزایش دما شدت فرونشانی نشر بیشتر شده است اما بر حسب نوع مکانیسم فرونشانی و نوع پیوند بین لیگاند و پروتئین، ثابت‌های فرونشانی و اتصال تغییر می‌یابند و افزایش شدت فرونشانی همیشه منجر به افزایش ثابت اتصال با دما نخواهد شد که این امری واضح و رایج می‌باشد.

#### پارامترهای ترمودینامیکی و نوع برهم‌کنش در کمپلکس

##### پروتئین نخود خلر-سیانیدین-۳-گلیکوزید

نوع نیروهای پیوندی در گیر در کمپلکس پروتئین نخود خلر- CYG را بر اساس معادله معروف به معادله ونت هوف (معادله ۵) محاسبه شد.

$$\ln K_b = - \left( \frac{\Delta H}{RT} \right) + \left( \frac{\Delta S}{R} \right) \quad (5)$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S = -RT \ln K_b \quad (6)$$

در این معادله،  $\Delta H$ ،  $\Delta S$ ،  $\Delta G$ ،  $R$  و  $T$  به ترتیب عبارتست از آنتالپی، آنتروپی، انرژی آزاد گیبس، ثابت جهانی گازها (۸/۳۱۴ ژول بر مول کلوین) و دما بر حسب درجه کلوین می‌باشد. یک رگرسیون خطی با برازش خیلی خوب بین  $\ln K_b$  و عکس دما بر حسب درجه کلوین برقرار شده است ( $R^2 = 0.99$ ). بطور کلی، بر اساس علامت‌ها و مقادیر آنتالپی و آنتروپی می‌توان نوع برهم‌کنش بین ذرات را تعیین کرد. در صورتی که مقادیر آنتالپی مثبت و آنتروپی نیز مثبت باشد، برهم‌کنش غالب از نوع آبگریز یا هیدروفوبی می‌باشد. در صورتی که مقادیر آنتالپی و آنتروپی هر دو منفی باشند، برهم‌کنش غالب واندروالس و یا هیدروژنی

سایت‌های اتصال کمپلکس پروتئین- CYG نزدیک به عدد ۱ است که بیانگر این واقعیت است که در پروتئین نخود خلر تنها یک جایگاه برای اتصال CYG وجود دارد و احتمالاً می‌توان انتظار داشت که نوع برهم‌کنش از نوع تعاونی باشد. عبارت دیگر اتصال یک مولکول از CYG، اتصال مولکول دیگر از آن را تحت تأثیر قرار دهد (اتصالات لیگاندها وابسته به هم هستند) (Van de Weert & Stella, 2011). این نتایج با نتایج الله داد و همکاران (Allahdad, Varidi, Zadmard, Saboury, 2018; Allahdad, Varidi, Zadmard, Saboury & Haertlé, 2019) که به برهم‌کنش‌های بین بتاکاروتن با پروتئین‌های کازئین و سرمی شیر پرداخته‌اند مطابقت دارد. ثابت اتصال CYG به پروتئین نخود خلر در دمای  $25^\circ\text{C}$  در جدول ۱ آورده شده است که عبارتست از  $1.73 \times 10^3$  بر مولار. این عدد که بیانگر ثابت اتصال ضعیف CYG به پروتئین نخود خلر است، که با درصد اندک فرونشانی نشر فلوتورسانس نشان داده شده در شکل ۱ همخوانی دارد. همانطور که مشاهده می‌شود، با افزایش دما از  $25^\circ\text{C}$  به  $45^\circ\text{C}$ ،  $K_b$  از  $1.73$  به  $1.35 \times 10^3$  بر مولار کاهش یافته است. این روند نشان‌دهنده تضعیف اتصال CYG به پروتئین نخود خلر با افزایش دما می‌باشد و دلالت بر ماهیت آنتالپی محور بودن برهم‌کنش بین CYG و پروتئین نخود خلر دارد که تضعیف شونده با دما هستند. با توجه به نوع برهم‌کنش بین CYG و پروتئین نخود خلر که از نوع هیدروژنی است (بر اساس تغییر علامت پارامترهای ترمودینامیکی در بخش بعد اثبات شده است) و از آنجایی که ثابت شده است که پیوندهای هیدروژنی از نوع گرماده<sup>۱</sup> بوده و مانند دیگر برهم‌کنش‌های گرماده با افزایش دما تضعیف و تخریب می‌شوند (Fennema, Damodaran, & Parkin, 2017b)، کاهش ثابت‌های اتصال با افزایش دما توجیه می‌گردد و نشان‌دهنده تشخیص صحیح و درست نوع برهم‌کنش هیدروژنی بین CYG و پروتئین نخود خلر در بخش بعد بر اساس علامت پارامترهای ترمودینامیکی تعیین شده است می‌باشد. این روند، عکس اتفاقیست که در برهم‌کنش‌های پیش رونده با آنتروپی<sup>۲</sup> نظیر برهم‌کنش‌های گرماگیر هیدروفوبی رخ می‌دهد (Fennema et al., 2017b; Jahromi et al., 2020). این کاهش ثابت اتصال با افزایش دما با نتایج لی و همکاران (Li et al., 2018) و تانگ و همکاران (Tang, Li, Bi, & Gao, 2016) که به برهم‌کنش‌های بین پروتئین با ترکیبات فلاونوئیدی و CYG پرداخته‌اند مطابقت دارد. این کاهش ثابت‌های اتصال بدست آمده از معادله دو لگاریتمی (معادله ۴)، با میزان فرونشانی فلوتورسانس در دماهای مختلف (شکل ۱) قدری متفاوت است. علت این امر، نوع مکانیسم فرونشانی فلوتورسانس در برهم‌کنش بین CYG و پروتئین نخود می‌باشد. از داده‌های حاصل از فرونشانی فلوتورسانس در شکل ۱، بر

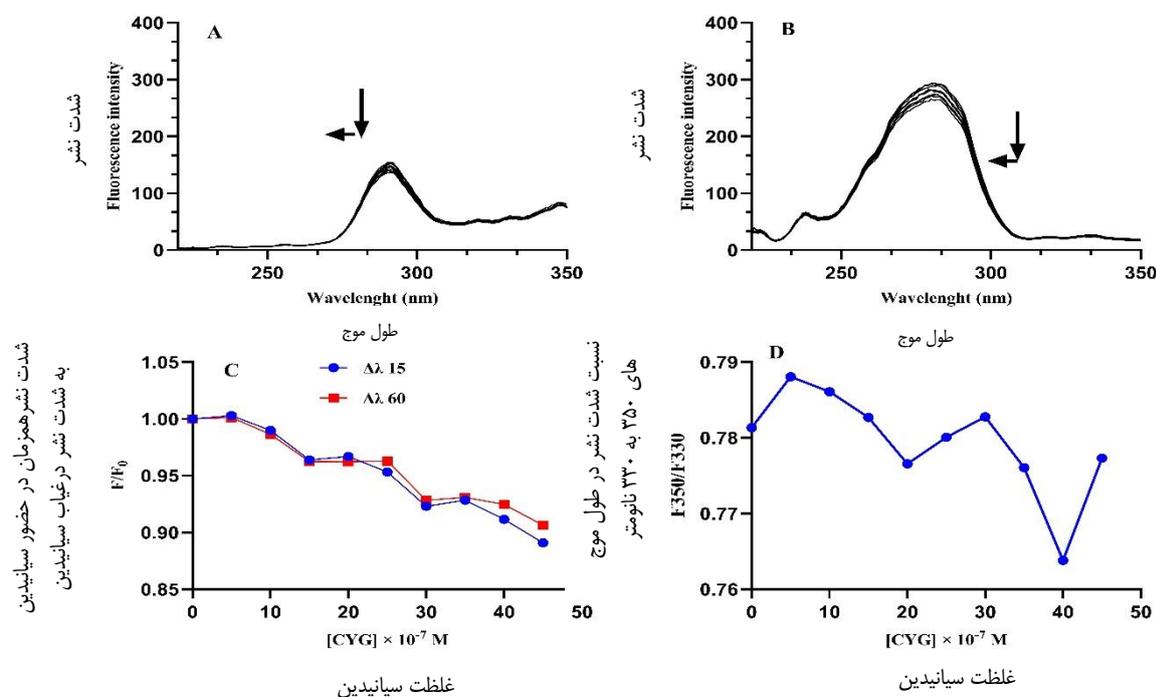
استفاده از طیف‌های فرونشانی فلئورسانس همزمان برای مطالعه محیط اطراف مولکولی نزدیک به اسیدهای آمینه تیروزین و تریپتوفان بسیار رایج می‌باشد. برای این منظور، از فواصل اختلاف طول موج جذبی و نشری ۱۵ و ۶۰ نانومتر به ترتیب برای پایش محیط اطراف مولکولی نزدیک به اسید آمینه تیروزین و تریپتوفان استفاده می‌گردد (Shahsavani et al., 2016). فرونشانی تدریجی نشر فلئورسانس پروتئین نخود خلر در حضور غلظت‌های مختلف CYG در شکل ۳ آورده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، شدت نشر فلئورسانس در  $\Delta\lambda$  معادل ۶۰ نانومتر که نمادی از پایش محیط اطراف اسید آمینه تریپتوفان در ساختار پروتئین است به مراتب از اسید آمینه تیروزین ( $\Delta\lambda$  برابر با ۱۵ نانومتر) بیشتر است. این امر بیانگر مشارکت بیشتر اسید آمینه تریپتوفان در ایجاد نشر ذاتی فلئورسانس پروتئین می‌باشد. همانطور که در شکل ۳ (A و B) دیده می‌شود، شدت نشر فلئورسانس در حضور غلظت‌های مختلف CYG کاهش یافته و طول موج حداکثر نشری، اندکی به طول موج‌های کوتاه‌تر (جابجایی آبی) جابجا شده است. این اتفاق زمانی رخ می‌دهد که قطبیت محیط اطراف اسیدهای آمینه تریپتوفان و تیروزین کاهش یابد و بدون ساختار پروتئین مهاجرت یابد. این امر نشان‌دهنده تاخوردگی موضعی پروتئین در اثر اتصال CYG می‌باشد (Amani, Reza Saberi, & Khan Chamani, 2011). این نتایج جابجایی آبی طول موج حداکثر نشری با نتایج وی و همکاران (Wei, Xu, Zhang, Yang, & Wang, 2018) و برکت و پاترا (Barakat & Patra, 2013) مطابقت دارد. لذا ساختار پروتئین اندکی باز شده و در مرحله بعد دچار تاخوردگی موضعی اطراف این اسیدهای آمینه شده است. به همین دلیل، کاهش شدت نشر و جابجایی آبی در طول موج حداکثر نشر فلئورسانس دیده می‌شود. در صورتی که در اثر اتصال لیگاند تاخوردگی کامل رخ دهد، بدلیل افزایش ضریب نشر کوآتومی پروتئین در این حالت، شدت نشر آن افزایش یافته و این افزایش با جابجایی آبی در طول موج حداکثری نشر فلئورسانس دیده می‌شود (Royer, 2006). این کاهش شدت نشر فلئورسانس تأکیدی بر ایجاد تاخوردگی موضعی نسبت به تاخوردگی کامل در ساختار پروتئین می‌باشد. سرعت فرونشانی نشر فلئورسانس همزمان در شکل ۳ (C) آورده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، شیب نمودار فرونشانی نشر فلئورسانس همزمان در  $\Delta\lambda$  ۱۵ بیشتر از ۶۰ می‌باشد که بیانگر اتصال CYG به مکان‌های نزدیک به حضور تیروزین نسبت به تریپتوفان (منظور اتصال به اسیدهای آمینه نزدیک به مکان حضور اسیدهای آمینه تیروزین در ساختار پروتئین است) در ساختار پروتئین می‌باشد (Jahromi et al., 2020; Shi et al., 2014). در طیف‌های ذاتی نشر فلئورسانس پروتئین، شدت نشر در طول موج نشری ۳۳۰ و ۳۵۰ نانومتر به ترتیب نمادی از نشر پروتئین در محیط‌های قطبی و غیر

می‌باشد. در صورتی که آنتالپی منفی و آنتروپی مقادیر مثبت باشد، برهم کنش از نوع الکتروستاتیک است (Ross & Subramanian, 1981; Shi et al., 2014). مقادیر پارامترهای ترمودینامیکی در جدول ۱ آورده شده است. مقادیر منفی آنتالپی ( $-18/42$ ) و مقادیر صفر آنتروپی در برهم کنش پروتئین نخود خلر با CYG دیده می‌شود. با توجه به منفی بودن مقادیر آنتالپی، می‌توان نتیجه گرفت که برهم کنش از نوع گرماده بوده لذا از نوع برهم کنش آبگریز یا هیدروفوبی نمی‌باشد. با توجه به این نکته که برهم کنش‌های هیدروژنی و الکتروستاتیکی می‌توانند مقادیر آنتالپی آنها منفی باشد ممکن است برهم کنش یکی از این دو مورد باشد. با توجه به این نکته که برهم کنش‌های الکتروستاتیک اغلب مقادیر آنتالپی آنها بین ۰ الی ۲۰ کیلوژول بر مول می‌باشد و در انواع قوی آن همراه با مقادیر بالا و مثبت آنتروپی بوده، با توجه به مقادیر منفی آنتالپی  $-18/42$  بالا در این نوع برهم کنش انتظار می‌رود مقادیر بسیار بالا از آنتروپی دیده شود، لذا با توجه به مقادیر صفر آنتروپی، احتمال برقراری پیوند الکتروستاتیک بین پروتئین نخود خلر و CYG بسیار اندک می‌باشد (هر دو ترکیب در pH ۳ تقریباً دارای بار مثبت بوده و دافعه الکتروستاتیکی بین آنها برقرار است). از طرفی دیگر، آنتالپی پیوندهای هیدروژنی اغلب بین صفر الی ۳۰ کیلوژول بر مول بوده، لذا مقدار آنتالپی برهم کنش پروتئین نخود خلر-CYG جزء مقادیر بالای آنتالپی در این نوع برهم کنش‌ها نمی‌باشد. همچنین در برهم کنش‌های هیدروژنی، اغلب آزادی عمل حرکت مولکول‌ها کاهش یافته و در برخی از موارد، مولکول آب از سطح کمپلکس پروتئین-لیگاند آزاد می‌شود (لیگاند جایگزین آب در سطح پروتئین می‌شود) که در چنین شرایطی ممکن است اثرات ناچیز آنتروپی خنثی شود و مقادیر آن به صفر نزدیک شود. این استدلال با تغییرات بسیار اندک ساختار سوم پروتئین نخود خلر (شکل ۳ و ۴) (معمولاً برهم کنش‌های هیدروژنی ساختار پروتئین را پایدار کرده (Fennema et al., 2017b) و آزادی عمل جهت تحرک آن را کم‌تر می‌کنند) که قابل صرف نظر کردن است و نمادی از تغییرات آنتروپی بوده و همچنین با پایداری بیشتر ساختار پروتئین در اثر ایجاد برهم کنش‌های هیدروژنی هم‌خوانی دارد. لذا احتمالاً، برهم کنش بین پروتئین نخود خلر-CYG از نوع برهم کنش هیدروژنی می‌باشد. این نتایج با موارد مشابه نظیر جهرمی و همکاران (Jahromi et al., 2020) و شی و همکاران (Shi et al., 2014) که کمپلکس‌های پروتئین-آنتوسیانین را بررسی کرده‌اند و نوع برهم کنش را از نوع هیدروژنی گزارش کرده‌اند مطابقت دارد.

**بررسی تغییرات ساختاری پروتئین نخود خلر در حضور سیانیدین-۳-گلیکوزید توسط طیف‌های همزمان فلئورسانس**

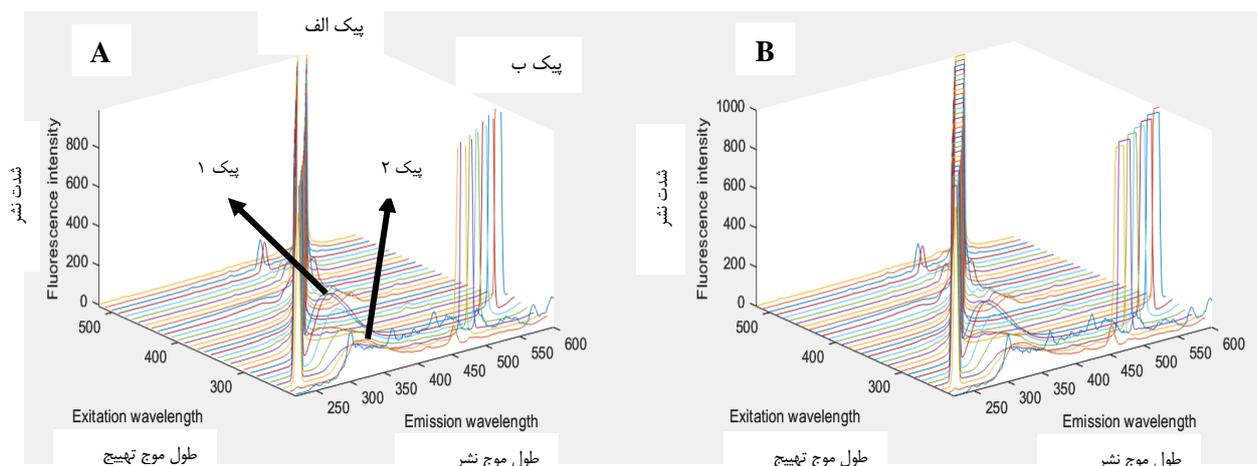
هیدروژنی که در بخش قبل اثبات شد) دچار تاخوردگی موضعی در ساختار پروتئین شده است بطوری که شدت نشر ۳۵۰ به ۳۳۰ نانومتر که نمادی از دناتوره شدن و باز شدن ساختار پروتئین است، از پروتئین طبیعی به تنهایی کمتر است. البته اختلاف این نسبت، در بالاترین غلظت CYG افزوده شده به پروتئین نخود خلر و پروتئین نخود خلر به تنهایی زیاد نبوده و نشان از تغییرات بسیار اندک ساختاری در پروتئین دارد. این نتایج با جابجایی‌های آبی اندک طول موج حداکثر نشری در طیف‌های همزمان نشری فلوروسانس و طیف‌های سه بعدی فلوروسانس مطابقت دارد. همچنین تغییرات ساختاری اندک آن با مفاهیم مطرح شده در نوع برهم‌کنش هیدروژنی و ثبات ساختار پروتئینی در اثر آن، نیز همخوانی دارد.

قطبی می‌باشد (Allahdad *et al.*, 2020). عبارت دیگر طول موج‌های نشری ۳۳۰ و ۳۵۰ نانومتر، به ترتیب نمادی از ساختار طبیعی و غیرطبیعی شده (دناتوره شده) پروتئین می‌باشند. لذا، از نسبت شدت نشر فلوروسانس پروتئین در این طول موج‌ها، برای بررسی تغییرات ساختاری در پروتئین استفاده می‌گردد. همانطور که در شکل ۳ (D) مشاهده می‌شود، شدت نشر ۳۵۰ به ۳۳۰ نانومتر با افزایش غلظت CYG، ابتدا افزایش و سپس روند کاهشی دارد بطوری که در آخرین غلظت CYG، مقدار این نسبت اندکی کمتر از نسبت پروتئین نخود خلر می‌باشد. این مطلب نشان می‌دهد که در غلظت‌های اولیه افزودن CYG به پروتئین نخود خلر، ابتدا ساختار پروتئین نخود خلر دناتوره شده (افزایش نسبت شدت نشر ۳۵۰ به ۳۳۰ نانومتر) و سپس با افزایش غلظت CYG در ادامه، در اثر برهم‌کنش‌های ایجاد شده (از نوع



شکل ۳- طیف‌های فرونشانی فلوروسانس همزمان پروتئین نخود خلر (۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در حضور غلظت‌های مختلف CYG (۰ الی ۱۰<sup>-۶</sup> × ۴/۵ مولار) در Δλ های ۱۵ (A) و ۶۰ (B). مقایسه کاهش شدت فرونشانی نشر فلوروسانس همزمان در Δλ های ۱۵ و ۶۰ (C). تغییرات نسبت شدت فلوروسانس ذاتی پروتئین در طول موج‌های ۳۵۰ به ۳۳۰ نانومتر در حضور غلظت‌های مختلف CYG (۰ الی ۱۰<sup>-۶</sup> × ۴/۵ مولار) (D) در دمای محیط

**Fig. 3.** Synchronous fluorescence quenching spectra of grass pea protein (1 mg/mL) in the presence of different concentrations of CYG (0 to 4.5 × 10<sup>-6</sup> M) at Δλ values of 15 (A) and 60 (B). Comparison of the decrease in synchronous fluorescence emission quenching intensity at Δλ values of 15 and 60 (C). Changes in the intrinsic fluorescence intensity ratio (350 nm/330 nm) of the protein in the presence of varying concentrations of CYG (0 to 4.5 × 10<sup>-6</sup> M) (D).



شکل ۴- طیف‌های فلوئورسانس سه بعدی پروتئین نخود خمر (۱ میلی گرم بر میلی لیتر) در حضور (B) و عدم حضور (A) CYG (۴/۵ × ۱۰<sup>-۶</sup> مولار) در دمای محیط (pH=۳)

Fig. 4. Three-dimensional fluorescence spectral of grass pea protein (1 mg/mL) in the presence (B) and absence (A) of CYG (4.5 μM) at room temperature (pH 3)

جدول ۲- تغییرات طیف فلوئورسانس سه بعدی پروتئین نخود خمر (۱ میلی گرم بر میلی لیتر) در حضور و عدم حضور CYG (۴/۵ × ۱۰<sup>-۶</sup> مولار) در دمای محیط (pH=۳)

Table 2. Three-dimensional fluorescence spectral changes of grass pea protein (1 mg/mL) in the presence and absence of CYG (4.5 μM) at room temperature (pH 3).

Systems	Peak 1 ( $\lambda_{ex}-\lambda_{em}$ ) پیک ۱	$\Delta\lambda$ اختلاف موج جذبی-نشری	Emission intensity شدت نشر	Peak 2 ( $\lambda_{ex}-\lambda_{em}$ ) پیک ۲	$\Delta\lambda$ اختلاف موج جذبی-نشری	Emission intensity شدت نشر
Pea	280-328 nm	48 nm	323.48	230-327.07 nm	97.07 nm	164
Pea-CYG	280-316 nm	36 nm	296.59	230-316 nm	86 nm	159.63

دارد (Jahromi et al., 2020). همانطوری که در شکل ۴ و شکل ۱ مشاهده می‌شود، کاهش شدت نشر فلوئورسانس و جابجایی آبی (جابجایی به طول موج‌های کوتاهتر) در طول موج حداکثر نشری در هر دو پیک ۱ و ۲، بیانگر حذف گروه‌های عاملی نظیر کربونیل، هیدروکسیل و آمین که دارای الکترون‌های پای ۳ هستند و کاهش حلقه‌های آروماتیک و پیوندهای کنژوگه ۴ در ساختار می‌باشد. این تغییرات بدلیل جابجایی اسید آمینه تریپتوفان به محیط‌هایی با قطبیت کمتر که نشان‌دهنده تاخوردگی موضعی پروتئین می‌باشد (Sattar et al., 2012) که با نتایج طیف‌های همزمان نشری کاملاً مطابقت دارد. همچنین فرونشانی بسیار اندک شدت نشر فلوئورسانس (جدول ۲) در هر دو پیک، بیانگر تغییرات اندک ساختار دوم در پروتئین نخود خمر در تماس با CYG می‌باشد که شباهت زیادی با نتایج جهرمی و همکاران دارد. (Jahromi et al., 2020).

### بررسی تغییرات ساختاری پروتئین نخود خمر در حضور سیانیدین-۳-گلیکوزید توسط طیف‌های سه بعدی فلوئورسانس

یکی از روش‌های دقیق برای بررسی تغییرات ساختار سوم پروتئین، طیف‌های سه بعدی نشر فلوئورسانس می‌باشد. جابجایی در طول موج حداکثر جذب و نشری و فرونشانی شدت نشر فلوئورسانس آنها، نمادی از تغییرات ساختاری پروتئین می‌باشد. پیک‌های متعددی در طیف‌های سه بعدی دیده می‌شود که هر یک حاوی اطلاعات ویژه‌ای هستند. این پیک‌ها عبارتند از پیک پراکندگی رایلی<sup>۱</sup> (پیک الف) ( $\lambda_{em} = \lambda_{ex}$ )، پیک پراکندگی مرتبه دوم<sup>۲</sup> ( $\lambda_{em} = 2 \lambda_{ex}$ ) (پیک ب)، پیک فلوئورسانس ۱ که مرتبط به تغییرات محیط اطراف اسیدهای آمینه تیروزین و تریپتوفان است ( $\lambda_{ex} = 280 \text{ nm}$ )

و پیک فلوئورسانس ۲ ( $\lambda_{ex} = 230 \text{ nm}$ ) که مربوط به تغییرات اسکلت پلی‌پپتیدی پروتئین (پیوندهای آمیدی) می‌باشد. همچنین، شدت نشر فلوئورسانس همبستگی خوبی با تغییر ساختار دوم پروتئین

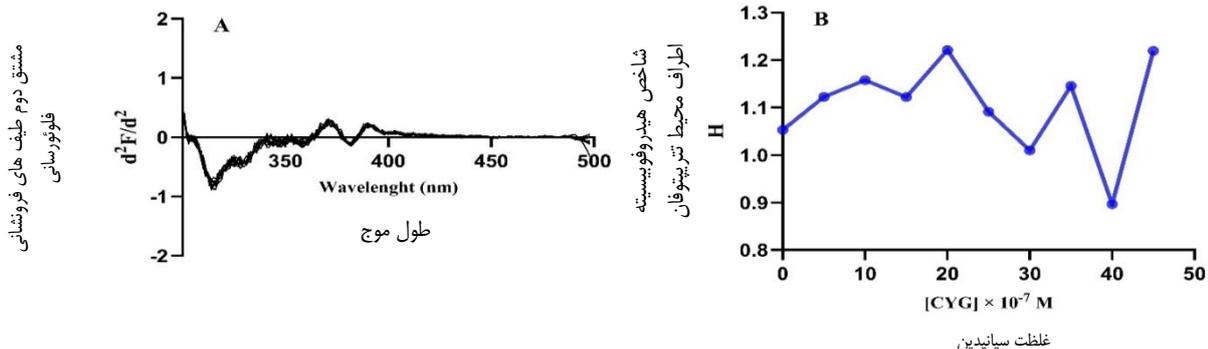
3-  $\pi$ -electron systems  
4- Conjugated bonds

1- Rayleigh scattering peak  
2- The second-order scattering peak

تریپتوفان در مواردی که طول موج تهییج پروتئین ۲۸۰ نانومتر است می‌باشد. با این روش می‌توان حضور اسیدهای آمینه حلقوی به‌ویژه اسید آمینه تریپتوفان را در محیط‌هایی با درجه آبریزی مختلف تعیین کرد (Mozo-Villarias, 2002). عبارت دیگر، میزان تاخوردگی و باز شدن ساختار پروتئین با این روش قابل تشخیص است.

### بررسی تغییرات ساختاری پروتئین نخود خلر در حضور سیانیدین-۳-گلیکوزید توسط مشتق دوم طیف‌های فلوروسانس

استفاده از مشتق دوم طیف‌های نشر فلوروسانس، تکنیکی مؤثر برای پایش تغییرات اندک در محیط پیرامون اسیدهای آمینه تیروزین و



شکل ۵- مشتق دوم طیف‌های فرونشانی فلوروسانی پروتئین نخود خلر (۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) (A) و تغییرات پارامتر H (B) در حضور غلظت‌های مختلف CYG (۰ الی  $4.5 \times 10^{-6}$  مولار) در دماهای  $25^{\circ}\text{C}$

Fig. 5. Second derivative of fluorescence quenching spectra of grass pea protein (1 mg/mL) (A) and H parameter changes (B) in the presence of different concentrations of CYG (0 to  $4.5 \times 10^{-6}$  M) at  $25^{\circ}\text{C}$

### بررسی طیف پراکندگی نور رزونانس پروتئین نخود

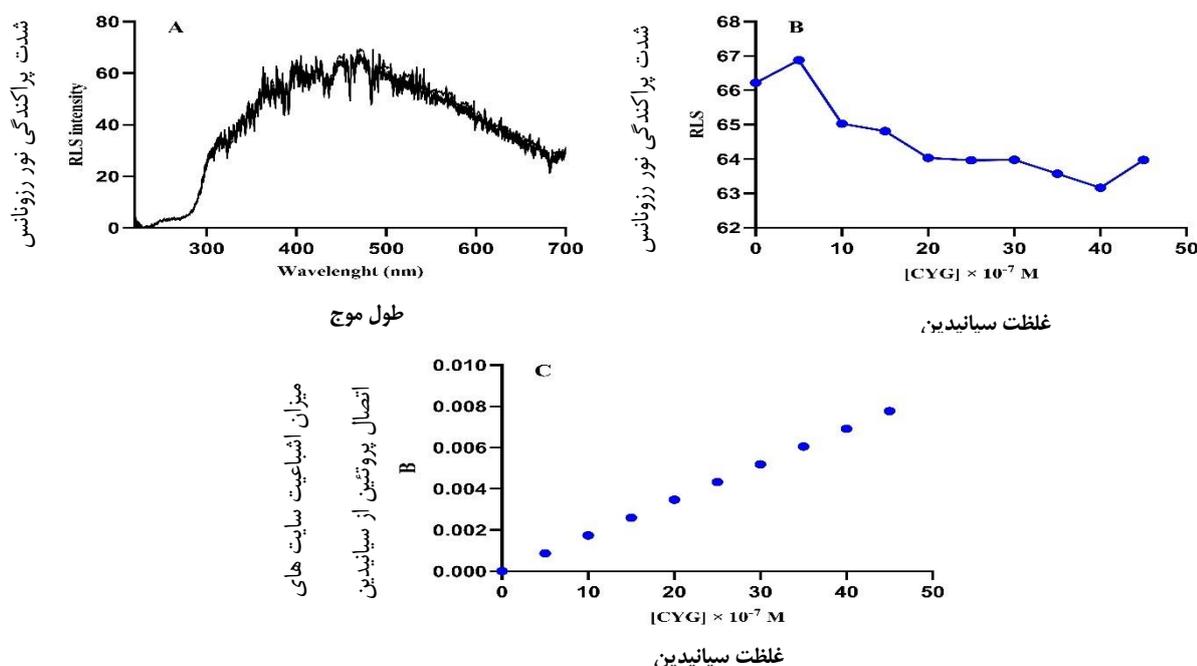
#### خلر در حضور سیانیدین-۳-گلیکوزید

پراکندگی نور رزونانس یا RLS، روشی است که اغلب برای تشخیص تجمعات مولکولی ریز و بزرگ کروموفورهای که بدلیل خود تجمعی یا تجمع با دیگر مولکول‌ها، تشکیل ساختارهای بزرگ دارای سیگنال RLS قوی می‌دهند (در برخی موارد تجمعات کروموفوری رخ می‌دهد اما اندازه آن به نحوی نیست که سیگنال قوی RLS داشته باشد)، استفاده می‌گردد. لذا مفهوم RLS، با اندازه ذرات و حجم هر ذره از ترکیبات موجود در یک سیستم مورد مطالعه، ارتباط خطی مستقیم دارد (Sattar et al., 2012). نتایج RLS کمپلکس پروتئین نخود خلر-CYG در شکل ۶ آورده شده است. همانطور که مشاهده می‌گردد (شکل ۶ A)، طیف‌های RLS دارای دو پیک ماکزیمم در طول موج‌های ۴۰۵ و ۴۷۲ نانومتر می‌باشند. که به ترتیب بیانگر تجمعات ریزتر و درشت‌تر در کمپلکس پروتئین نخود خلر-CYG می‌باشند (Pasternack & Collings, 1995). با افزایش غلظت CYG تا ۰/۵ میکرومولار (شکل ۶ B)، ابتدا بدلیل تشکیل کمپلکس پروتئین نخود خلر-CYG از طریق پیوند هیدروژنی (ثابت شده از بخش قبل)، اندازه ذرات پروتئین اندکی افزایش یافته، لذا شدت نشر بیشتری از RLS در هر دو طول موج بویژه در طول موج ۴۷۲ نانومتر دیده می‌شود که حاکی

برای این منظور، پارامتری بنام H تعریف شده است که عبارتست از اختلاف بین حداقل شدت نشر فلوروسانس در نواحی طول موجی ۳۲۰-۳۵۰ نانومتر و شدت نشر در پیک ۳۷۰ نانومتر نسبت به اختلاف بین حداقل شدت نشر فلوروسانس حداقلی در نواحی طول موجی ۳۲۰-۳۵۰ نانومتر و شدت نشر در پیک ۴۰۰ نانومتر. پارامتر H نشان دهنده تغییرات آبریزی محیط پیرامون اسیدهای آمینه حلقوی بخصوص اسید آمینه تریپتوفان می‌باشد. مشتق دوم طیف‌های فرونشانی نشر فلوروسانس پروتئین نخود خلر در مقابل غلظت‌های گوناگون CYG در شکل ۵ آورده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، برآیند روند تغییرات پارامتر H با افزایش غلظت CYG، صعودی می‌باشد. این نتایج حاکی از افزایش آبریزی محیط پیرامون اسید آمینه تریپتوفان ناشی از تاخوردگی موضعی پروتئین نخود خلر در حضور رنگدانه CYG می‌باشد. این نتیجه با نتایج تغییرات ساختاری پروتئین (طیف‌های فرونشانی فلوروسانس همزمان (شکل ۳ A و B)، طیف‌های سه بعدی فلوروسانس (شکل ۴) و تغییرات نسبت شدت فلوروسانس ذاتی پروتئین در طول موج‌های ۳۵۰ به ۳۳۰ نانومتر (شکل ۳ D)) در حضور ترکیب CYG کاملاً هم‌خوانی دارد و تأیید کننده آن نتایج می‌باشد. این نتایج با نتایج عبدالله پور و همکاران (Abdollahpour, Soheili, Saberi, & Chamani, 2016) مطابقت دارد.

طوری متصل شده باشند که گروه‌های آبریز موجود در سطح پروتئین پوشانده شده است. با توجه به اینکه برهم کنش بین CYG و پروتئین نخود خمر از نوع هیدروژنی بوده و مکان‌های اتصال پیوندهای هیدروژنی اغلب در سطح پروتئین می باشد، می توان چنین پدیده‌ای را انتظاری داشت.

از تجمعات کنترل شده می‌باشد. در ادامه با افزایش غلظت‌های CYG در بازه غلظتی ۱ الی ۴ میکرو مولار، کاهش شدت RLS دیده می‌شود که بیانگر کاهش اندازه ذرات و تجمعات کمپلکس پروتئین نخود خمر- CYG می‌باشد. این امر احتمالاً بدلیل نحوه اتصال CYG به پروتئین نخود ارتباط دارد که ممکن است مولکول‌های CYG به سطح پروتئین



شکل ۶. طیف‌ها (A) و روند تغییرات (B) RLS پروتئین نخود خمر (۱ میلی گرم بر میلی لیتر) در حضور غلظت‌های مختلف CYG (۰ الی  $4/5 \times 10^{-6}$  مولار) در طول موج نشری ۴۷۲ نانومتر در دمای محیط. ایزوترم اتصال لانگمیر در دمای محیط (C).

Figure 6. (A) Spectra and (B) variation trends of RLS (resonance light scattering) of grass pea protein (1 mg/mL) in the presence of different concentrations of CYG (0 to  $4.5 \times 10^{-6}$  M) at emission wavelength of 472 nm at room temperature. Langmuir binding isotherm at room temperature (C)

از دیگری دلایل کاهش میزان RLS می‌توان به دافعه الکترواستاتیکی ناشی از بار مثبت ترکیبات سیانیدین-۳-گلیکوزید (در pH ۳ سهم ترکیب کاتیون فلاویوم از ترکیب همی کتال در آنتوسیانین بیشتر بوده و چون بار مثبت دارد لذا بار CYG مثبت است (Brouillard, 1982)) و پروتئین نخود خمر در pH ۳ نیز اشاره کرد که تمایل اتصال قوی به هم ندارند و تمایل به تجمعات را کاهش می‌دهد. این نتایج با نتایج محسنی شهری و همکاران (Mohseni-Shahri, Housaindokht, Bozorgmehr, & Moosavi-Movahedi, 2014) مطابقت دارد. این محققان بیان کردند که کاهش بار منفی در سطح پروتئین (و متعاقباً افزایش بار مثبت سطح پروتئین) منجر به کاهش میزان تجمعات پروتئین می‌شود. اثبات شده است که یکی از عوامل مؤثر در ایجاد تجمعات پروتئینی، برهم کنش‌های پروتئین-پروتئین از سمت گروه‌های آبریز سطحی در پروتئین می‌باشد

میزان سطوح آبریز سطحی پروتئین بواسطه برهم کنش با CYG کاهش یابد، متعاقباً تجمعات آنها از سمت آبریز سطحی کاهش و لذا شدت RLS نیز کاهش می‌یابد. نکته دیگری که در این محدوده غلظتی از CYG مشاهده می‌شود، اندکی جابجایی قرمز طول موج حداکثر نشری در RLS به طول موج‌های بلندتر می‌باشد که به تجمعات پروتئینی اشاره دارد (Sattar et al., 2012)، این جابجایی طول موجی در این محدوده غلظتی همراه با افزایش شدت RLS نمی‌باشد که علت آن این است که RLS تنها تجمعاتی که اندازه آنها در حدی باشد که نور فلئورسانس را پراکنده کنند می‌تواند نشان دهد (Sattar et al., 2012). در غلظت ۴/۵ میکرومولار، با افزودن CYG به پروتئین، به یکباره شدت RLS افزایش می‌یابد. این اتفاق ممکن است بدلیل افزایش قرار گیری CYG بر روی سطح پروتئین و رسیدن به حد آستانه

شدت RLS ممکن است بدلیل شکل‌گیری تجمعات بزرگتر پروتئینی باشد.

### نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داده که پروتئین نخود خلر قادر به تشکیل کمپلکس با رنگدانه CYG از طریق پیوندهای هیدروژنی با ثابت اتصال  $10^3 \times 1/73$  بر مولار با مکانیسم ترکیب استاتیک و دینامیک و تعداد جایگاه اتصال  $0/78$  می‌باشد. نتایج طیف‌های همزمان، سه بعدی و مشتق دوم فلورسانس نشان داد که در اثر اتصال CYG به پروتئین نخود خلر، تاخوردگی موضعی در ساختار پروتئین ایجاد می‌شود که منجر به حفظ بخش زیادی از ساختار طبیعی پروتئین می‌شود. تضعیف ثابت اتصال پروتئین نخود خلر با افزایش دما نشان داد که استفاده از پروتئین نخود خلر گزینه‌ای مناسب برای اتصال به ترکیب CYG در سیستم‌های غذایی و غیره که در دمای محیط و شرایط اسیدی نیاز به مقادیر اندک سامانه‌های پروتئین بوده می‌باشد بطوری که در اثر اتصال به رنگدانه CYG، ساختار طبیعی پروتئین دستخوش تغییرات جدی نشود و ویژگی‌های عملکردی پروتئین تغییر نکند. همچنین اندازه کمپلکس مذکور در غلظت‌های بیشتر از ۲ برابر غلظت CYG نسبت به پروتئین افزایش می‌یابد که بیانگر رفتار مختلف این کمپلکس در غلظت‌های بالاتر نسبت به غلظت‌های پائین تر CYG می‌باشد.

### منابع تأمین مالی

این پژوهش با حمایت مالی وزارت علوم تحقیقات و فناوری انجام شده است.

### میزان مشارکت نویسندگان

**رضوی زادگان جهرمی:** مفهوم‌سازی، مدیریت داده‌ها، تحلیل رسمی، تأمین مالی، تحقیق و بررسی، روش‌شناسی، مدیریت پروژه، منابع، نرم‌افزار، نظارت، اعتبارسنجی، تجسم، نوشتن-پیش‌نویس و نوشتن-بررسی و ویرایش. **فرهوش:** تأمین مالی، بررسی و ویرایش.

### تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچگونه تعارض منافی ندارند.

غلظتی از CYG برای نزدیک کردن مولکول‌های پروتئینی بهم و تشکیل تجمعات پروتئینی از طریق برهم‌کنش‌های پروتئین با CYG باشد. عبارت دیگر، مولکول‌های CYG در غلظت بالا توانسته‌اند مانند پلی بین پروتئین‌ها عمل کنند و این مولکول‌ها را بهم متصل کنند و سبب ایجاد تجمعات بزرگ در ساختار پروتئین گردند که با افزایش شدت RLS دیده می‌شوند. این افزایش تجمعات پروتئینی در اثر پیوندهای هیدروژنی با نتایج جهرمی و همکاران (Jahromi et al., 2020) که به برهم‌کنش پروتئین سرم آلبومین گاوی و رنگدانه سیانیدین-۳-گلیکوزید پرداخته است شباهت دارد. در این مطالعه نشان داده شده است که در غلظت‌های بالاتر رنگدانه CYG به پروتئین سرم آلبومین گاوی (نسبت ۱۳ به ۱)، رنگدانه مانند پلی، پروتئین‌های سرم آلبومین گاوی را بهم متصل کرده و سبب ایجاد ساختارهای تجمعی پروتئین شده و اندازه ذرات کمپلکس افزایش یافته است. همچنین نتایج سرزهی و چمنی (Sarzehi & Chamani, 2010) نیز افزایش تجمعات پروتئینی ناشی از برهم‌کنش با لیگاند را تأیید می‌کند. در مطالعه‌ای دیگر رهنما و همکاران (Rahnema, Mahmoodian-Moghaddam, Khorsand-Ahmadi, Saberi & Chamani, 2015) محققان نشان داده‌اند که در غلظت‌های پائین لیگاند، علی‌رغم ایجاد برهم‌کنش بین پروتئین و لیگاند، تغییرات اندکی در شدت RLS رخ داده است. با ادامه تیتراسیون و افزایش غلظت لیگاند، به یکباره شدت نشر RLS با شیب بیشتری افزایش می‌یابد. این محققان بیان کردند که تجمعات بین پروتئینی در غلظت‌های بیشتر لیگاند شدت بیشتری می‌گیرد و لیگاند می‌تواند سبب افزایش اندازه ذرات کمپلکس گردد. در غلظت ۴/۵ میکرومولار، میزان مولکول‌های CYG نسبت به پروتئین نخود خلر در محیط ۲ برابر می‌باشد. این افزایش دو برابری CYG نسبت به پروتئین در سطح از یک طرف و عدم اشباعیت مکان‌های اتصال پروتئین از CYG (شکل ۶ C) (بدلیل روند خطی با شیب زیاد از اشغال شدن مکان‌های اتصال پروتئین (B) از CYG و عدم مشاهده تغییرات اندک در پر شدن این جایگاه‌ها در غلظت‌های بالای CYG) از طرفی دیگر سبب شده تا بتوان چنین استدلال کرد که در غلظت‌های بالاتر از ۴/۵ میکرومولار تا رسیدن به حد اشباعیت جایگاه‌های اتصال پروتئین، میل ترکیبی بین CYG و پروتئین موجب شکل‌گیری کمپلکس‌های بزرگتر بدلیل افزایش برهم‌کنش‌های بیشتر می‌باشد. لذا این افزایش ثانویه در

### References

1. Abdollahpour, N., Soheili, V., Saberi, M.R., & Chamani, J. (2016). Investigation of the interaction between human serum albumin and two drugs as binary and ternary systems. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 41(6), 705–721. <https://doi.org/10.1007/s13318-015-0297-y>

2. Abioye, R.O., Obeme-Nmom, J.I., & Udenigwe, C.C. (2024). Pea protein–curcumin interactions and their effects on in vitro protein digestibility. *ACS Food Science & Technology*, 4(3), 711–718. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.3c00614>
3. Allahdad, Z., Khammari, A., Karami, L., Ghasemi, A., Sirotkin, V.A., Haertlé, T., & Saboury, A.A. (2020). Binding studies of crocin to  $\beta$ -Lactoglobulin and its impacts on both components. *Food Hydrocolloids*, 108, 106003. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106003>
4. Allahdad, Z., Varidi, M., Zadmard, R., & Saboury, A.A. (2018). Spectroscopic and docking studies on the interaction between caseins and  $\beta$ -carotene. *Food Chemistry*, 255, 187–196. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.143>
5. Allahdad, Z., Varidi, M., Zadmard, R., Saboury, A.A., & Haertlé, T. (2019). Binding of  $\beta$ -carotene to whey proteins: Multi-spectroscopic techniques and docking studies. *Food Chemistry*, 277, 96–106. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.057>
6. Amani, N., Reza Saberi, M., & Khan Chamani, J. (2011). Investigation by fluorescence spectroscopy, resonance rayleigh scattering and zeta potential approaches of the separate and simultaneous binding effect of paclitaxel and estradiol with human serum albumin. *Protein and Peptide Letters*, 18(9), 935–951. <https://doi.org/10.2174/092986611796011473>
7. Barakat, C., & Patra, D. (2013). Combining time-resolved fluorescence with synchronous fluorescence spectroscopy to study bovine serum albumin-curcumin complex during unfolding and refolding processes. *Luminescence*, 28(2), 149–155. <https://doi.org/10.1002/bio.2354>
8. Brouillard, R. (1982). Chemical structure of anthocyanins. *Anthocyanins as Food Colors*. <https://doi.org/1-4010.1016/b978-0-12-472550-8.50005-6>
9. Cai, D., Li, X., Chen, J., Jiang, X., Ma, X., Sun, J., Tian, L., Vidyarthi, S.K., Xu, J., & Pan, Z. (2022). A comprehensive review on innovative and advanced stabilization approaches of anthocyanin by modifying structure and controlling environmental factors. *Food Chemistry*, 366, 130611. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130611>
10. Cao, J., Li, F., Li, Y., Chen, H., Liao, X., & Zhang, Y. (2021). Hydrophobic interaction driving the binding of soybean protein isolate and chlorophyll: Improvements to the thermal stability of chlorophyll. *Food Hydrocolloids*, 113, 106465. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106465>
11. Castañeda-Ovando, A., de Lourdes Pacheco-Hernández, M., Páez-Hernández, M.E., Rodríguez, J.A., & Galán-Vidal, C.A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113(4), 859–871. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.001>
12. Cheng, J., Ma, Y., Li, X., Yan, T., & Cui, J. (2015). Effects of milk protein-polysaccharide interactions on the stability of ice cream mix model systems. *Food Hydrocolloids*, 45, 327–336. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.11.027>
13. Chung, C., Rojanasasithara, T., Mutilangi, W., & McClements, D.J. (2015). Enhanced stability of anthocyanin-based color in model beverage systems through whey protein isolate complexation. *Food Research International*, 76, 761–768. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.003>
14. Cortez, R., Luna-Vital, D.A., Margulis, D., & Gonzalez de Mejia, E. (2017). Natural pigments: stabilization methods of anthocyanins for food applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(1), 180-198. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12244>
15. de Carvalho Bertozo, L., Fernandes, A.J., Yoguim, M.I., Bolean, M., Ciancaglini, P., & Ximenes, V.F. (2020). Entropy-driven binding of octyl gallate in albumin: failure in the application of temperature effect to distinguish dynamic and static fluorescence quenching. *Journal of Molecular Recognition*, 33(7), e2840. <https://doi.org/10.1002/jmr.2840>
16. Fennema, O.R., Damodaran, S., & Parkin, K.L. (2017a). Introduction to food chemistry. In *Fennema's food chemistry* (fifth ed., pp. 290–291). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420020526>
17. Fennema, O.R., Damodaran, S., & Parkin, K.L. (2017b). Introduction to food chemistry. In *Fennema's food chemistry* (pp. 272). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420020526>
18. Fenner, K., Reynolds, G., & Basu, S. (2020). Fluorescence quenching of various indoles by nickel complexes. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 239, 118473. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118473>
19. Feyzi, S., Milani, E., & Golimovahhed, Q.A. (2018). Grass pea (*Lathyrus sativus* L.) protein isolate: The effect of extraction optimization and drying methods on the structure and functional properties. *Food Hydrocolloids*, 74, 187–196. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.07.031>
20. Geng, S., Jiang, Z., Ma, H., Wang, Y., Liu, B., & Liang, G. (2020). Interaction mechanism of flavonoids and bovine  $\beta$ -lactoglobulin: Experimental and molecular modelling studies. *Food Chemistry*, 312, 126066. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126066>

21. Guo, X., Yao, J., Zhang, J., Wu, Q., Liu, L., & Liu, L. (2025). The binding mechanisms of oat flavonoids and sodium caseinate and their anti-glycation effect: spectroscopy, chromatography, and molecular docking study. *Food Bioscience*, 107058. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2025.107058>
22. Jahromi, S.H.R., Farhoosh, R., Hemmateenejad, B., & Varidi, M. (2020). Characterization of the binding of cyanidin-3-glucoside to bovine serum albumin and its stability in a beverage model system: A multispectroscopic and chemometrics study. *Food Chemistry*, 311, 126015. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126015>
23. Joye, I.J., Davidov-Pardo, G., Ludescher, R.D., & McClements, D.J. (2015). Fluorescence quenching study of resveratrol binding to zein and gliadin: Towards a more rational approach to resveratrol encapsulation using water-insoluble proteins. *Food Chemistry*, 185, 261-267. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.128>
24. Konczak, I., & Zhang, W. (2004). Anthocyanins—more than nature's colours. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2004(5), 239. <https://doi.org/10.1155/S1110724304407013>
25. Li, K., Yuan, X., Zhao, J., Ren, J., Ma, L., Liao, X., Hu, X., Chen, F., & Ji, J. (2024). Covalent conjugate of pea protein induced by cyanidin-3-O-glucoside quinone: The structural formation and functional properties. *Food Hydrocolloids*, 153, 110047. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110047>
26. Li, T., Hu, P., Dai, T., Li, P., Ye, X., Chen, J., & Liu, C. (2018). Comparing the binding interaction between  $\beta$ -lactoglobulin and flavonoids with different structure by multi-spectroscopy analysis and molecular docking. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 201, 197-206. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.05.011>
27. Ma, Z., Cheng, J., Jiao, S., & Jing, P. (2022). Interaction of mulberry anthocyanins with soybean protein isolate: Effect on the stability of anthocyanins and protein in vitro digestion characteristics. *International Journal of Food Science & Technology*, 57(4), 2267-2276. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15576>
28. Mazza, G., & Miniati, E. (2018). *Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains*. CRC press. <https://doi.org/10.1201/9781351069700-1>
29. Mehr, H.M., & Koocheki, A. (2021). Physicochemical properties of Grass pea (*Lathyrus sativus* L.) protein nanoparticles fabricated by cold atmospheric-pressure plasma. *Food Hydrocolloids*, 112, 106328. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106328>
30. Meng, Y., Hao, L., Tan, Y., Yang, Y., Liu, L., Li, C., & Du, P. (2021). Noncovalent interaction of cyanidin-3-O-glucoside with whey protein isolate and  $\beta$ -lactoglobulin: Focus on fluorescence quenching and antioxidant properties. *LWT*, 137, 110386. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110386>
31. Mohseni-Shahri, F.S., Housaindokht, M.R., Bozorgmehr, M.R., & Moosavi-Movahedi, A.A. (2014). The influence of the flavonoid quercetin on the interaction of propranolol with human serum albumin: Experimental and theoretical approaches. *Journal of Luminescence*, 154, 229-240. <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2014.04.033>
32. Mozo-Villarias, A. (2002). Second derivative fluorescence spectroscopy of tryptophan in proteins. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 50(2-3), 163-178. [https://doi.org/10.1016/S0165-022X\(01\)00181-6](https://doi.org/10.1016/S0165-022X(01)00181-6)
33. Ni, Y., Zhu, R., & Kokot, S. (2011). Competitive binding of small molecules with biopolymers: a fluorescence spectroscopy and chemometrics study of the interaction of aspirin and ibuprofen with BSA. *Analyst*, 136(22), 4794-4801. <https://doi.org/10.1039/C1AN15550D>
34. Nichenametla, S.N., Taruscio, T.G., Barney, D.L., & Exon, J.H. (2006). A review of the effects and mechanisms of polyphenolics in cancer. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(2), 161-183. <https://doi.org/10.1080/10408390591000541>
35. Pasternack, R.F., & Collings, P.J. (1995). Resonance light scattering: a new technique for studying chromophore aggregation. *Science*, 269(5226), 935-939. <https://doi.org/10.1126/science.7638615>
36. Peng, X., Wang, X., Qi, W., Su, R., & He, Z. (2016). Affinity of rosmarinic acid to human serum albumin and its effect on protein conformation stability. *Food Chemistry*, 192, 178-187. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.109>
37. Rahnama, E., Mahmoodian-Moghaddam, M., Khorsand-Ahmadi, S., Saberi, M.R., & Chamani, J. (2015). Binding site identification of metformin to human serum albumin and glycosylated human serum albumin by spectroscopic and molecular modeling techniques: a comparison study. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 33(3), 513-533. <https://doi.org/10.1080/07391102.2014.893540>
38. Rampon, V., Genot, C., Riaublanc, A., Anton, M., Axelos, M., & McClements, D. (2003). Front-face fluorescence spectroscopy study of globular proteins in emulsions: displacement of BSA by a nonionic surfactant. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(9), 2482-2489. <https://doi.org/10.1021/jf026168g>
39. Ross, P.D., & Subramanian, S. (1981). Thermodynamics of protein association reactions: forces contributing to stability. *Biochemistry*, 20(11), 3096-3102. <https://doi.org/10.1021/bi00514a017>
40. Royer, C.A. (2006). Probing protein folding and conformational transitions with fluorescence. *Chemical Reviews*, 106(5), 1769-1784. <https://doi.org/10.1021/cr0404390>

41. Sarzehi, S., & Chamani, J. (2010). Investigation on the interaction between tamoxifen and human holo-transferrin: determination of the binding mechanism by fluorescence quenching, resonance light scattering and circular dichroism methods. *International Journal of Biological Macromolecules*, 47(4), 558–569. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.08.002>
42. Sattar, Z., Iranfar, H., Asoodeh, A., Saberi, M.R., Mazhari, M., & Chamani, J. (2012). Interaction between holo transferrin and HSA–PPIX complex in the presence of lomefloxacin: An evaluation of PPIX aggregation in protein–protein interactions. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 97, 1089–1100. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.07.034>
43. Shahsavani, M.B., Ahmadi, S., Aseman, M.D., Nabavizadeh, S.M., Alavianmehr, M.M., & Yousefi, R. (2016). Comparative study on the interaction of two binuclear Pt (II) complexes with human serum albumin: Spectroscopic and docking simulation assessments. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 164, 323–334. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.09.035>
44. Shi, J.H., Wang, J., Zhu, Y.Y., & Chen, J. (2014). Characterization of intermolecular interaction between cyanidin-3-glucoside and bovine serum albumin: Spectroscopic and molecular docking methods. *Luminescence*, 29(5), 522–530. <https://doi.org/10.1002/bio.2579>
45. Tabasi, M., Maghami, P., Amiri-Tehranizadeh, Z., Saberi, M.R., & Chamani, J. (2023). New perspective of the ternary complex of nano-curcumin with  $\beta$ -lactoglobulin in the presence of  $\alpha$ -lactalbumin: Spectroscopic and molecular dynamic investigations. *Journal of Molecular Liquids*, 392, 123472. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2023.123472>
46. Tamburino, R., Guida, V., Pacifico, S., Rocco, M., Zarelli, A., Parente, A., & Di Maro, A. (2012). Nutritional values and radical scavenging capacities of grass pea (*Lathyrus sativus* L.) seeds in Valle Agricola district, Italy. *Australian Journal of Crop Science*, 6(1), 149–156. <https://search.informit.org/doi/abs/10.3316/informit.053932061026241>
47. Tang, L., Li, S., Bi, H., & Gao, X. (2016). Interaction of cyanidin-3-O-glucoside with three proteins. *Food Chemistry*, 196, 550–559. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.089>
48. Tian, F.-F., Li, J.-H., Jiang, F.-L., Han, X.-L., Xiang, C., Ge, Y.-S., Li, L.-L., & Liu, Y. (2012). The adsorption of an anticancer hydrazone by protein: an unusual static quenching mechanism. *RSC Advances*, 2(2), 501–513. <https://doi.org/10.1039/C1RA00521A>
49. Tsuda, T., Horio, F., Uchida, K., Aoki, H., & Osawa, T. (2003). Dietary cyanidin 3-O- $\beta$ -D-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice. *The Journal of Nutrition*, 133(7), 2125–2130. <https://doi.org/10.1093/jn/133.7.2125>
50. Van de Weert, M., & Stella, L. (2011). Fluorescence quenching and ligand binding: A critical discussion of a popular methodology. *Journal of Molecular Structure*, 998(1-3), 144–150. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2011.05.023>
51. Wei, J., Xu, D., Zhang, X., Yang, J., & Wang, Q. (2018). Evaluation of anthocyanins in *Aronia melanocarpa*/BSA binding by spectroscopic studies. *Amb Express*, 8(1), 72. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0604-5>
52. Wu, H., Oliveira, G., & Lila, M.A. (2023). Protein-binding approaches for improving bioaccessibility and bioavailability of anthocyanins. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 22(1), 333–354. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13070>
53. Yang, P., Wang, W., Xu, Z., Rao, L., Zhao, L., Wang, Y., & Liao, X. (2023). New insights into the pH dependence of anthocyanin-protein interactions by a case study of cyanidin-3-O-glucoside and bovine serum albumin. *Food Hydrocolloids*, 140, 108649. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108649>
54. Zhang, L., Liang, R., & Li, L. (2022). The interaction between anionic polysaccharides and legume protein and their influence mechanism on emulsion stability. *Food Hydrocolloids*, 131, 107814. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107814>
55. Zheng, J., Zheng, X., Zhao, L., Yi, J., & Cai, S. (2021). Effects and interaction mechanism of soybean 7S and 11S globulins on anthocyanin stability and antioxidant activity during in vitro simulated digestion. *Current Research in Food Science*, 4, 543–550. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.08.003>



## Evaluation of Quality Attributes and Antioxidant Changes of Button Mushrooms Coated with Gum Arabic, Starch and Ascorbic Acid during Cold Storage

F. Amighi<sup>1\*</sup>, F. Heidari Dalfard<sup>1</sup>, A. Sadeghi<sup>1</sup>

1- Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran  
(\* - Corresponding Author Email: [Fatemeh.Amighi@ujiroft.ac.ir](mailto:Fatemeh.Amighi@ujiroft.ac.ir))

Received: 09.10.2025  
Revised: 29.10.2025  
Accepted: 09.11.2025  
Available Online: 16.11.2025

### How to cite this article:

Amighi, F., Heidari Dalfard, F., & Sadeghi, A. (2025). Evaluation of quality attributes and antioxidant changes of button mushrooms coated with gum Arabic, starch and ascorbic acid during cold storage. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 21(5), 549-567. (In Persian with English abstract).  
<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2025.95873.1487>

### Introduction

The white button mushroom (*Agaricus bisporus*) is one of the most widely consumed edible fungi worldwide due to its high nutritional value, pleasant flavor, and rich of bioactive compounds such as proteins, essential amino acids, vitamins, minerals, and phenolic substances. However, because of its soft texture, high water activity, and lack of a natural protective cuticle, it is extremely perishable and exhibits a short postharvest shelf life. Therefore, developing effective strategies to maintain quality and extend its storage life is essential. In recent years, the application of natural biopolymer-based edible coatings has emerged as a novel, safe, and biodegradable approach for controlling physiological and oxidative changes in fresh produce.

### Materials and Methods

This study aimed to evaluate the effects of edible coatings formulated from gum Arabic (GA), corn starch (CS), and their combinations with ascorbic acid (AS) on the quality attributes, antioxidant activity, and phenolic content of button mushrooms during 14 days of storage at  $4 \pm 1$  °C. Fresh mushrooms were procured, washed, and air-dried before being divided into six treatments: control (uncoated), GA, CS, AS, GA + AS (GAAS), and CS + AS (CSAS). Coatings were applied by immersion, and samples were stored in polyethylene containers under refrigeration. Quality indices including weight loss, color parameters ( $L^*$  and Browning Index), firmness, total soluble solids (TSS), total phenolic content (TPC), antioxidant activity (DPPH assay), and sensory analysis were determined on days 1, 4, 7, 11, and 14. Statistical analysis was performed using ANOVA and Duncan's multiple range test at a 95% confidence level ( $p < 0.05$ ).

### Results and Discussion

The results revealed that all coating treatments significantly reduced weight loss and delayed browning compared to the control. After 14 days, the highest weight loss occurred in the control (33.06%), while the lowest was observed in GAAS-coated mushrooms (16.47%), indicating the superior ability of this combined coating to minimize moisture evaporation. Regarding textural changes, firmness decreased in all samples during storage, but the GAAS treatment maintained the highest firmness (17.43 N), demonstrating its synergistic effect in preserving cell structure and reducing tissue degradation.

Color measurements showed a gradual decrease in lightness ( $L^*$ ) for all samples; however, GAAS and CSAS treatments retained significantly higher lightness and exhibited the lowest Browning Index values (25.70 and 26.73, respectively). This outcome can be attributed to the antioxidative role of ascorbic acid, which inhibits polyphenol oxidase activity, and the physical barrier effect of the coatings, which limits oxygen diffusion. The



TSS values increased during storage, but the increase was less pronounced in coated samples particularly GAAS most likely related to reduced metabolic respiration due to the semi-permeable nature of the coatings.

Antioxidant activity (DPPH radical scavenging) decreased progressively during cold storage, yet the decline was markedly slower in combined coatings. At the end of storage, GAAS maintained the highest antioxidant activity (~36%), whereas the control sample dropped to ~22%. A similar pattern was found in total phenolic content: GAAS-coated mushrooms retained the highest phenolic level (0.52 mg GAE/g fw) compared with the control (0.32 mg GAE/g fw). These findings highlight the synergistic effects of gum Arabic and ascorbic acid in reducing oxidative degradation and preserving phenolic compounds, which are essential contributors to antioxidant potential.

Overall, all sensory attributes including color, flavor, texture, and overall acceptability decreased during the storage period, but the decline was less pronounced in treatments containing antioxidant compounds, especially the GAAS coating. The results demonstrated that the addition of antioxidants and natural coatings such as Arabic gum significantly preserved the sensory quality and extended the shelf life of button mushrooms. Similar findings have reported that coatings with Arabic gum combined with ascorbic acid reduce browning, maintain fresh taste, and improve overall product acceptability.

## Conclusion

Overall, this research demonstrates that natural edible coatings, especially the GA + AS formulation, effectively maintained the physicochemical, antioxidant, and visual qualities of button mushrooms during refrigerated storage. The mechanism involves reducing respiration rate, limiting water vapor and gas exchange, and inhibiting oxidative enzyme activity. Owing to its biodegradability, safety, affordability, and high efficacy, the GAAS coating can serve as an environmentally friendly alternative to synthetic packaging or chemical preservatives. Hence, the combined use of gum Arabic and starch with ascorbic acid represents a promising, low-cost, and sustainable strategy for extending the shelf life of button mushrooms and potentially other perishable horticultural products in the fresh food supply chain. Sensory evaluation results showed that important sensory attributes including color, flavor, texture, and overall acceptability of button mushrooms decreased during 14 days of storage. However, this decline was significantly less in samples treated with composite antioxidant-containing coatings, particularly the GAAS coating. These findings indicate that coatings based on Arabic gum and antioxidant additives effectively protect sensory quality, preventing undesirable changes during storage. Additionally, better retention of texture and overall acceptability confirms the positive impact of these coatings on freshness and consumer satisfaction. Therefore, designing natural composite coatings offers an efficient strategy for improving the shelf-life and sensory quality of button mushrooms in the food industry.

**Keywords:** Edible coating, Mushroom texture, Natural biopolymers, Phenolic content, Shelf life

## مقاله پژوهشی

جلد ۲۱، شماره ۵، آذر- دی ۱۴۰۴، ص. ۵۶۷-۵۴۹

## بررسی ویژگی‌های کیفی و تغییرات آنتی‌اکسیدانی قارچ دکمه‌ای پوشش داده شده با صمغ عربی، نشاسته و اسید آسکوربیک در طول نگهداری سرد

فاطمه آمیغی<sup>۱\*</sup> - فاطمه حیدری دلفاراد<sup>۱</sup> - عارفه صادقی<sup>۱</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۷/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۱۸

### چکیده

هدف این پژوهش، بررسی اثر پوشش‌های خوراکی طبیعی بر پایه صمغ عربی، نشاسته ذرت و ترکیب آن‌ها با اسید آسکوربیک بر ویژگی‌های کیفی قارچ دکمه‌ای در طی نگهداری سرد ( $1 \pm 4$  درجه سلسیوس) به مدت ۱۴ روز بود. قارچ‌های تازه پس از شستشو با آب مقطر، به مدت سه دقیقه در محلول‌های پوششی مختلف غوطه‌ور شدند. تیمارهای مورد بررسی شامل شاهد، اسید آسکوربیک (۵٪)، نشاسته ذرت، صمغ عربی، نشاسته به همراه اسید آسکوربیک و صمغ عربی به همراه اسید آسکوربیک بودند. پارامترهای ارزیابی شده شامل افت وزن، سفتی بافت، شاخص‌های رنگ و قهوه‌ای شدن، مواد جامد محلول، محتوای فنولی کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ارزیابی حسی بودند. کمترین کاهش وزن ( $0.16/47\%$ ) در نمونه‌های تیمار شده با پوشش صمغ عربی حاوی اسید آسکوربیک (GAAS) مشاهده شد، در حالی که نمونه شاهد بیشترین افت وزن ( $0.33/06\%$ ) را داشت. بیشترین سفتی بافت ( $17/43$  نیوتن) در همان تیمار مشاهده گردید. نمونه GAAS همچنین پایین‌ترین شاخص قهوه‌ای شدن ( $25/70$ ) و بیشترین شاخص روشنایی را حفظ کرد. این تیمار بالاترین مقدار محتوای فنولی ( $0.52 \text{ mg GAE/gfw}$ ) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ( $0.36/57 \text{ mg}$ ) را نیز نشان داد. نتایج ارزیابی حسی نشان داد که استفاده از پوشش‌های خوراکی ترکیبی بر پایه صمغ عربی و اسید آسکوربیک موجب حفظ بهتر ویژگی‌های حسی قارچ دکمه‌ای شامل رنگ، طعم، بافت و پذیرش کلی طی دوره نگهداری ۱۴ روزه در دمای سرد شد. تیمارهای پوشش‌دهی شده کاهش کمتری در کیفیت حسی نسبت به نمونه‌های شاهد داشتند و این امر منجر به افزایش رضایت مصرف‌کننده و حفظ تازگی محصول گردید. به‌طور کلی، نتایج حاکی از آن است که استفاده از پوشش‌های خوراکی ترکیبی، به‌ویژه صمغ عربی همراه با اسید آسکوربیک، نسبت به سایر تیمارها اثربخشی بیشتری در حفظ تازگی و کنترل قهوه‌ای شدن از خود نشان دادند.

**واژه‌های کلیدی:** بافت قارچ، بیوپلیمرهای طبیعی، پوشش خوراکی، ماندگاری، محتوای فنولی

### مقدمه

قارچ‌های تازه و فرآوری شده از زمان‌های قدیم به دلیل خواص حسی، ارزش تغذیه‌ای و دارویی مورد توجه انسان بوده‌اند. قارچ دکمه‌ای<sup>۲</sup> به دلیل طعم مطلوب و ارزش غذایی بالا، پرمصرف‌ترین نوع قارچ خوراکی در جهان محسوب می‌شود. این قارچ‌ها هر چند ارزش کالری اندکی دارد، اما منبع غنی از پروتئین باکیفیت بالا، اسیدهای آمینه ضروری، فیبر غذایی، ویتامین‌ها، مواد معدنی و ترکیبات فنولی است که در ارتقای سلامت انسان نقش مؤثری دارند (Pleșoianu & Nour, )

(2022). با وجود این مزایا، قارچ دکمه‌ای به علت بافت نرم، فعالیت آبی بالا و نبود پوشش محافظ طبیعی، بسیار آسیب‌پذیر بوده و دارای طول عمر ماندگاری کوتاهی در شرایط انبارداری است (Vaziri, Kordi, Shokrabi zadeh, & Shamloo, 2019). پوشش‌های خوراکی به عنوان لایه‌های نازک، خوراکی و زیست‌تخریب‌پذیر، جایگزین مناسب برای پوشش‌های مومی محسوب می‌شوند و با ایجاد مانعی در برابر  $O_2$ ، رطوبت و مواد محلول، می‌توانند از افت کیفیت محصولات تازه جلوگیری کنند (Dhall, 2013). این پوشش‌ها بر اساس ترکیب سازنده

۱- گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران  
(\*) نویسنده مسئول: (Email: [Fatemeh.Amighi@ujiroft.ac.ir](mailto:Fatemeh.Amighi@ujiroft.ac.ir))

فیزیکوشیمیایی میوه‌ها به تأخیر انداخته و از قهوه‌ای شدن و فساد میکروبی آن‌ها بکاهند (El-Gioushy *et al.*, 2022; Huang *et al.*, 2021a).

به‌طور مشابه، نشاسته به‌عنوان بیوپلیمری زیست‌تخریب‌پذیر و کم‌هزینه، با ایجاد لایه‌ای نیمه‌تراوا، در کنترل تبخیر رطوبت و کاهش افت وزن محصولات تازه مؤثر است (Oyom, Zhang, Bi, & Tahergorabi, 2022). افزون بر این، اسید آسکوربیک یا ویتامین C با مهار عملکرد آنزیم‌های اکسیداتیو مانند پلی‌فنول اکسیداز، از قهوه‌ای شدن آنزیمی جلوگیری کرده و کیفیت ظاهری و ارزش تغذیه‌ای محصولات تازه را حفظ می‌کند (Najjari & Bodaghi, 2024). ترکیب این مواد می‌تواند اثرات هم‌افزایی ایجاد کند، به گونه‌ای که صمغ عربی و نشاسته نقش ساختاری و بازدارندگی فیزیکی ایفا کرده و اسید آسکوربیک از طریق خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود، از تخریب اکسیداتیو جلوگیری نماید (Wu, Zhang, & Fan, 2024).

توجه به نفوذپذیری افزودنی‌ها در محلول پوشش و سازگاری آن‌ها با مواد پوشش هنگام انتخاب مواد افزودنی مناسب برای فرمولاسیون پوشش‌های خوراکی ضروری است. سمیت یکی دیگر از عوامل ضروری برای اطمینان از ایمن بودن افزودنی برای مصرف است. علاوه بر این، تجزیه و تحلیل دقیق غلظت افزودنی مورد استفاده در یک پوشش در طول فرآیند فرمولاسیون بسیار مهم است (Huang, Wan, Zhang, Chen, & Chen, 2021b).

در سال‌های اخیر، مطالعات متعددی اثر انواع پوشش‌های خوراکی را بر حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری قارچ دکمه‌ای بررسی کرده‌اند؛ باین‌حال، اکثر این پژوهش‌ها بر استفاده از یک نوع بیوپلیمر متمرکز بوده و به اثرات ترکیبی چند ماده طبیعی به‌صورت هم‌زمان کمتر پرداخته‌اند (Vaziri *et al.*, 2019). از این‌رو، نوآوری پژوهش حاضر در به‌کارگیری پوشش‌های خوراکی ترکیبی بر پایه صمغ عربی و نشاسته در حضور اسید آسکوربیک به‌عنوان عامل ضدقهوه‌ای بر ویژگی‌های کیفی قارچ دکمه‌ای طی ۱۴ روز نگهداری در دمای  $4 \pm 1$  درجه سلسیوس است. در این راستا، شاخص قهوه‌ای شدن، افت وزن، میزان مواد جامد محلول، محتوای ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ارزیابی حسی مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند.

## مواد و روش‌ها

### مواد

ماتول، معرف فولین-سیوکالتیو، اسید گالیک، ۲،۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH)، کربنات سدیم و مابقی مواد شیمیایی

در سه گروه هیدروکلوئیدی (پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها)، لیپیدی و کامپوزیتی طبقه‌بندی می‌شوند. هیدروکلوئیدها پلیمرهای آب‌دوستی هستند که از منابع میکروبی، حیوانی یا گیاهی به‌دست می‌آیند و به‌دلیل شفافیت و طعم خنثی، کاربرد فراوانی در صنایع غذایی دارند. ترکیبات کامپوزیتی نیز از ترکیب فازهای لیپیدی و هیدروکلوئیدی برای بهره‌مندی از مزایای هر دو گروه ساخته می‌شوند (Kalita *et al.*, 2025; Tiamiyu, Adebayo, & Yusuf, 2023).

در سال‌های اخیر، استفاده از پوشش‌های خوراکی مبتنی بر بیوپلیمرهای طبیعی مانند صمغ عربی، نشاسته و مواد آنتی‌اکسیدانی نظیر اسید آسکوربیک، به‌دلیل ایمنی مصرف، زیست‌تخریب‌پذیری و توانایی حفظ ویژگی‌های حسی و فیزیکی محصولات مورد توجه قرار گرفته‌اند (Siahroodi, Ariayi, & Fattahi, 2016). این پوشش‌ها با ایجاد مانع برای انتقال آب و اکسیژن و تثبیت مواد مغذی، نقش مؤثری در کاهش افت کیفیت قارچ ایفا می‌کنند. مطالعات متعدد بر کاربرد این پوشش‌ها تأکید دارند؛ برای نمونه، پوشش کربوکسی‌متیل سلولز و متابی‌سولفیت سدیم موجب کاهش افت وزن، حفظ رنگ، افزایش ماده خشک و کنترل رشد میکروبی در انبارداری شده است (Rad, Ghafouri, & Gholami, 2020). همچنین اثربخشی پوشش‌های کیتوزان با درجات مختلف استیل‌زدایی، به شکل کاهش افت وزن، افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و حفظ بافت اثبات شده است (Ghorbanzadeh, Mohammad Zadeh, & Motamed Zadeh, 2025).

در پژوهش‌های اخیر، استفاده از ترکیبات نانویی مانند نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت، راهکاری نوین و مؤثر برای حفظ ویژگی‌های زیستی و بهبود خصوصیات حسی قارچ طی نگهداری شناخته شده است. یافته‌های مطالعه‌ی اخیر نشان داده است که قارچ‌های پوشیده‌شده با ۱٪ نانوکیتوزان و ۴۰ میلی‌گرم نانوهیدروکسی آپاتیت، کمترین افت وزنی، بیشترین محتوای زیست‌فعال، کاهش پوسیدگی و بالاترین امتیاز حسی را تا ۲۸ روز انبارداری داشته‌اند (Huang, Wan, Zhang, Chen, & Chen, 2021a; Ziaei Ghahnooyeh, Raji, Ehteshamnia, & Sohrabi, 2025).

در کنار این ترکیبات، صمغ عربی (GA) و نشاسته به‌دلیل دسترسی آسان، قیمت پایین و عملکرد مناسب، گزینه‌هایی مطلوب برای تهیه پوشش‌های خوراکی به‌شمار می‌روند. صمغ عربی بیوپلیمری طبیعی است که از درخت اقاچیا استخراج می‌شود و ترکیبی از قندهای رامنوز، گالاتوز، آرابینوز و اسید گلوکورونیک همراه با یون‌های معدنی است. این بیوپلیمر به‌دلیل خاصیت فیلم‌سازی، پایداری امولسیون و ایمنی بالا، در صنایع غذایی کاربرد گسترده‌ای دارد. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که پوشش‌های حاوی GA می‌توانند تغییرات

قارچ‌های انتخاب شده پس از شستشو و خشک شدن، و به صورت تصادفی به شش گروه تقسیم شدند و سپس در محلول‌های تیماری غوطه‌ور گردیدند. نمونه‌های شاهد فقط در آب مقطر غوطه‌ور شدند، درحالی‌که بقیه بعد از شستشو و خشک شدن در محلول‌های پوششی آماده شده غوطه‌ور شدند. برای این منظور به صورت زیر عمل شد. محلول ضد قهوه‌ای شدن با غلظت ۵ درصد با استفاده از اسید آسکوربیک در دمای محیط تهیه شد. یک سری از قارچ‌ها ابتدا در محلول ضد قهوه‌ای به مدت سه دقیقه غوطه‌ور شدند تا واکنش‌های قهوه‌ای شدن سطحی مهار گردد. سپس با آب مقطر شسته شده تا اسید اضافی پاک شود، پس از آن قارچ‌ها را روی کاغذ جاذب قرار گرفتند تا رطوبت اضافی را جذب گردد. در مرحله بعد، قارچ‌های تیمار شده با اسید با یکی از محلول‌های پوششی صمغ عربی و نشاسته پوشش داده شدند (جدول ۱). پوشش‌دهی با روش غوطه‌وری برای سه دقیقه انجام شد. همچنین، گروهی از قارچ صرفاً با محلول‌های پوششی صمغ عربی و نشاسته بدون مرحله ضد قهوه‌ای شدن پوشش‌دهی شدند. قارچ‌های پوشش‌دار شده روی یک سبد به مدت ۵ دقیقه قرار داده شدند تا محلول پوشش باقیمانده چکه کند و پوشش تثبیت شود. در نهایت، قارچ‌ها در ظروف پلاستیکی یک‌بار مصرف پلی‌اتیلنی به میزان ۶ تا ۱۰ قارچ در هر بسته قرار گرفتند و از روی هم قرار گرفتن قارچ‌ها، اجتناب شد. همه نمونه‌ها تا زمان انجام آزمون‌های مختلف در دمای ۴ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۹۰-۸۵ درصد به مدت ۱۴ روز نگهداری گردیدند.

از شرکت مرک<sup>۱</sup> آلمان خریداری شد. قارچ دکمه‌ای سفید از یک سوپرمارکت محلی (با اطمینان از کنترل دقیق فرآیند برداشت و اطلاعات مربوط به زمان برداشت تا تحویل نمونه‌ها) خریداری شد و سعی شده در کوتاه‌ترین زمان ممکن انتقال انجام شود. همچنین نمونه‌ها بلافاصله پس از دریافت در آزمایشگاه تحت شرایط بهینه نگهداری شدند. قارچ‌هایی با اندازه مشابه، با کلاهک کاملاً بسته، بدون علائم قهوه‌ای شدن و آسیب مکانیکی برای آزمایش‌ها انتخاب شدند. نمونه‌ها در مدت ۱ ساعت به آزمایشگاه منتقل و در دمای ۴ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۸۵ درصد تا زمان استفاده در آزمایش نگهداری شدند.

### آماده‌سازی پوشش‌ها

برای پوشش‌دهی با نشاسته از محلول نشاسته با غلظت ۲۰ g/L استفاده شد. محلول آماده شده تا زمان شفاف شدن روی همزن مغناطیسی مجهز به گرم‌کن در دمای ۴۰ درجه سلسیوس همزنی شد. سپس تا دمای محیط سرد شد (Cruz-Monterrosa et al., 2023). برای پوشش‌دهی با صمغ عربی از محلول با غلظت 100 g/L استفاده شد. محلول آماده شده تا زمان شفاف شدن روی همزن مغناطیسی مجهز به گرم‌کن در دمای ۴۰ درجه سلسیوس همزنی شد. سپس تا دمای محیط سرد شد.

### تیمارها

جدول ۱- فرمولاسیون تیمارها و کدهای مربوطه

Table 1- Treatment formulations and respective codes

تیمارها	ترکیبات
Treatments	Components
C	Distilled water (Control)
GA	Gum Arabic
GAAS	Gum Arabic + Ascorbic acid
AS	Ascorbic acid
CS	Corn starch
CSAS	Corn starch + Ascorbic acid

افت وزن، رنگ، شاخص قهوه‌ای شدن، کل مواد جامد محلول، محتوای فنولی کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH، ارزیابی حسی و بافت در روزهای ۱، ۴، ۷، ۱۱ و ۱۴ در طول نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفت. تمام آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند.

### افت وزن

افت وزن قارچ‌ها با استفاده از تراز دیجیتال دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. قارچ‌ها پس از پوشش‌دهی، بسته‌بندی (زمان صفر، وزن اولیه) و سپس در روزهای ۱، ۴، ۷، ۱۱ و ۱۴ نگهداری توزین شدند. افت وزن به عنوان درصد کاهش وزن اولیه قارچ گزارش شد و با استفاده

از رابطه (۱) محاسبه شد (Mohebbi, Ansarifar, Hasanpour, & Amiryousefi, 2012):

$$(1) \quad \text{درصد افت وزن} = \frac{(\text{وزن روز خاص} - \text{وزن اولیه})}{\text{وزن اولیه}} \times 100$$

**بافت**

کربنات سدیم (۲۰ درصد وزنی) اضافه شد و مخلوط با آب مقطر به ۱۰ میلی‌متر رسید، نمونه‌ها تکان داده شدند و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی در دمای ۴۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند، سپس جذب با استفاده از اسپکتروفوتومتر Halo Xb-10UV Vis (شرکت Dynamica، انگلیس) در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد، محتوای فنولی کل به صورت میلی‌گرم معادل اسید گالیک (GAE<sup>۳</sup>) در هر ۱۰۰ گرم وزن تازه بیان شد، برای هر نمونه سه تکرار انجام شد (Pleșoianu & Nour, 2022).

**فعالیت آنتی‌اکسیدانی**

اثر مهار رادیکال‌های آزاد عصاره‌های قارچ بر رادیکال ۲،۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH<sup>۴</sup>) طبق روش توصیف شده توسط داوولیورا و همکاران اندازه‌گیری شد (Mainardes, & Khalil, 2018). ابتدا ۳ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH با غلظت ۰/۰۰۴٪ به ۵۰ میکرولیتر عصاره قارچ اضافه شد، پس از تکان دادن و انکوباسیون در تاریکی به مدت ۳۰ دقیقه، جذب مخلوط واکنش در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر Halo Xb-10UV Vis (شرکت Dynamica، انگلیس) در برابر متانول خالی بدون معرف DPPH قرائت شد، مهار رادیکال DPPH توسط عصاره نمونه بر اساس رابطه (۴) محاسبه شد (Pleșoianu & Nour, 2022).

$$DPPH = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد}}{\text{جذب شاهد}} \times 100 \quad (۴)$$

**ارزیابی حسی**

برای اندازه‌گیری ویژگی‌های حسی نمونه‌های دارای پوشش، از آزمون هدونیک پنج‌مرحله‌ای بهره گرفته شد. این ارزیابی براساس معیارهایی شامل پذیرش رنگ، بافت و پذیرش کلی انجام شد. در این تحقیق، تعداد ده نفر ارزیاب نیمه‌حرفه‌ای که مصرف‌کنندگان معمولی بودند، شرکت کردند. نمونه‌ها به صورت تصادفی کدگذاری شده و در ظروف استاندارد بسته‌بندی قارچ عرضه شدند. هر ارزیاب فرم ارزیابی شامل جدول امتیازدهی را به همراه نمونه‌ها دریافت کرد و بر اساس معیارهای تعیین شده، به هر ویژگی امتیازی بین ۱ (کمترین سطح پذیرش) تا ۵ (بالاترین سطح پذیرش) اختصاص داده شد. کلیه نمونه‌ها تحت شرایط کنترل شده نور، دما و زمان در اختیار داوران قرار گرفتند. همچنین به ارزیابان توصیه شد که بین آزمون‌ها برای بهبود حس چشایی و بویایی خود، از آب معدنی استفاده کنند تا تأثیر ارزیابی نمونه قبلی بر نمونه بعدی خنثی شود. محیط آزمایش نیز به دقت از نظر نور

آزمایش نفوذ بر روی کلاهدک قارچ با استفاده از تحلیلگر بافت CT3 (بروکفیلد، ایالات متحده)، با استفاده از پروب استوانه‌ای با قطر ۵ میلی‌متر نمونه‌ها در عمق ۵ میلی‌متری نفوذ کردند، سرعت پروب در طول پیش‌آزمون و نفوذ ۲ میلی‌متر بر ثانیه بود، از منحنی نیرو در مقابل زمان، سفتی به‌عنوان حداکثر نیرو تعریف شد.

**شاخص رنگ و قهوه‌ای شدن (BI<sup>۱</sup>)**

رنگ سطح کلاهدک قارچ در روزهای ۱، ۴، ۷، ۱۱ و ۱۴ نگهداری با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج (METER COLOR A-135TES، تایوان) اندازه‌گیری شد. رنگ به صورت مقادیر بازتاب L\* (روشنی)، a\* (قرمزی) و b\* (زردی) سیستم رنگی CIEL\*a\*b\* بیان شد، تجزیه و تحلیل بر روی سه نمونه به‌طور تصادفی انتخاب شده از هر تیمار با سه قرائت بر روی هر نمونه انجام شد. شاخص قهوه‌ای شدن به‌عنوان شاخص شدت رنگ قهوه‌ای استفاده شد و با استفاده از رابطه (۲) محاسبه شد.

$$BI = 100 \frac{(X - 0.31)}{0.17} \quad (۲)$$

که در آن X از رابطه (۳) به دست می‌آید.

$$X = \frac{(a + 1.75 L)}{5.645 L + a - 3.012 b} \quad (۳)$$

**مواد جامد محلول کل (TSS<sup>۲</sup>)**

قارچ‌ها رنده شده و با فشار دست فشرده می‌شوند، محتوای مواد جامد محلول کل در آب‌میوه با استفاده از رفاکتومتر دیجیتال (Hanna Instruments, Woonsocket, RI, USA) تعیین شد و نتایج برحسب درصد بیان شد.

**محتوای فنولی کل**

نمونه‌های قارچ (۱/۵ گرم) در ۱۰ میلی‌لیتر متانول همگن شدند، سپس استخراج به مدت ۶۰ دقیقه در دمای محیط انجام شد، پس از استخراج، نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند، مواد روایی جمع‌آوری و تا زمان آزمون در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند، محتوای فنولی کل در عصاره قارچ طبق روش فولین-سیوکالتیو همان‌طور که توسط سینگلتون و همکاران (Singleton & Rossi, 1965) توضیح داده شد اندازه‌گیری شد. مقدار کمی از عصاره (۰/۱ میلی‌متر) با ۵ میلی‌متر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌متر از معرف فولین-سیوکالتیو مخلوط شد، پس از ۳ دقیقه، ۱/۵ میلی‌متر

3- Galic Acid Equivalent

4- 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

1- Browning Index

2- Total Solouble Solid

و دما تنظیم گردید تا عوامل محیطی در قضاوت داوران اختلال ایجاد نکند (Vaziri et al., 2019).

## تجزیه و تحلیل آماری

طراحی آزمایش‌ها پژوهش حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار صورت پذیرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، از تحلیل واریانس (ANOVA) استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها با روش آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام گرفت. کلیه محاسبات با بهره‌گیری از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۷ صورت پذیرفت.

## نتایج و بحث

### افت وزن

نتایج آنالیز واریانس در جدول ۲ نشان داد که افت وزن قارچ دکمه‌ای طی ۱۴ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس در تیمارهای مختلف به‌طور معنی‌داری متفاوت بود ( $p < 0.05$ ). با توجه به شکل ۱ در پایان دوره نگهداری، بیشترین افت وزن مربوط به نمونه شاهد با ۳۳/۰۶ درصد و کمترین آن مربوط به تیمار پوشش‌دهی شده با صمغ عربی همراه با اسید آسکوربیک (GAAS) با ۱۶/۴۷ درصد بود. پوشش‌های خوراکی به‌طور قابل ملاحظه‌ای باعث کاهش افت وزن در قارچ‌ها نسبت به شاهد شدند که این اثر به‌دلیل تشکیل لایه محافظ و خاصیت هیگروسکوپیک پوشش‌ها است که مانع از تبخیر سریع آب می‌شود (Daisy, Nduko, Joseph, & Richard, 2020). همچنین ترکیب پوشش‌ها با اسید آسکوربیک به خاطر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، پیری قارچ را به تأخیر می‌اندازد. تیمارهای GA, GAAS و CSAS به‌طور مشخصی در کنترل میزان کاهش وزن مؤثرتر از سایر تیمارها بودند. این تفاوت‌ها به‌دلیل ماهیت پلیمر پایه و تأثیر اسید آسکوربیک بر فشردگی و شبکه برهم‌کنش‌های بین‌مولکولی

فیلم است که منجر به کاهش معنی‌دار افت رطوبت می‌شود. یافته‌ها با نتایج مطالعات پیشین (Labib, Dey, & Hasan, 2025; Martins, Pintado, Morais, & Morais, 2024) هم‌راستا است.

کاهش وزن بیشتر به ساختار اپیدرمی نازک محافظت نشده قارچ نسبت داده می‌شود که منجر به کم‌آبی سریع از سطح می‌شود. کاهش کمتر وزن قارچ‌های پوشش داده شده احتمالاً به‌دلیل ویژگی‌های پوشش به‌عنوان یک مانع نیمه‌تراوا در برابر انتقال  $O_2$ ،  $CO_2$ ، رطوبت و یون‌ها است. این به نوبه خود باعث کاهش سرعت تنفس، از دست دادن آب و سرعت واکنش اکسیداسیون می‌شود.

کاهش وزن تأثیر مهمی بر کیفیت و تازگی قارچ دارد، چرا که افت وزن بیش از ۶-۴٪ معمولاً با بروز علائم ظاهری مانند پژمردگی یا چروکیدگی همراه است (Mohebbi et al., 2012). در تحقیق حاضر نیز کاهش وزن قارچ دکمه‌ای طی ۱۴ روز نگهداری در دمای  $4 \pm 1$  درجه سلسیوس مشاهده شد که این کاهش در نمونه‌های پوشش داده شده به‌طور معنی‌داری کمتر از نمونه شاهد بود. این امر نشان‌دهنده کارآمدی پوشش‌های خوراکی در به تعویق انداختن فرآیند پیری و کاهش تبخیر رطوبت است.

پوشش‌های خوراکی استفاده شده در مطالعه، علاوه بر مهار انتقال رطوبت، با ایجاد لایه‌ای محافظ، نقش هیگروسکوپیک داشته و از انتشار آب به محیط جلوگیری کردند که منجر به حفظ بهتر وزن و کیفیت محصول گردید. همچنین، ترکیب پوشش‌ها با اسید آسکوربیک به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی، به کند شدن واکنش‌های اکسیداتیو و در نتیجه تأخیر در پیری قارچ کمک شایانی نمود (Cavusoglu et al., 2021; Sogvar, Koushesh Saba, & Emamifar, 2016). بنابراین نتایج مطالعه حاضر به وضوح اهمیت استفاده از پوشش‌های خوراکی حاوی آنتی‌اکسیدان‌ها برای حفظ تازگی و کیفیت قارچ‌ها را تأیید می‌کند و موید نقش مؤثر این پوشش‌ها در کاهش وزن و افزایش طول عمر نگهداری محصول می‌باشد.

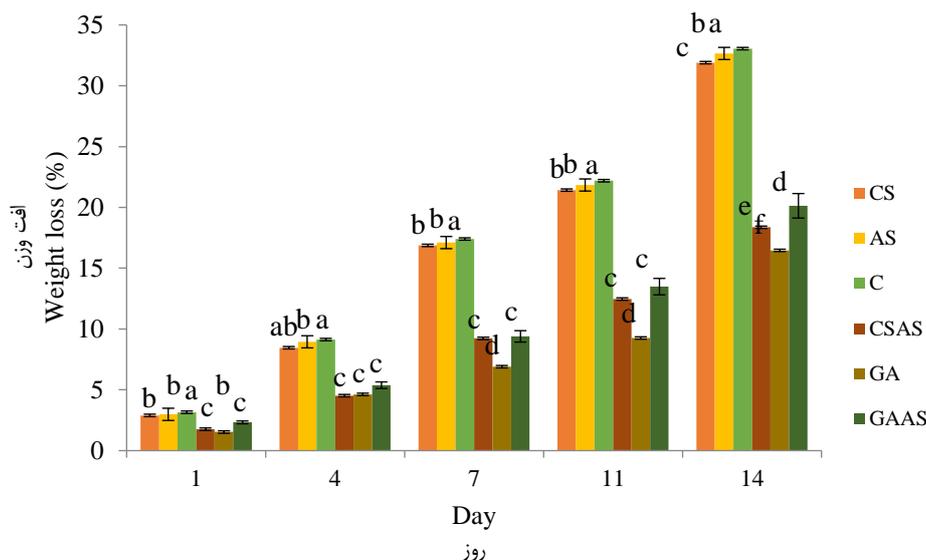
جدول ۲- نتایج آزمون تحلیل واریانس (ANOVA) برای آزمون افت رطوبت نمونه‌های پوشش‌دهی شده

Table 2- Results of the analysis of variance (ANOVA) test for the moisture loss test of coated sample

		مجموع مربعات Sum of squares	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square	آماره F F	سطح معنی‌داری Sig.
CS	Between groups بین گروه‌ها	1533.589	4	383.397	1763.936	.000
	Within groups درون گروه‌ها	2.174	10	.217		
	Total کل	1535.763	14			
CSAS	Between groups بین گروه‌ها	1651.066	4	412.767	5009.303	.000
	Within groups درون گروه‌ها	.824	10	.082		
	Total کل	1651.890	14			
C	Between groups بین گروه‌ها	2004.138	4	501.035	680.575	.000
	Within groups درون گروه‌ها	7.362	10	.736		
	Total کل	2011.500	14			
GA	Between groups بین گروه‌ها	515.552	4	128.888	285.297	.000
	Within groups درون گروه‌ها	4.518	10	.452		
	Total کل	520.069	14			
GAAS	Between groups بین گروه‌ها	586.036	4	146.509	564.727	.000
	Within groups درون گروه‌ها	2.594	10	.259		
	Total کل	588.631	14			
AS	Between groups بین گروه‌ها	382.230	4	95.557	595.621	.000
	Within groups درون گروه‌ها	1.604	10	.160		
	Total کل	383.834	14			

Control: بدون پوشش؛ CS: پوشش نشاسته به تنهایی؛ GA: پوشش صمغ عربی به تنهایی؛ AS: پوشش اسید آسکوربیک به تنهایی؛ GAAS: پوشش صمغ عربی همراه با اسید آسکوربیک؛ CAAS: پوشش نشاسته همراه با اسید آسکوربیک.

Control: without coating; CS: starch coating alone; GA: gum arabic coating alone; AS: ascorbic acid coating alone; GAAS: gum arabic combined with ascorbic acid; CAAS: starch combined with ascorbic acid.



شکل ۱- اثر تیمارها بر افت وزن (%) قارچ دکمه‌ای طی ۱۴ روز نگهداری در دمای ۱ ± ۴ درجه سلسیوس

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

Control: بدون پوشش؛ CS: پوشش نشاسته به تنهایی؛ GA: پوشش صمغ عربی به تنهایی؛ AS: پوشش اسید آسکوربیک به تنهایی؛ GAAS: پوشش صمغ عربی همراه با اسید آسکوربیک؛ CAAS: پوشش نشاسته همراه با اسید آسکوربیک.

Fig. 1. Effects of treatments on the weight loss (%) of button mushrooms during storage for 14 days at 4 ± 1 °C

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

Control: without coating; CS: starch coating alone; GA: gum arabic coating alone; AS: ascorbic acid coating alone; GAAS: gum arabic combined with ascorbic acid; CAAS: starch combined with ascorbic acid.

پوشش‌دهی شده با CS و CSAS در تمام دوره ذخیره‌سازی میزان سفتی مشابهی داشتند و اختلاف معنی‌داری در بافت این نمونه‌ها مشاهده نشد. اما در بین نمونه‌های پوشش‌دهی شده با AS، GA و GAAS از روز چهارم تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). میزان سفتی پس از ۱۴ روز انبارداری در دمای ۴ درجه سلسیوس در نمونه شاهد، AS، CS، GA، CSAS و GAAS به ترتیب ۱۳/۴۵، ۱۵/۴۳، ۱۶/۳۴ و ۱۷/۴۳ نیوتن بود که اختلاف آن‌ها معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بود. وجود پوشش دسترسی آنزیم‌ها به اکسیژن را تحت تأثیر قرار می‌دهد که ممکن است فعالیت آنزیم‌ها را محدود کرده و اجازه حفظ سفتی در طول ذخیره‌سازی را بدهد. با توجه به شکل ۲ تفاوت در میزان سفتی قارچ‌ها از روز چهارم شروع شده است. نمونه‌های GAAS بیشترین میزان سفتی و نمونه‌های شاهد کمترین میزان سفتی را در بین تیمارها داشتند. نمونه‌های پوشش داده شده با GA، GAAS و CAAS نسبت به مابقی تیمارها میزان سفتی بیشتری را در دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس نشان دادند. قارچ‌های پوشش داده شده با GA، CAAS و GAAS از نظر بافت تفاوت قابل توجهی با یکدیگر دارند که در بین این سه تیمار تیمارهای پوشش‌دهی شده با صمغ عربی به همراه اسید آسکوربیک بافت سفت‌تری داشتند.

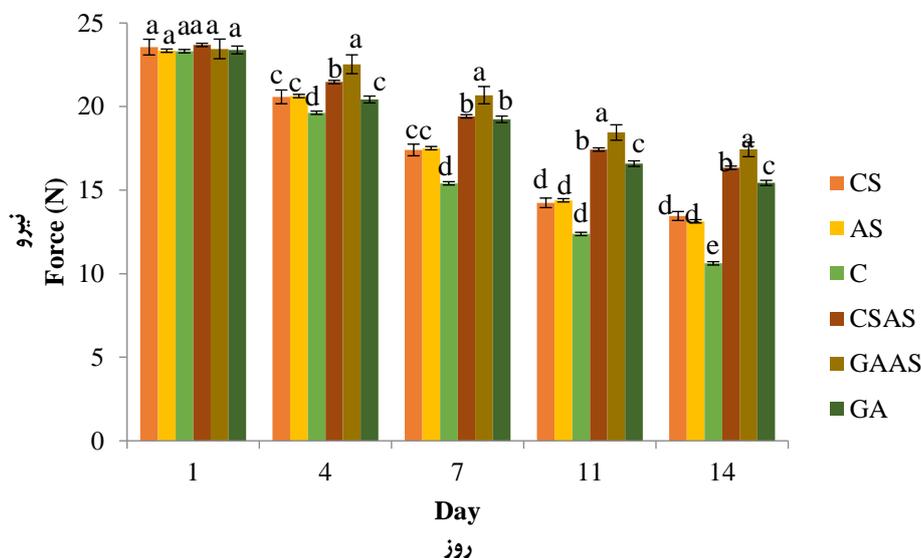
در پژوهشی که محبی و همکاران (Mohebbi et al., 2012) انجام دادند به ترتیب ۳۰٪، ۳۲٪ و ۳۵٪ کاهش وزن در دمای ۴ درجه سلسیوس پس از ۱۳ روز نگهداری در صمغ کتیرا، صمغ آلوه‌ورا و پوشش آلوه‌ورا و همچنین ۴۷٪ کاهش وزن در قارچ شاهد گزارش کردند، در مطالعه‌ای دیگر میانگین کاهش وزن ۴۴/۱۳، ۴۴/۵۹ و ۳۳/۱۲ درصد در قارچ‌های بدون پوشش، صمغ عربی و کربوکسی متیل سلولز پس از ۱۰ روز نگهداری در دمای ۷ درجه سلسیوس گزارش شده است (Sedaghat & Zahedi, 2012).

#### بافت

در طی دوران نگهداری نمونه شاهد و نمونه‌های پوشش داده شده کاهش سفتی در تمام نمونه‌ها مشاهده شد. تغییرات بافتی قارچ شاهد و نمونه‌های تیمار شده طی ۱۴ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس در شکل ۲ نشان داده شده است. در طی دوره نگهداری، نمونه‌های پوشش‌دهی شده کمترین میزان کاهش سفتی را نسبت به نمونه شاهد نشان دادند که این امر بیانگر نقش محافظتی پوشش‌ها در حفظ یکپارچگی و کیفیت مکانیکی بافت قارچ است. با توجه به شکل ۲ تفاوت معنی‌داری در بافت نمونه شاهد و نمونه‌های پوشش‌دهی شده در روز اول مشاهده نشد. از روز چهارم تفاوت قابل توجهی بین نمونه‌ها و نمونه‌های پوشش‌دهی شده مشاهده شد. نمونه‌های

مکانیکی بافت قارچ است. در مجموع، تیمار GAAS مؤثرترین عملکرد را در حفظ بافت و کاهش افت سفتی نشان داد. مطالعات نشان داده است که پوشش‌های شامل صمغ عربی غنی شده با آنتی‌اکسیدان مانند اسید آسکوربیک می‌توانند به‌طور معنی‌داری استحکام بافت و مقاومت مکانیکی میوه‌های تازه را در طول نگهداری حفظ کنند (Golmohammadi *et al.*, 2024). این یافته مشابه نتایج به‌دست آمده است که ترکیب GAAS بهترین پوشش برای حفظ بافت است. همچنین پژوهش‌های منتشر شده در سال‌های اخیر تأکید دارند که افزودن مواد عملکردی مانند آنتی‌اکسیدان‌ها (اسید اسکوربیک) به پوشش‌های زیستی به تثبیت ساختار پروتئینی و سلولی میوه کمک می‌کند و موجب حفظ بهتر مقاومت مکانیکی و بافت می‌شود (Cavusoglu *et al.*, 2021; Yahyaee, Bahman, & Blaabjerg, ) 2020.

در روز نخست، سفتی یا نیروی بافتی تمام نمونه‌ها در محدوده ۲۳ تا ۲۴ نیوتن بود که نشان‌دهنده تازگی و استحکام بالای بافت قارچ‌هاست. با گذشت زمان، میزان این نیرو در تمامی تیمارها کاهش یافت که بیانگر نرم شدن بافت و افت کیفیت بافتی است. در بین تیمارها، پوشش‌های حاوی صمغ عربی و اسید آسکوربیک (GAAS) و همچنین نشاسته همراه با اسید آسکوربیک (CSAS)، در اغلب روزها نیروی بالاتری نسبت به سایر تیمارها نشان دادند؛ این امر بیانگر نقش مؤثر این پوشش‌ها در حفظ استحکام و یکپارچگی بافت قارچ در طول دوره نگهداری است. در مقابل، نمونه‌های شاهد و تیمارهای حاوی تنها اسید آسکوربیک، بیشترین کاهش نیرو را تجربه کردند. تفاوت معنی‌دار میان تیمارها از روز چهارم به بعد مشاهده شد (بر اساس حروف متفاوت در جدول)، که نمایانگر تفاوت عملکرد پوشش‌ها در حفظ کیفیت



شکل ۲- اثر تیمارها بر بر سفتی (N) قارچ دکمه‌ای طی ۱۴ روز نگهداری در دمای  $4 \pm 1$  درجه سلسیوس

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

Control: بدون پوشش؛ CS: پوشش نشاسته به تنهایی؛ GA: پوشش صمغ عربی به تنهایی؛ AS: پوشش اسید آسکوربیک به تنهایی؛ GAAS: پوشش صمغ عربی همراه با اسید آسکوربیک؛ CAAS: پوشش نشاسته همراه با اسید آسکوربیک.

Fig. 2. Effects of treatments on the firmness (N) of button mushrooms during storage for 14 days at  $4 \pm 1$  °C

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

Control: without coating; CS: starch coating alone; GA: gum arabic coating alone; AS: ascorbic acid coating alone; GAAS: gum arabic combined with ascorbic acid; CAAS: starch combined with ascorbic acid.

قهوه‌ای شدن بود. این واکنش‌های قهوه‌ای شدن به آسیب‌های مکانیکی در حین نقل‌وانتقال و فرآوری، خراش، شستشو، پیری و فساد میکروبی مربوط می‌شود. مقدار  $L^*$  نمونه GAAS تقریباً در همه روزها بیشترین بود. در روز ۱۴ نمونه‌های GACS و CAAS با روشنایی ۸۸/۸۴ و ۸۷/۵۹ کمترین تغییرات رنگ را داشتند. ما در این

## رنگ

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده در جدول ۳، مقدار روشنایی ( $L^*$ ) در تمام نمونه‌ها باگذشت زمان کاهش یافت. این کاهش در نمونه‌های پوشش‌دار به‌طور معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) کمتر از نمونه شاهد بود که به دلیل عدم پوشش‌دهی نمونه‌ها در برابر اکسیژن هوا و انجام واکنش‌های

### مواد جامد محلول

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده (شکل ۳) میزان مواد جامد محلول در نمونه‌های پوشش‌دار و شاهد باگذشت زمان افزایش یافته است. میزان مواد جامد محلول در نمونه شاهد از روز ۷ به بعد به‌طور معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) بیش‌تر از نمونه‌های پوشش‌دار بود و از روز ۱۱ با شدت بیشتری افزایش یافت، در حالی‌که در نمونه‌های پوشش‌دار این افزایش با شدت کمتری بود. بین پوشش‌ها نیز در پایان دوره نگهداری اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ( $p > 0.05$ ) و به‌طور کلی کمترین تغییرات میزان مواد جامد محلول در طول ۱۴ روز در تیمار CS و بیشترین تغییرات در نمونه شاهد مشاهده شد.

افزایش میزان مواد جامد محلول در طی فرایند رسیدن میوه‌ها عمدتاً ناشی از تجزیه کربوهیدرات‌های پلیمری به قندهای ساده و ترکیبات محلول در آب است. در نتیجه، با کاهش محتوای آب بافت، غلظت این ترکیبات در واحد حجم افزایش یافته و مقدار بریکس نیز بیشتر می‌شود. به بیان دیگر، در دوره نگهداری، هر چه میزان از دست‌دهی آب توسط میوه کمتر باشد، افزایش بریکس نیز به همان نسبت محدودتر خواهد بود. اعمال پوشش‌های خوراکی با ایجاد مانعی فیزیکی بر سطح میوه، موجب کاهش شدت افزایش مواد جامد محلول می‌شود؛ این پدیده عمدتاً به‌دلیل کاهش نرخ تنفس و محدودسازی فعالیت‌های متابولیکی در بافت میوه است. بنابراین، استفاده از پوشش‌ها با ایجاد یک غشای نیمه‌تراوا در اطراف سطح قارچ، از تبخیر رطوبت و افت آب جلوگیری کرده و در نتیجه سبب کاهش سرعت افزایش بریکس و به تعویق افتادن فرآیند پیری می‌گردد.

### فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH و محتوای فنولی کل

مطابق با نتایج شکل ۴، فعالیت آنتی‌اکسیدانی قارچ دکمه‌ای در تمام تیمارها طی دوره نگهداری روندی کاهشی نشان داد. در روز نخست اختلاف معنی‌داری میان تیمارها مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در همه نمونه‌ها حدود ۶۵ تا ۶۸ درصد بود. با این حال، از روز چهارم به بعد تفاوت‌ها آشکارتر شد. در تیمار شاهد (C)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاهش شدیدی داشت و در روز چهاردهم به کمترین مقدار (حدود ۲۲٪) رسید. در مقابل، تیمارهای ترکیبی به‌ویژه GAAS و CSAS توانستند به‌طور معناداری از افت فعالیت آنتی‌اکسیدانی جلوگیری کردند و در پایان دوره بیشترین مقادیر (به ترتیب حدود ۳۶٪ و ۳۵٪) را حفظ نمودند. تیمارهای منفرد مانند GA، CS و AS نیز نسبت به شاهد عملکرد مطلوبی داشتند، اما کارایی آن‌ها کمتر از تیمارهای ترکیبی بود.

پژوهش به کمک پوشش ترکیب صمغ عربی و اسید آسکوربیک تغییرات رنگ قارچ را کاهش دادیم. همچنین بر اساس گزارش‌ها، پوشش کربوکسی‌متیل سلولز حاوی اسید آسکوربیک باعث کنترل تغییرات رنگ تکه‌های سیب نیز گردید (Koushesh Saba, Darvishi, Zarei, & Sogvar, 2025).

اندیس قهوه‌ای شدن ( $BI^1$ ) به تدریج در طول ذخیره‌سازی در هر دو نمونه شاهد و نمونه‌های تیمار شده با پوشش خوراکی افزایش یافت (جدول ۲). در پایان دوره ذخیره‌سازی ۱۴ روزه، کمترین مقادیر BI برای نمونه‌های پوشش داده‌شده با صمغ عربی همراه با اسید آسکوربیک (۲۵/۷۰) و پوشش داده‌شده با نشاسته همراه با اسید آسکوربیک (۲۶/۷۳) مشاهده شد. کند شدن فرآیند قهوه‌ای شدن با اعمال برخی از پوشش‌های سطحی را می‌توان با کاهش فعالیت‌های قهوه‌ای شدن آنزیمی در نتیجه اختلال در جذب اکسیژن توضیح داد. با این وجود، در بین نمونه‌های پوشش‌دهی شده بالاترین مقادیر BI برای نمونه‌های شاهد، پوشش‌دهی شده با نشاسته به تنهایی و پوشش‌دهی شده با اسید آسکوربیک به تنهایی پس از ۷ و ۱۴ روز نگهداری یافت شد.

نتایج نشان داد افزودن اسید آسکوربیک که مهارکننده قوی اکسیداسیون است، در کنار پوشش‌های فیزیکی مثل صمغ عربی، بهترین تأثیر را در کاهش این شاخص دارد. تیمار بدون پوشش بیشترین افزایش در شاخص قهوه‌ای شدن را در طول زمان نگهداری نشان می‌دهد. این نتایج بیانگر اهمیت پوشش‌دهی ترکیبی با مواد آنتی‌اکسیدانی و محافظ فیزیکی برای بهبود ماندگاری و کیفیت ظاهری قارچ دکمه‌ای است. شاخص قهوه‌ای شدن نشان‌دهنده میزان تیرگی و تغییر رنگ غیر مطلوب قارچ است که ناشی از اکسیداسیون و فعالیت آنزیم پلی‌فنیل اکسیداز می‌باشد. افزودن اسید آسکوربیک که مهارکننده قوی اکسیداسیون است، در کنار پوشش‌های فیزیکی مثل صمغ عربی، بهترین تأثیر را در کاهش این شاخص دارد. تیمار بدون پوشش بیشترین افزایش در شاخص قهوه‌ای شدن را در طول زمان نگهداری نشان می‌دهد. این نتایج اهمیت پوشش‌دهی ترکیبی با مواد آنتی‌اکسیدانی و محافظ فیزیکی را برای بهبود ماندگاری و کیفیت ظاهری قارچ دکمه‌ای توصیه می‌کند (Almasi, Poor Fathi, & Mokhtari, 2020; Cheraghi, Ghanbari, & Seidi, 2022). استفاده از اسید آسکوربیک در پوشش‌دهی باعث کاهش قهوه‌ای شدن و حفظ رنگ طبیعی سفید قارچ دکمه‌ای می‌شود. پوشش با صمغ عربی همراه با اسید آسکوربیک یا نشاسته همراه با اسید آسکوربیک، میزان تغییر رنگ را کاهش داده و شاخص رنگ مطلوب‌تری نسبت به پوشش‌های فاقد اسید آسکوربیک ارائه می‌دهند (Cavusoglu et al., 2021).

جدول ۳- اثر درمان‌ها بر مقدار L\* و شاخص قهوه‌ای شدن (BI) نمونه‌ها طی ۱۴ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس

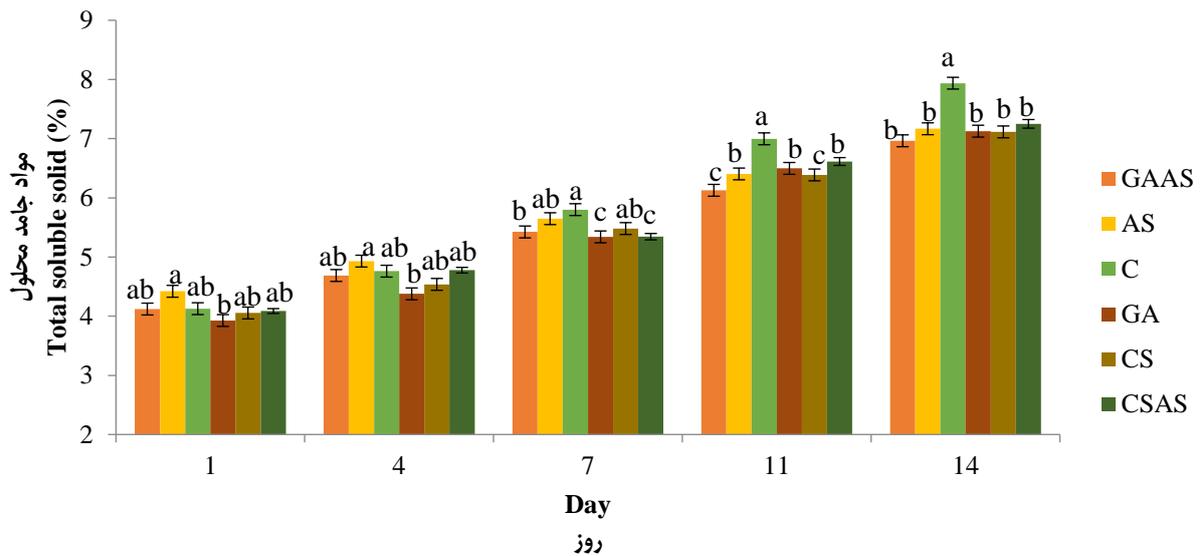
Day	GA	AS	C	CSAS	GAAS	CS
<b>L*</b>						
1	93.43 ± 0.15 <sup>Aa</sup>	93.39 ± 0.33 <sup>Aa</sup>	92.49 ± 0.45 <sup>Abc</sup>	92.83 ± 0.37 <sup>Abc</sup>	93.04 ± 0.18 <sup>Aab</sup>	92.43 ± 0.15 <sup>Ac</sup>
4	92.41 ± 0.96 <sup>Ba</sup>	91.41 ± 0.49 <sup>Ba</sup>	91.58 ± 0.32 <sup>Aa</sup>	92.34 ± 0.30 <sup>Aa</sup>	92.25 ± 1.07 <sup>Ba</sup>	91.34 ± 0.30 <sup>Ba</sup>
7	89.44 ± 0.44 <sup>Cbc</sup>	89.98 ± 0.94 <sup>Cb</sup>	87.35 ± 0.38 <sup>Bd</sup>	89.77 ± 0.43 <sup>Bb</sup>	91.31 ± 0.30 <sup>Ba</sup>	88.77 ± 0.43 <sup>Cb</sup>
11	87.11 ± 0.20 <sup>Dbc</sup>	89.07 ± 0.45 <sup>Ca</sup>	86.46 ± 0.32 <sup>Cc</sup>	89.07 ± 0.12 <sup>Ca</sup>	89.65 ± 0.40 <sup>Ca</sup>	87.74 ± 0.63 <sup>Db</sup>
14	86.49 ± 0.23 <sup>Ec</sup>	87.50 ± 0.32 <sup>Db</sup>	85.35 ± 0.09 <sup>Dd</sup>	87.59 ± 0.17 <sup>Db</sup>	88.84 ± 0.63 <sup>Ca</sup>	86.59 ± 0.17 <sup>Ec</sup>
<b>BI</b>						
1	14.98 ± 0.01 <sup>Ed</sup>	16.98 ± 0.01 <sup>Ec</sup>	16.42 ± 0.11 <sup>Ec</sup>	14.98 ± 0.01 <sup>Ec</sup>	14.97 ± 0.01 <sup>Ea</sup>	16.64 ± 0.08 <sup>Eb</sup>
4	17.94 ± 0.02 <sup>Dc</sup>	21.23 ± 0.06 <sup>Da</sup>	19.80 ± 0.22 <sup>Db</sup>	16.67 ± 0.05 <sup>Dd</sup>	16.67 ± 0.04 <sup>Dd</sup>	19.72 ± 0.05 <sup>Db</sup>
7	20.48 ± 0.11 <sup>Cd</sup>	26.90 ± 0.18 <sup>Cb</sup>	27.94 ± 0.05 <sup>Ca</sup>	21.62 ± 0.21 <sup>Cc</sup>	21.87 ± 0.49 <sup>Cc</sup>	27.83 ± 0.15 <sup>Ca</sup>
11	24.18 ± 0.53 <sup>Bd</sup>	32.37 ± 0.68 <sup>Bc</sup>	41.67 ± 0.51 <sup>Ba</sup>	23.09 ± 0.85 <sup>Be</sup>	23.38 ± 0.35 <sup>Bde</sup>	35.43 ± 0.38 <sup>Bb</sup>
14	32.13 ± 0.53 <sup>Ac</sup>	42.62 ± 0.40 <sup>Ab</sup>	52.37 ± 0.32 <sup>Ada</sup>	26.73 ± 0.41 <sup>Ad</sup>	25.70 ± 0.30 <sup>Ad</sup>	42.52 ± 0.36 <sup>Ac</sup>

\* حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌ها می‌باشد (آزمون دانکن،  $p < 0.05$ ).

Control: بدون پوشش؛ CS: پوشش نشاسته به تنهایی؛ GA: پوشش صمغ عربی به تنهایی؛ AS: پوشش اسید آسکوربیک به تنهایی؛ GAAS: پوشش صمغ عربی همراه با اسید آسکوربیک؛ CAAS: پوشش نشاسته همراه با اسید آسکوربیک.

\*Different letters the indicator Significant difference It is between samples (Duncan's test,  $p < 0.05$ ).

Control: without coating; CS: starch coating alone; GA: gum arabic coating alone; AS: ascorbic acid coating alone; GAAS: gum arabic combined with ascorbic acid; CAAS: starch combined with ascorbic acid.



شکل ۳- اثر تیمارها بر مواد جامد محلول (% قارچ دکمه‌ای طی ۱۴ روز نگهداری در دمای ۴ ± ۱ درجه سلسیوس

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

Control: بدون پوشش؛ CS: پوشش نشاسته به تنهایی؛ GA: پوشش صمغ عربی به تنهایی؛ AS: پوشش اسید آسکوربیک به تنهایی؛ GAAS: پوشش صمغ عربی همراه با اسید آسکوربیک؛ CAAS: پوشش نشاسته همراه با اسید آسکوربیک.

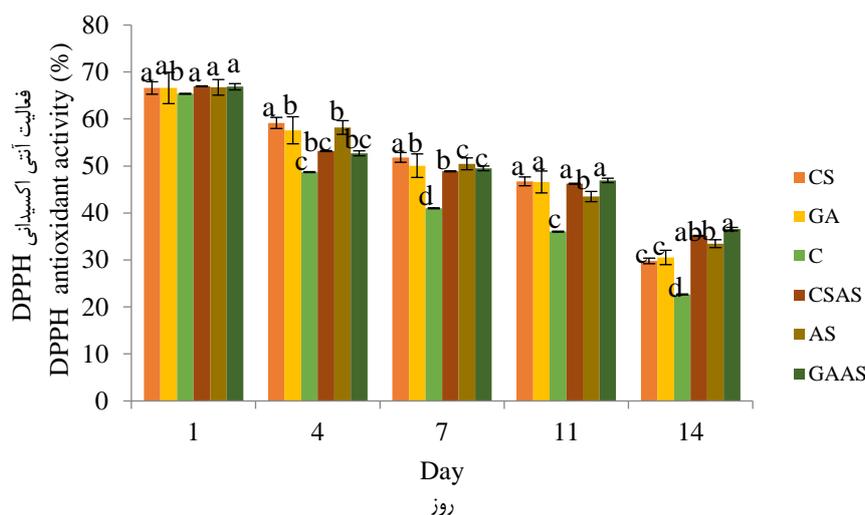
Fig. 3. Effects of treatments on the total soluble solid (%) of button mushrooms during storage for 14 days at 4 ± 1 °C

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

Control: without coating; CS: starch coating alone; GA: gum arabic coating alone; AS: ascorbic acid coating alone; GAAS: gum arabic combined with ascorbic acid; CAAS: starch combined with ascorbic acid.

سطح بالاتری حفظ کنند. وجود اسید آسکوربیک در پوشش‌ها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی قارچ‌ها را به‌طور قابل توجهی افزایش می‌دهد، به‌ویژه در ترکیب با صمغ عربی که خود دارای خواص آنتی‌اکسیدانی است؛ بنابراین قارچ‌های پوشش یافته با صمغ عربی همراه با اسید آسکوربیک بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نسبت به پوشش‌های تک جزئی دارند (Borges et al., 2023).

به‌طور کلی، نتایج نشان می‌دهد که تیمارهای پوششی و به‌ویژه تیمارهای ترکیبی نقش مهمی در حفظ ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و کاهش شدت تخریب رادیکال‌های آزاد در طی انبارداری قارچ دکمه‌ای دارند. این یافته‌ها همسو با مطالعات پیشین است که گزارش کرده‌اند پوشش‌های آنتی‌اکسیدانی با کاهش سرعت اکسیداسیون و محافظت از ترکیبات فنلی، می‌توانند فعالیت آنتی‌اکسیدانی را طی دوره نگهداری در



شکل ۴- اثر تیمارها بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH (%) قارچ دکمه‌ای طی ۱۴ روز نگهداری در دمای  $4 \pm 1$  درجه سلسیوس

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

Control: بدون پوشش؛ CS: پوشش نشاسته به تنهایی؛ GA: پوشش صمغ عربی به تنهایی؛ AS: پوشش اسید آسکوربیک به تنهایی؛ GAAS: پوشش صمغ عربی همراه با اسید آسکوربیک؛ CAAS: پوشش نشاسته همراه با اسید آسکوربیک.

Fig. 4. Effects of treatments on the DPPH antioxidant activity (%) of button mushrooms during storage for 14 days at  $4 \pm 1$  °C

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

Control: without coating; CS: starch coating alone; GA: gum Arabic coating alone; AS: Ascorbic acid coating alone; GAAS: gum Arabic combined with ascorbic acid; CAAS: starch combined with ascorbic acid.

تخریب ترکیبات فنلی است. تیمارهای منفرد GA و AS نیز نسبت به شاهد عملکرد بهتری داشتند، اما اثربخشی آن‌ها کمتر از تیمارهای ترکیبی بود.

به‌طور کلی، نتایج نشان می‌دهد که کاربرد تیمارهای ترکیبی به‌ویژه GAAS نقش مؤثری در حفظ ترکیبات فنلی قارچ دکمه‌ای طی انبارداری ایفا می‌کند. این یافته‌ها با گزارش‌های پیشین درباره نقش آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی و توانایی تیمارهای پوششی یا آنتی‌اکسیدانی در کاهش اکسیداسیون فنولیک همخوانی دارد. نصیری و همکاران (Nasiri, Barzegar, Sahari, & Niakousari, 2018) در بررسی خود در قارچ‌های پوشش داده شده با صمغ تراگاکانت بیان کردند میان محتوای فنولی کل بالا با میزان قهوه‌ای شدن کمتر همبستگی

بر اساس نتایج ارائه‌شده در شکل ۵، محتوای کل فنولیک قارچ دکمه‌ای در تمام تیمارها طی دوره نگهداری روندی کاهشی نشان داد، هرچند میزان کاهش در تیمارها متفاوت بود. در روز نخست تفاوت معنی‌داری میان تیمارها مشاهده نشد ( $p > 0.05$ )، اما از روز چهارم به بعد تغییرات بارزتر شدند. در تیمار شاهد (C) کاهش شدیدی در محتوای فنولیک ثبت گردید، به‌طوری‌که در روز چهاردهم کمترین مقدار (حدود  $0.32 \text{ mg GAE/gfw}$ ) مشاهده شد.

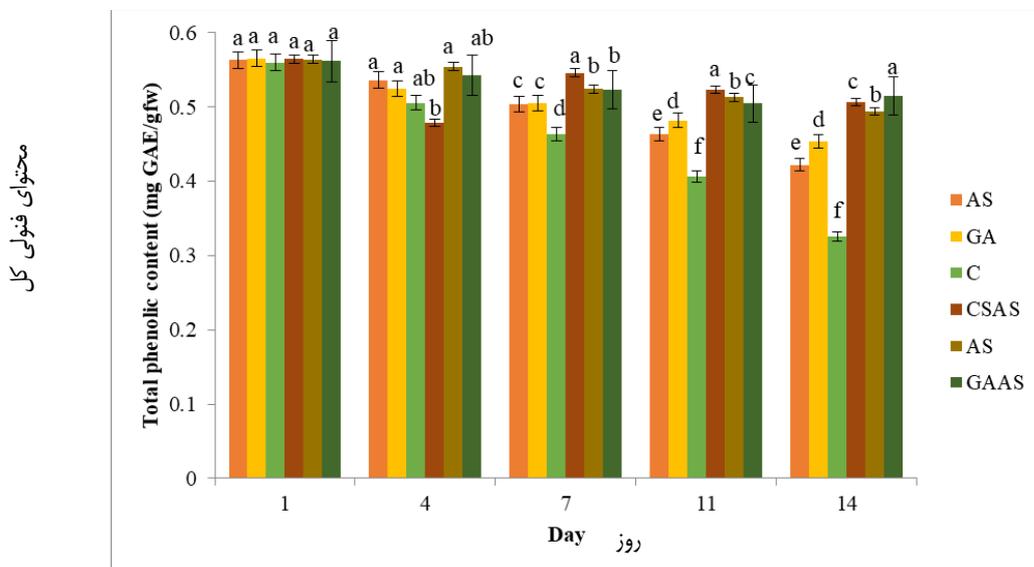
در مقابل، تیمارهای ترکیبی به‌ویژه GAAS و CSAS توانستند تا حد قابل توجهی از افت محتوای فنولیک جلوگیری کنند و در روز چهاردهم بالاترین مقادیر فنولیک را حفظ نمودند (به ترتیب حدود  $0.52 \text{ mg GAE/gfw}$  و  $0.51 \text{ mg GAE/gfw}$ ) این موضوع نشان‌دهنده اثر هم‌افزایی این ترکیبات در به تعویق انداختن فرایندهای اکسیداسیونی و کاهش سرعت

آن‌ها تفاوت معنی‌داری از نظر محتوای فنولی کل وجود داشت، افزودن اسید آسکوربیک به فرمول پوشش، محتوای فنولی کل نمونه‌های پوشش داده‌شده را افزایش داد، اما این افزایش تنها در نمونه‌های پوشش داده‌شده از روز ۱۱ به بعد معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ).

محتوای فنولی در قارچ‌های پوشش داده شده با صمغ عربی همراه با اسید آسکوربیک به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی اسید آسکوربیک افزایش یافته و نسبت به قارچ‌های پوشش داده شده فقط با نشاسته یا صمغ عربی بالاتر است. این فنول‌ها در حفظ کیفیت قارچ و کند کردن اکسیداسیون مؤثرند (Michalska, Sierocka, Drzewiecka, & Świeca, 2025).

خوبی وجود دارد که به نظر می‌رسد عامل محدودکننده فرآیند تغییر رنگ باشد.

پس از ذخیره‌سازی ۷ روز به بعد، تمامی نمونه‌های پوشش داده‌شده به‌طور معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) محتوای فنولی کل بیشتری را نسبت به شاهد نشان دادند، این را می‌توان به واکنش دفاعی قارچ در برابر استرس خارجی ناشی از پوشش نسبت داد که منجر به افزایش محتوای کل فنول و در نتیجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود (Dhall, 2013). محتوای فنولی کل در نمونه‌های پوشش داده‌شده با GAAS به‌طور معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) بیشتر از سایر نمونه‌های پوشش داده‌شده بود، بعد از آن نمونه‌های پوشش داده‌شده با CAAS قرار گرفتند و پس از آن نمونه‌های پوشش داده‌شده با GA و CAAS قرار گرفتند که بین



شکل ۵- اثر تیمارها بر محتوای فنولی کل (mg GAE/gfw) قارچ دکمه‌ای طی ۱۴ روز نگهداری در دمای  $4 \pm 1$  درجه سلسیوس حروف متفاوت در هر روز نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است ( $p < 0.05$ ).

Control: بدون پوشش؛ CS: پوشش نشاسته به تنهایی؛ GA: پوشش صمغ عربی به تنهایی؛ AS: پوشش اسید آسکوربیک به تنهایی؛ GAAS: پوشش صمغ عربی همراه با اسید آسکوربیک؛ CAAS: پوشش نشاسته همراه با اسید آسکوربیک.

Fig. 5. Effects of treatments on the total phenolic content (mg GAE/gfw) of button mushrooms during storage for 14 days at  $4 \pm 1$  °C. Different letters in each day indicate significant difference between the data ( $p < 0.05$ ).

Control: without coating; CS: starch coating alone; GA: gum Arabic coating alone; AS: ascorbic acid coating alone; GAAS: gum Arabic combined with ascorbic acid; CAAS: starch combined with ascorbic acid.

کنترل (C) و CS شدیدتر بود، در حالی که تیمارهای حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به‌ویژه GAAS و AS توانستند رنگ خود را بهتر حفظ کنند. این پدیده احتمالاً به نقش آنتی‌اکسیدان‌ها در مهار واکنش‌های اکسیداسیونی و قهوه‌ای‌شدن غیرآنزیمی مربوط است (Pasban, Mohebbi, Poor Azarang, & Varidi, 2013). در مجموع، استفاده از پوشش‌های مرکب به‌ویژه GAAS سبب افزایش پایداری رنگ و تأخیر در تغییرات ناخواسته ظاهری شد. در آغاز نگهداری، تفاوت معنی‌داری میان امتیاز طعم تیمارها مشاهده نشد و امتیاز طعم در محدوده ۴

### ارزیابی حسی

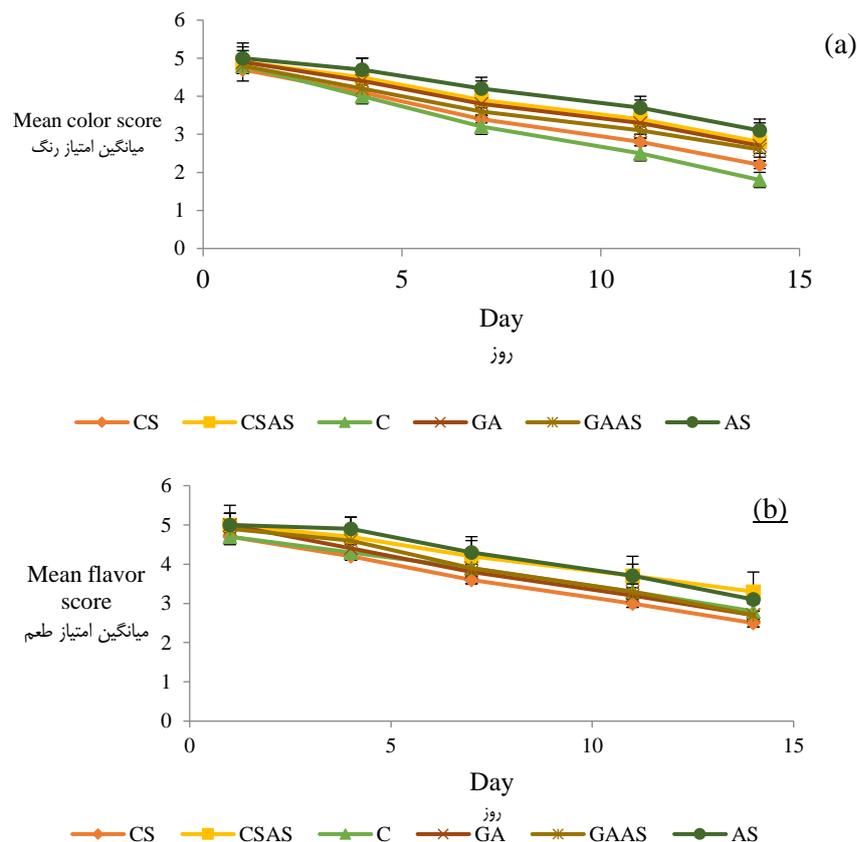
شکل ۶ میانگین امتیازات حسی شامل رنگ (a)، طعم (b)، بافت (c) و پذیرش کلی (d) نمونه‌های مختلف قارچ دکمه‌ای (AS، GA، CS، CSAS، C، GAAS، GA) را در طی ۱۴ روز نگهداری در دمای  $4 \pm 1$  درجه سلسیوس نشان می‌دهد. در روز نخست، تمامی تیمارها از امتیاز رنگ بالایی (حدود ۴/۵ تا ۵) برخوردار بودند که بیانگر کیفیت ظاهری مطلوب اولیه محصول است. با پیشرفت زمان نگهداری، کاهش تدریجی در امتیاز رنگ همه تیمارها مشاهده شد. کاهش در نمونه‌های

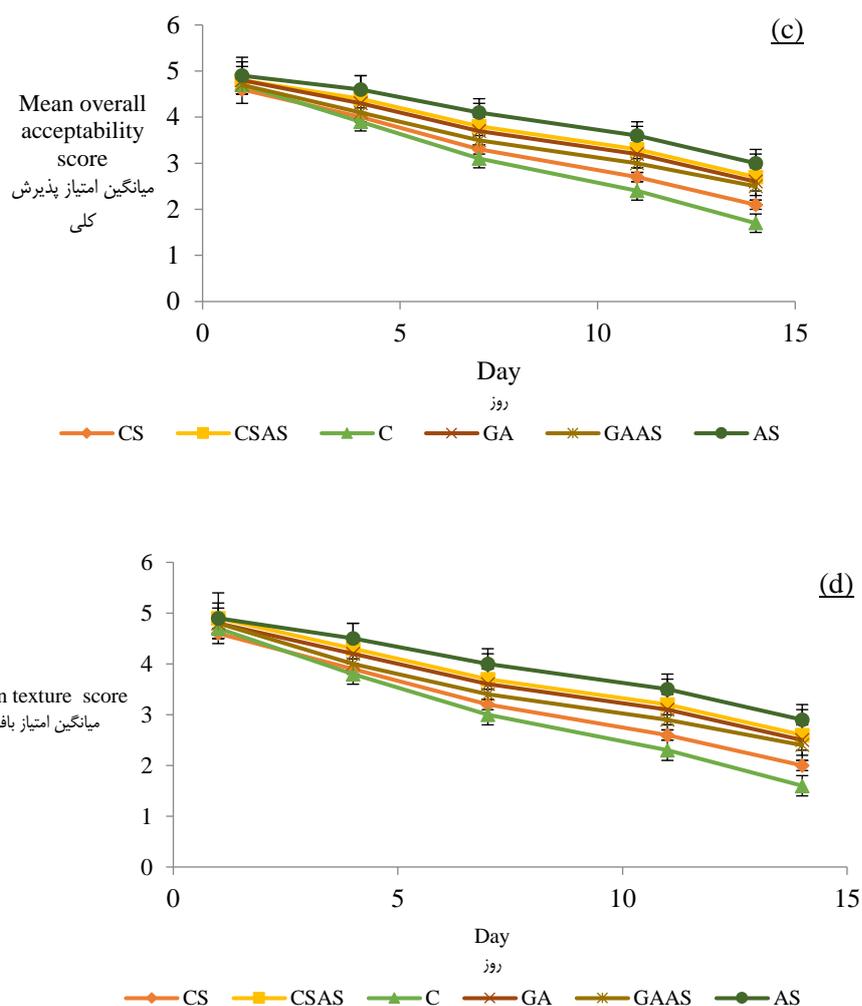
الگوی تغییرات پذیرش کلی مشابه سایر شاخص‌ها بود. همه نمونه‌ها در روز نخست پذیرش بالایی داشتند (حدود ۴/۵ تا ۵)، اما این مقدار با گذشت زمان کاهش یافت. کمترین پذیرش مربوط به تیمارهای کنترل و AS بود، در حالی که تیمار GAAS بالاترین امتیاز پذیرش کلی را در سراسر دوره نگهداری حفظ کرد. این یافته اهمیت استفاده از پوشش‌های ترکیبی صمغ عربی و آنتی‌اکسیدان طبیعی را در حفظ ویژگی‌های ظاهری و حسی قارچ دکمه‌ای تأیید می‌کند (Cavusoglu *et al.*, 2021).

به‌طور کلی، همه ویژگی‌های حسی شامل رنگ، طعم، بافت و پذیرش کلی در طول دوره نگهداری کاهش یافتند، اما شدت کاهش در تیمارهای حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به‌ویژه (GAAS) کمتر بود. نتایج نشان داد افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها و پوشش‌های طبیعی نظیر صمغ عربی توانست به‌طور معنی‌داری کیفیت حسی و ماندگاری قارچ دکمه‌ای را حفظ کند. یافته‌هایی نیز گزارش کرده‌اند که پوشش صمغ عربی در ترکیب با اسید آسکوربیک موجب کاهش قهوه‌ای‌شدن، حفظ طعم تازه و بهبود پذیرش کلی محصول می‌شود (Cavusoglu *et al.*, 2021).

تا ۵ قرار داشت. با گذشت زمان، امتیازات طعم به‌ویژه در نمونه‌های شاهد (C) و CS کاهش یافت. در مقابل، تیمارهای غنی‌شده با آنتی‌اکسیدان‌ها، مانند GAAS و AS، توانستند طعم مطلوب را تا پایان دوره حفظ کنند. مکانیزم احتمالی این پدیده به کاهش واکنش‌های اکسیداسیون و حفظ ترکیبات فرار طعمی در حضور آنتی‌اکسیدان‌ها مرتبط است. با این وجود طعم نمونه‌های تیمار شده اختلاف آماری معنی‌داری با نمونه‌های شاهد ندارد و همواره در محدوده قابل قبول یا مطلوب باقی می‌ماند (Pasban *et al.*, 2013).

نتایج ارزیابی بافت نشان داد که تمامی نمونه‌ها در طول دوره نگهداری کاهش نسبی در امتیاز بافت داشتند، اما تغییرات در تیمارهای پوشش‌دهی شده ملایم‌تر بود. افت قابل توجه بافت در نمونه‌های کنترل احتمالاً ناشی از ازدست‌دادن رطوبت و تخریب ساختار سلولی است. در این میان، پوشش GAAS بیشترین پایداری بافتی را نشان داد که به‌نظر می‌رسد حاصل عملکرد هم‌افزای صمغ عربی در حفظ رطوبت و آنتی‌اکسیدان در کاهش واکنش‌های تخریبی باشد (Golmohammadi *et al.*, 2024; Wagh, Alam, & Aslam, 2023; Pasban *et al.*, 2013).





شکل ۶- اثر تیمارها بر ارزیابی حسی (رنگ (a)، طعم (b)، پذیرش کلی (c)، بافت (d)) قارچ دکمه‌ای طی ۱۴ روز نگهداری در دمای  $4 \pm 1$  درجه سلسیوس

Control: بدون پوشش؛ CS: پوشش نشاسته به تنهایی؛ GA: پوشش صمغ عربی به تنهایی؛ AS: پوشش اسید آسکوربیک به تنهایی؛ GAAS: پوشش صمغ عربی همراه با اسید آسکوربیک؛ CAAS: پوشش نشاسته همراه با اسید آسکوربیک.

**Fig. 6. Effects of treatments on sensory evaluation (color (a), flavor (b), overall acceptability (c), texture (d)) of button mushrooms during storage for 14 days at  $4 \pm 1$  °C**

Control: without coating; CS: starch coating alone; GA: gum arabic coating alone; AS: ascorbic acid coating alone; GAAS: gum arabic combined with ascorbic acid; CAAS: starch combined with ascorbic acid.

## نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش به روشنی نشان داد که استفاده از پوشش‌های خوراکی طبیعی بر پایه صمغ عربی، نشاسته و اسید آسکوربیک تأثیر چشمگیری در حفظ ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و آنتی‌اکسیدانی قارچ دکمه‌ای در طول نگهداری سرد دارد. ترکیب صمغ عربی با اسید آسکوربیک در مقایسه با سایر تیمارها، مؤثرترین عملکرد را در کاهش افت وزن، حفظ سفتی بافت، کاهش شدت قهوه‌ای شدن و حفظ روشنایی رنگ نشان داد. این تیمار همچنین موجب حفظ بالاترین میزان

ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در طول ۱۴ روز نگهداری گردید که بیانگر توانایی آن در مهار واکنش‌های اکسیداتیو و کند کردن روند پیری فیزیولوژیک قارچ است.

۱. به طور کلی، مکانیزم بهبود کیفیت در اثر این پوشش‌ها را می‌توان به عوامل زیر نسبت داد:
۲. ایجاد سد نیمه‌تراوا در برابر تبخیر رطوبت و تبادل گازها که موجب کاهش تنفس و جلوگیری از افت وزن می‌شود.

دوام بیشتر ویژگی‌های بافتی و پذیرش کلی در این نمونه‌ها، گواهی بر عملکرد مثبت این پوشش‌ها در حفظ تازگی و جلب رضایت مصرف‌کننده می‌باشد. بنابراین، طراحی پوشش‌های ترکیبی طبیعی نه تنها یک رویکرد کارآمد برای بهبود ماندگاری و کیفیت حسی قارچ دکمه‌ای است، بلکه می‌تواند به عنوان یک استراتژی کاربردی در صنعت فرآورده‌های غذایی به کار گرفته شود.

### میزان مشارکت نویسندگان

**آمیغی:** تحقیق و بررسی، جمع‌آوری داده‌ها، آنالیز داده‌ها، تأمین مالی، آماده‌سازی پیش‌نویس، ویرایش مقاله؛ **حیدری‌دلفار:** آنالیز داده‌ها، روش‌شناسی؛ **صادقی:** جمع‌آوری داده‌ها.

### منابع تأمین مالی

این کار توسط دانشگاه جیرفت پشتیبانی مالی شد.

### سپاسگزاری

این مقاله مرهون لطف بی‌دریغ دکتر فاطمه شهدادی است که با تأمین یکی از مواد اصلی مورد نیاز پژوهش، سنگ بنای اصلی این کار تجربی را گذاشتند. همچنین از معاونت توسعه و پشتیبانی دانشگاه جیرفت که در تأمین امکانات و بودجه لازم جهت اجرای این پروژه همکاری لازم را داشته‌اند تقدیر و تشکر می‌شود.

۳. خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسید آسکوربیک که از طریق مهار آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز از قهوه‌ای شدن جلوگیری کرده و ثبات رنگ و ترکیبات فنولی را حفظ می‌کند.

۴. اثر هم‌افزایی صمغ عربی و نشاسته در بهبود چسبندگی، یکنواختی و پایداری فیلم پوششی که منجر به عملکرد فیزیکی مؤثرتر در سطح محصول می‌شود.

بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از پوشش‌های خوراکی ترکیبی به‌ویژه فرمولاسیون صمغ عربی به همراه اسید آسکوربیک، روشی ساده، کم‌هزینه، ایمن و سازگار با محیط‌زیست برای افزایش ماندگاری قارچ دکمه‌ای و حفظ کیفیت تغذیه‌ای و حسی آن در طول زنجیره نگهداری و توزیع است. این نتایج نه تنها کاربرد صنعتی قابل توجهی در بسته‌بندی و انبارداری قارچ دارد، بلکه می‌تواند به عنوان الگویی برای توسعه پوشش‌های زیست‌پایه مؤثر در سایر محصولات باغی و کشاورزی تازه نیز مورد استفاده قرار گیرد.

نتایج ارزیابی حسی نشان داد که ویژگی‌های حسی مهمی از جمله رنگ، طعم، بافت و پذیرش کلی قارچ دکمه‌ای در طول دوره ۱۴ روزه نگهداری کاهش یافتند، اما این کاهش در نمونه‌های تیمار شده با پوشش‌های ترکیبی حاوی آنتی‌اکسیدان‌ها، به‌ویژه پوشش GAAS، به‌طور قابل توجهی کمتر بود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که استفاده از پوشش‌هایی مبتنی بر صمغ عربی و افزودنی‌های آنتی‌اکسیدانی، قابلیت موثر محافظت از کیفیت حسی محصولات را دارد و می‌تواند مانع از تغییرات نامطلوب ظاهری و حسی در طی نگهداری شود. افزون بر این،

### References

- Almasi, H., Poor Fathi, B., & Mokhtari, R. (2020). Investigating the effect of antimicrobial nanocomposite packaging based on low-density polyethylene containing titanium dioxide nanoparticles on increasing the shelf life of button mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Iranian Biosystems Engineering*, 51(1), 195–209. <https://doi.org/10.22059/ijbse.2019.287876.665216>
- Borges, M.M., Simões, A.S., Miranda, C., Sales, H., Pontes, R., & Nunes, J. (2023). Microbiological assessment of white button mushrooms with an edible film coating. *Foods*, 12(16), 3061. <https://doi.org/10.3390/foods12163061>
- Cavusoglu, S., Uzun, Y., Yilmaz, N., Ercisli, S., Eren, E., Ekiert, ... & Szopa, A. (2021). Maintaining the quality and storage life of button mushrooms (*Agaricus bisporus*) with gum, agar, sodium alginate, egg white protein, and lecithin coating. *Journal of Fungi (Basel, Switzerland)*, 7(8), 614. <https://doi.org/10.3390/jof7080614>
- Cheraghi, H., Ghanbari, F., & Seidi, M. (2022). The effect of cinnamic acid application on the shelf life and quality of button mushrooms in the post-harvest period. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 18(2), 264–276. <https://doi.org/10.22067/ifstrj.2021.70214.1041>
- Cruz-Monterrosa, R.G., Rayas-Amor, A.A., González-Reza, R.M., Zambrano-Zaragoza, M.L., Aguilar-Toalá, J.E., & Liceaga, A.M. (2023). Application of polysaccharide-based edible coatings on fruits and vegetables: Improvement of food quality and bioactivities. *Polysaccharides*, 4(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides4020008>
- Daisy, L.L., Nduko, J.M., Joseph, W.M., & Richard, S.M. (2020). Effect of edible gum Arabic coating on the shelf life and quality of mangoes (*Mangifera indica*) during storage. *Journal of Food Science and Technology*, 57(1), 79–85. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04032-w>
- de Oliveira, J.K., Ronik, D.F.V., Ascari, J., Mainardes, R.M., & Khalil, N.M. (2018). Nanoencapsulation of apocynin in bovine serum albumin nanoparticles: Physicochemical characterization. *Nanoscience & Nanotechnology-Asia*, 8(1). <https://doi.org/10.2174/2210681206666160822112408>

8. Dhall, R.K. (2013). Advances in edible coatings for fresh fruits and vegetables: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(5), 435–450. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.541568>
9. El-Gioushy, S.F., Abdelkader, M.F.M., Mahmoud, M.H., Ghit, H.M.A.E., Fikry, M., Bahloul, ..., & Gawish, M.S. (2022). The effects of a gum Arabic-based edible coating on Guava fruit characteristics during storage. *Coatings*, 12(1), 90–90. <https://doi.org/10.3390/COATINGS12010090>
10. Ghorbanzadeh, H., Mohammad Zadeh, J., & Motamed Zadegan, A. (2025). The effect of chitosan coating with different degrees of deacetylation on the shelf life of edible button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Iranian Journal of Food Science and Technology Research*, 21(1), 13–27. <https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.85321.1293>
11. Golmohammadi, A., Tahmasebi, M., Razavi, M.S., Neysari-Fam, V., Carullo, D., & Farris, S. (2024). Improved post-harvest preservation effects of mushroom (*Agaricus bisporus*) using bacterial cellulose nanocrystals-gelatin/cinnamon essential oil emulsion coatings. *International Journal of Food Science and Technology*, 59(10), 7528–7540. <https://doi.org/10.1111/ijfs.17518>
12. Huang, Q., Wan, C., Zhang, Y., Chen, C., & Chen, J. (2021a). Gum Arabic edible coating reduces postharvest decay and alleviates nutritional quality deterioration of Ponkan fruit during cold storage. *Frontiers in Nutrition*, 8, 717596. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.717596>
13. Huang, Q., Wan, C., Zhang, Y., Chen, C., & Chen, J. (2021b). Gum Arabic edible coating reduces postharvest decay and alleviates nutritional quality deterioration of Ponkan fruit during cold storage. *Frontiers in Nutrition*, 8, 717596–717596. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.717596>
14. Kalita, P., Kalita, T., Bora, N.S., Roy, P.K., Pachuau, L., & Roy, S. (2025). A review on natural polymer-based film/coating in postharvest mushroom preservation. *Food Control*, 172, 111185. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2025.111185>
15. Koushesh Saba, M., Darvishi, H., Zarei, L., & Sogvar, O.B. (2025). Shelf-life enhancement and microbial load reduction of fresh-cut apple using ascorbic acid and carboxymethyl cellulose coating combined with ultrasound treatment. *Food Science and Technology International*, 31(3), 261–272. <https://doi.org/10.1177/10820132231206415>
16. Labib, L.A., Dey, S., & Hasan, Md.F. (2025). Improving guava shelf life and preserving postharvest quality with edible coatings. *Food Science & Nutrition*, 13(6), e70491. <https://doi.org/10.1002/fsn3.70491>
17. Martins, V.F.R., Pintado, M.E., Morais, R.M.S.C., & Morais, A.M.M.B. (2024). Recent highlights in sustainable bio-based edible films and coatings for fruit and vegetable applications. *Foods*, 13(2), 318. <https://doi.org/10.3390/foods13020318>
18. Michalska, A., Sierocka, M., Drzewiecka, B., & Świeca, M. (2025). Antioxidant and anti-inflammatory properties of mushroom-based food additives and food fortified with them—current status and future perspectives. *Antioxidants*, 14(5), 519. <https://doi.org/10.3390/antiox14050519>
19. Mohebbi, M., Ansarifard, E., Hasanpour, N., & Amiryousefi, M.R. (2012). Suitability of aloe vera and gum tragacanth as edible coatings for extending the shelf life of button mushroom. *Food and Bioprocess Technology*, 5(8), 3193–3202. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0709-1>
20. Najjari, M., & Bodaghi, H. (2024). Inhibitory effect of ascorbic acid in enzymatic browning and preservation of quality in fresh pistachios (*Pistacia vera* L.). *Applied Fruit Science*, 66(2), 609–620. <https://doi.org/10.1007/s10341-024-01052-5>
21. Nasiri, M., Barzegar, M., Sahari, M.A., & Niakousari, M. (2018). Application of tragacanth gum impregnated with *Satureja khuzistanica* essential oil as a natural coating for enhancement of postharvest quality and shelf life of button mushroom (*Agaricus bisporus*). *International Journal of Biological Macromolecules*, 106, 218–226. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.003>
22. Oyom, W., Zhang, Z., Bi, Y., & Tahergorabi, R. (2022). Application of starch-based coatings incorporated with antimicrobial agents for preservation of fruits and vegetables: A review. *Progress in Organic Coatings*, 166, 106800. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2022.106800>
23. Pasban, A., Mohebbi, M., Pourazerang, H., & Varidi, M. (2013). The effect of ascorbic acid, citric acids and sodium metabisulphite on colour and foaming properties of mushroom purees (*Agaricus bisporus*). *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 9(2). <https://doi.org/10.22067/ifstrj.v9i2.25674>
24. Pleşoianu, A.M., & Nour, V. (2022). Effect of some polysaccharide-based edible coatings on fresh white button mushroom (*Agaricus bisporus*) quality during cold storage. *Agriculture*, 12(9), 1491–1491. <https://doi.org/10.3390/AGRICULTURE12091491>
25. Rad, M., Ghafouri, H., & Gholami, Z. (2020). The effect of edible coating containing carboxymethylcellulose and sodium metabisulfite on the shelf life of button mushrooms. *Iranian Journal of Food Science and Technology Research*, 16(5), 581–605. <https://doi.org/10.22067/ifstrj.v16i5.83614>
26. Sedaghat, N., & Zahedi, Y. (2012). Application of edible coating and acidic washing for extending the storage life of mushrooms (*Agaricus bisporus*). 18(6), 523–530. <https://doi.org/10.1177/1082013211433075>

27. Siahroodi, S., Ariayi, P., & Fattahi, E. (2016). *Studying the effect of edible coatings on the shelf life of edible button mushrooms (Agaricus bisporus)*. The First National Conference on Technological Achievements in Iranian Food Science and Industry. <https://doi.org/10.21608/ejchem.2025.379143.11655>
28. Singleton, V.L., & Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
29. Sogvar, O.B., Koushesh Saba, M., & Emamifar, A. (2016). *Aloe vera* and ascorbic acid coatings maintain postharvest quality and reduce microbial load of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 114, 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.11.019>
30. Tiamiyu, Q.O., Adebayo, S.E., & Yusuf, A.A. (2023). Gum Arabic edible coating and its application in preservation of fresh fruits and vegetables: A review. *Food Chemistry Advances*, 2, 100251. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100251>
31. Vaziri, A., Kordi, A.A., Shokrabi zadeh, & Shamloo, S. (2019). Increasing the shelf life of edible button mushrooms (*Agaricus bisporus*) with edible coatings based on natural polymers. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 16(91), 243–256. <https://doi.org/10.21608/ejchem.2025.379143.11655>
32. Wagh, M.D., Alam, M.S., & Aslam, R. (2023). Vacuum impregnation of ascorbic acid and calcium lactate improves quality attributes and functionality of white button mushrooms. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2023(1), 6728630. <https://doi.org/10.1155/2023/6728630>
33. Wu, J., Zhang, L., & Fan, K. (2024). Recent advances in polysaccharide-based edible coatings for preservation of fruits and vegetables: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(12), 3823–3838. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2136136>
34. Yahyae, A., Bahman, A.S., & Blaabjerg, F. (2020). A modification of offset strip fin heatsink with high-performance cooling for IGBT modules. *Applied Sciences*, 10(3), 1112. <https://doi.org/10.3390/app 10031112>
35. Ziaei Ghahnooyeh, Z., Raji, M.R., Ehteshamnia, A., & Sohrabi, S.S. (2025). Studying the effect of natural nanochitosan and nanohydroxyapatite coating on physiological traits and shelf life of button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Iranian Journal of Food Science and Technology Research*, 21(2), 235–251. <https://doi.org/10.22067/ifstrj.2024.90381.1376>



## Assessment of Methods to Control and Reducing the Indicator Pathogenic Bacteria Contamination in Poultry Carcasses during the Slaughter Process

A. Shafiee Dastgerdi<sup>1</sup>, H. Moshtaghi<sup>1\*</sup>, M. Bonyadian<sup>1</sup>

1- Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Vet. Med, Shahrekord University, Shahrekord, Iran  
(\*- Corresponding Author Email: [moshtaghi@sku.ac.ir](mailto:moshtaghi@sku.ac.ir))

Received: 07.07.2025  
Revised: 13.09.2025  
Accepted: 27.09.2025  
Available Online: 16.11.2025

### How to cite this article:

Shafiee Dastgerdi, A., Moshtaghi, H., & Bonyadian, M. (2025). Assessment of methods to control and reducing the indicator pathogenic bacteria contamination in poultry carcasses during the slaughter process. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 21(5), 569-584. (In Persian with English abstract).  
<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2025.92779.1453>

### Introduction

Microbial safety and quality of raw animal products, particularly chicken meat, are among the critical concerns in the food production and distribution chain. Chicken meat holds a significant place in the dietary patterns of many populations due to its high nutritional value, easy accessibility, and affordable price. However, the presence of pathogenic microorganisms like *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. in chicken carcasses is a major cause of foodborne illnesses, affecting millions of people worldwide annually. According to the World Health Organization (WHO), *Campylobacter jejuni* and *Salmonella enterica* are among the leading bacterial agents responsible for human gastroenteritis, with contaminated poultry products being their primary source. Slaughterhouses represent critical control points within the protein supply chain, playing a pivotal role in either the dissemination or mitigation of microbial contamination. Therefore, the adoption of innovative technologies for effective microbial load reduction at early processing stages is essential for enhancing food safety and reducing reliance on chemical preservatives in later distribution stages. In recent years, there has been increased interest in applying non-chemical and non-thermal methods to control microbial contamination. Techniques such as the application of ice powder for thermal shock, ozone as a potent disinfectant and oxidizing agent, lactic acid as a natural organic acid, and pulsed electric fields (PEF) as an emerging non-thermal technology have gained prominence. These approaches effectively reduce pathogenic microbial loads without compromising the physical or sensory qualities of meat products. They are particularly promising in lowering resistant microbial populations and extending the shelf life of meat products. Considering the limitations of conventional thermal or chemical methods in preserving product quality and meeting the growing consumer demand for safer and more naturally processed products, the present study aimed to evaluate and compare the efficacy of four non-chemical methods such as ice powder, ozone, lactic acid, and pulsed electric fields in reducing the total microbial count, *Salmonella*, and *Campylobacter* contamination on chicken carcasses.

### Material and Methods

This experimental study was conducted on 150 samples collected from a total of 450 broiler chicken carcasses at an industrial poultry slaughterhouse in Najafabad County, Esfahan Province, Iran. To assess microbial control methods and improve hygienic conditions in the slaughtering process, treatments included immersion in water containing ice powder at 0 and 10 °C, lactic acid at concentrations of 0.5% and 1%, ozonated water at 1 and 2 ppm, pulsed electric fields applied at 60 volts with frequencies of 100 and 200 MHz, and combinations of these four methods at the specified concentrations. Treatment durations were set at 5 and 10 min for all groups. Following treatment, samples were taken from the carcass surfaces, and total microbial counts, *Salmonella*, and *Campylobacter* populations were enumerated according to Iranian National Standard methods. Data were statistically analyzed using one-way ANOVA and means were compared by Tukey's test at a 95% confidence



Authors retain the copyright. 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/).

<https://doi.org/10.22067/ifstrj.2025.92779.1453>

level.

## Results and Discussion

The results of this study demonstrated that most examined treatments significantly reduced the microbial contamination of chicken carcasses compared to the control ( $P < 0.05$ ). Among the treatments, lactic acid and the combined method particularly at their highest tested levels, exhibited the greatest effectiveness in reducing total microbial counts and *Campylobacter* populations, highlighting the synergistic potential of combined interventions for improved pathogen control. The use of ice powder showed the least effect in reducing the microbial contamination of poultry carcasses. However, as observed, the combined method successfully reduced the total bacterial count, *Campylobacter* and *Salmonella* by 97%, 91% and 95%, respectively, compared to the control. The findings of this study revealed that the examined treatments led to a significant reduction in the total bacterial count and *Campylobacter* at 5 and 10 minutes ( $P < 0.05$ ). However, increasing the treatment duration from 5 to 10 minutes did not result in a further significant reduction of these bacteria ( $P > 0.05$ ). Nevertheless, a 5-minute treatment already reduced more than half of the *Salmonella* population, and extending the treatment time to 10 minutes resulted in an even greater reduction in *Salmonella* ( $P < 0.05$ ). This finding aligns with Carvalho *et al.* (2022), who reported that the antibacterial activity of organic acids against meat pathogens increases up to a saturation point, beyond which extended exposure yields minimal additional efficacy.

## Conclusion

The findings of this study indicate that the application of treatments such as lactic acid, pulsed electric field, ozonated water, and ice powder can significantly reduce the microbial load of poultry carcasses within a short period. These interventions offer promising alternatives to conventional thermal treatments or the use of harsh chemical preservatives. Moreover, the results highlight the critical importance of precise control over parameters such as treatment time, concentration, and intensity, which significantly influence the overall antimicrobial efficacy. In summary, the present study not only confirms the practical applicability of these methods for enhancing the microbial safety of poultry meat but also demonstrates that the strategic combination of physical and chemical technologies with optimized exposure times can effectively control microbial contamination in slaughterhouses and meat processing operations without compromising product quality.

**Keywords:** *Campylobacter*, Lactic acid, Microbial safety, Ozone, *Salmonella*

مقاله کوتاه پژوهشی

جلد ۲۱، شماره ۵، آذر- دی ۱۴۰۴، ص. ۵۸۴-۵۶۹

## بررسی روش‌های کنترل و کاهش آلودگی باکتری‌های بیماری‌زای شاخص در لاشه مرغ در فرآیند کشتار طیور

امیر شفیعی دستگردی<sup>۱</sup> - حمدالله مشتاقی<sup>۱\*</sup> - مجتبی بنیادیان<sup>۱</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۰۵

### چکیده

آلودگی میکروبی لاشه‌های طیور یکی از چالش‌های اساسی در فرآیند کشتار و تولید فرآورده‌های خام دامی به‌شمار می‌رود. در این مطالعه، ۱۵۰ نمونه از ۴۵۰ لاشه مرغ گوشتی پس از کشتار، به‌صورت تصادفی در یک گروه کنترل و چهار گروه تیمار از نظر شمارش کلی باکتری‌ها، و باکتری‌های بیماری‌زای شاخص نظیر کمپیلوباکتر و سالمونلا بررسی شدند. تیمارها شامل استفاده از آب حاوی پودر یخ (در دماهای ۰ و ۱۰ درجه سانتی‌گراد)، اسید لاکتیک (۰/۵ و ۱ درصد)، گاز ازن (۱ و ۲ ppm) و میدان الکتریکی پالسی (۶۰ ولت، ۱۰۰ و ۲۰۰ مگاهرتز)، و اثر ترکیبی تیمارها به‌مدت ۵ و ۱۰ دقیقه بودند. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری ANOVA و T-Test آنالیز شدند. نتایج نشان داد که میانگین شمارش کلی باکتری‌ها، کمپیلوباکتر و درصد آلودگی سالمونلا در گروه کنترل به‌ترتیب  $6/18 \log CFU/g$  و  $2/98 \log CFU/g$  و ۴۲ درصد بود. اعمال تیمار اسید لاکتیک و اثر ترکیبی تیمارها در بالاترین سطوح مورد بررسی به‌طور معنی‌داری ( $P < 0/05$ )، سبب کاهش آلودگی در کلیه شاخص‌های میکروبی شد. افزایش زمان اعمال تیمار از ۵ به ۱۰ دقیقه منجر به بهبود نسبی در کارایی گردید. همچنین، اعمال تیمارها به‌مدت ۵ دقیقه توانست بیش از نیمی از جمعیت سالمونلا را کاهش دهد اما افزایش زمان تیمار به ۱۰ دقیقه، منجر به کاهش بیشتر این باکتری بیماری‌زا شد ( $P < 0/05$ ). با توجه به این یافته‌ها، به‌کارگیری روش‌های ترکیبی نوین می‌تواند به‌عنوان رویکردی مؤثر و قابل اجرا در ارتقای بهداشت میکروبی و افزایش ایمنی محصولات طیور در صنایع کشتارگاهی مدنظر قرار گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** ایمنی میکروبی، اسید لاکتیک، سالمونلا، کمپیلوباکتر، گاز ازن

### مقدمه

تغییر الگوهای تغذیه‌ای در دهه‌های اخیر به‌ویژه در جوامع شهری، منجر به افزایش چشمگیر مصرف گوشت سفید به‌ویژه گوشت مرغ شده است. گوشت طیور، به‌ویژه گوشت مرغ، به‌عنوان یکی از منابع اصلی تأمین پروتئین حیوانی در بسیاری از جوامع شناخته می‌شود. ویژگی‌هایی نظیر محتوای پایین‌تر چربی و کلسترول در مقایسه با گوشت قرمز، هضم‌پذیری بالا، ارزش تغذیه‌ای مناسب و طعم مطلوب، مصرف این محصول را در سبد غذایی خانوارها افزایش داده است. از سوی دیگر، به علت سرعت بالای رشد طیور، ضریب تبدیل غذایی مطلوب، و دوره

پرورش کوتاه، این صنعت از نظر اقتصادی نیز برای تولیدکنندگان مقرون به صرفه است (Djeflal, Mamache, Elgroud, Hireche, & Bouaziz, 2018). با این حال، گوشت مرغ در زمره مواد غذایی با فسادپذیری بالا طبقه‌بندی می‌شود و یکی از مهم‌ترین چالش‌های پیش‌روی صنایع فرآوری طیور، کنترل و کاهش آلودگی میکروبی در فرآیند تولید است. در میان عوامل بیماری‌زای موجود در لاشه‌های طیور، سالمونلا<sup>۲</sup> و کمپیلوباکتر<sup>۳</sup> به‌عنوان دو عامل اصلی ایجادکننده بیماری‌های ناشی از غذا شناخته شده‌اند که سالیانه میلیون‌ها نفر در سطح جهان را مبتلا کرده و بار اقتصادی و بهداشتی سنگینی بر

۱- گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

\*- نویسنده مسئول: (Email: [moshtaghi@sku.ac.ir](mailto:moshtaghi@sku.ac.ir))

جوامع تحمیل می‌کنند (Song, Wang, & Xu, 2021). سالمونلاها، باکتری‌های گرم منفی، بی‌هوازی اختیاری و متحرک هستند که در صورت ورود به بدن انسان از طریق مصرف غذاهای آلوده، می‌توانند منجر به بروز سالمونلوزیس شده و علائمی مانند تب، اسهال، درد شکمی و در موارد شدید، سپسیس را ایجاد کنند (Boubendir et al., 2021). از سوی دیگر، گونه‌های مختلف کمپیلوباکترینز جزء عوامل اصلی گاستروانتریت حاد باکتریایی محسوب می‌شوند که در اثر مصرف گوشت مرغ نپخته یا تماس با لاشه‌های آلوده منتقل می‌شوند.

در شرایطی که آلودگی اولیه طیور به این باکتری‌ها در سطح مرغداری قابل حذف کامل نیست، کنترل آلودگی در کشتارگاه‌ها به‌عنوان حلقه‌ای حیاتی در زنجیره تولید ایمن مواد غذایی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Dantas et al., 2020). فرآیند کشتار مرغ به‌طور معمول شامل مراحل متعددی است که هر یک می‌تواند به‌عنوان یک نقطه بحرانی در ایجاد آلودگی تلقی شود. منابع آلودگی شامل محتویات دستگاه گوارش، پوست و پر طیور، تجهیزات و ابزارآلات فرآوری، و حتی پرسنل انسانی درگیر در فرآیند کشتار هستند. در بسیاری از موارد، آلودگی متقاطع ناشی از تماس لاشه‌ها با سطوح آلوده یا شست‌وشوی ناقص در حین فرآیند کشتار، عامل اصلی انتقال میکروب‌ها به محصول نهایی است. بنابراین، استفاده از روش‌های مؤثر برای کاهش بار میکروبی در این مرحله بسیار حائز اهمیت است. بسیاری از کشورها با تدوین پروتکل‌های بهداشتی سخت‌گیرانه، استفاده از روش‌های ضد میکروبی مؤثر را در فرآوری لاشه طیور الزامی کرده‌اند. اما روش‌های سنتی نظیر شست‌وشو با آب یا استفاده از ضدعفونی‌کننده‌های شیمیایی معمول و متداول مانند کلر، به دلیل کارایی محدود در برابر برخی باکتری‌های بیماری‌زا، بروز مقاومت میکروبی و نگرانی‌های زیست‌محیطی، پاسخ‌گوی نیازهای کنونی صنایع غذایی نیستند (Roobab et al., 2023). در این میان، روش‌های جایگزین نوین و ایمن‌مانند استفاده از ازن ( $O_3$ )، میدان الکتریکی پالسی<sup>۱</sup> و اسید لاکتیک به‌عنوان تکنولوژی‌های نوظهور با پتانسیل بالا برای غیرفعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها بدون آسیب به کیفیت حسی محصول، مورد توجه قرار گرفته‌اند. این روش‌ها هر یک مزایا و محدودیت‌هایی دارند و انتخاب رویکرد مناسب، نیازمند در نظر گرفتن فاکتورهایی چون اثربخشی میکروبی، هزینه‌های عملیاتی، سازگاری با محیط زیست، و اثرات احتمالی بر کیفیت محصول نهایی است (Monica, Rajan, & Mahendran, 2024). از نیکویی قوی‌ترین اکسیدکننده‌های طبیعی است که در سال‌های اخیر به‌عنوان جایگزینی برای ضدعفونی‌کننده‌های شیمیایی سنتی مانند کلر مورد توجه قرار گرفته است. خاصیت میکروبی‌زدایی ازن، آن را به یک ابزار

کارآمد در کاهش آلودگی سطح لاشه طیور تبدیل کرده است. همچنین، ازن پس از انجام عملکرد ضدعفونی‌کننده خود، به اکسیژن تجزیه می‌شود و هیچ‌گونه باقی‌مانده شیمیایی مضر برجای نمی‌گذارد. به همین علت، استفاده از آن از منظر ایمنی و سلامت محصول نهایی قابل قبول است (Werlang et al., 2022). میدان الکتریکی پالسی نیز یک فناوری غیرحرارتی نوین است که با استفاده از پالس‌های کوتاه و شدید الکتریکی باعث ایجاد منافذ در غشای سلول باکتری‌ها شده و مرگ سلولی را القا می‌کند. این روش بدون آنکه کیفیت فیزیکی یا شیمیایی گوشت را تحت تأثیر قرار دهد، می‌تواند بار میکروبی لاشه را کاهش دهد و ماندگاری محصول را افزایش دهد. استفاده از این فناوری در صنایع غذایی رو به گسترش است و در حوزه فرآوری گوشت طیور نیز توجه محققان را به خود جلب کرده است (Lee & Yoon, 2024). در کنار این فناوری‌ها، استفاده از اسیدهای آلی به‌ویژه اسید لاکتیک نیز برای کاهش آلودگی میکروبی در کشتارگاه‌ها رایج است. اسید لاکتیک به‌عنوان یک ماده ایمن ( $GRAS^2$ ) شناخته شده توسط مراجع نظارتی تأیید شده و می‌تواند به‌طور مؤثر موجب کاهش حضور باکتری بیماری‌زای خطرناک از جمله سالمونلا بر سطح لاشه‌ها گردد. مزیت عمده اسید لاکتیک، اثربخشی بالا در غلظت‌های پایین و حداقل تأثیر بر ویژگی‌های حسی گوشت است، به‌ویژه در مورد گوشت مرغ که پوست آن به‌عنوان مانعی طبیعی عمل می‌کند (El-Saadony et al., 2022).

گزارشات متعدد در رابطه با تأثیر فناوری‌های غیر حرارتی در کاهش آلودگی باکتریایی لاشه مرغ بیانگر اثر قابل توجه آنها در کنترل و کاهش آلودگی باکتریایی بوده است. در مطالعه‌ای نتایج نشان داد که تیمار با غوطه‌وری در اسید لاکتیک (۲ تا ۵ درصد) و همچنین تیمار ازن آبی موجب کاهش معنی‌دار جمعیت هر دو شاخص باکتریایی در تمام ارگان‌ها شد، به جز تیمار ازن در شمارش/شرشیا کلی نمونه‌های قلب که تفاوت معناداری نداشت. کاهش باکتری‌های هوازی پس از تیمار با اسید لاکتیک به‌طور میانگین بهترتیب در سر، قلب و کبد به میزان ۷۳/۱، ۶۶/۱ و ۵۰/۱ سیکل لگاریتمی در هر نمونه بود؛ در حالی که پس از تیمار ازن این میزان در سر، قلب و کبد به‌ترتیب ۶۶/۱، ۵۲/۰ و ۲۰/۱ سیکل لگاریتمی بود. شمارش/شرشیا کلی نیز پس از تیمار با اسید لاکتیک به‌طور میانگین برای سر، قلب و کبد به‌ترتیب ۹۶/۰، ۷۹/۰ و ۱/۰۰ سیکل لگاریتمیکاهش یافت و پس از تیمار ازن در همین ارگان‌ها این میزان به‌ترتیب ۷۵/۰، ۶۲/۰ و ۲۵/۱ سیکل لگاریتمی کاهش پیدا کرد (Vargas et al., 2021). در تحقیق دیگری، کاربرد غیرمستقیم میدان الکتریکی پالسی با سطوح ۲/۵، ۴/۶۷ و ۷ کیلوولت بر سانتی‌متر از منظر رشد برخی باکتری‌های بیماری‌زا و ویژگی‌های کیفی گوشت سینه مرغ

## مواد و روش‌ها

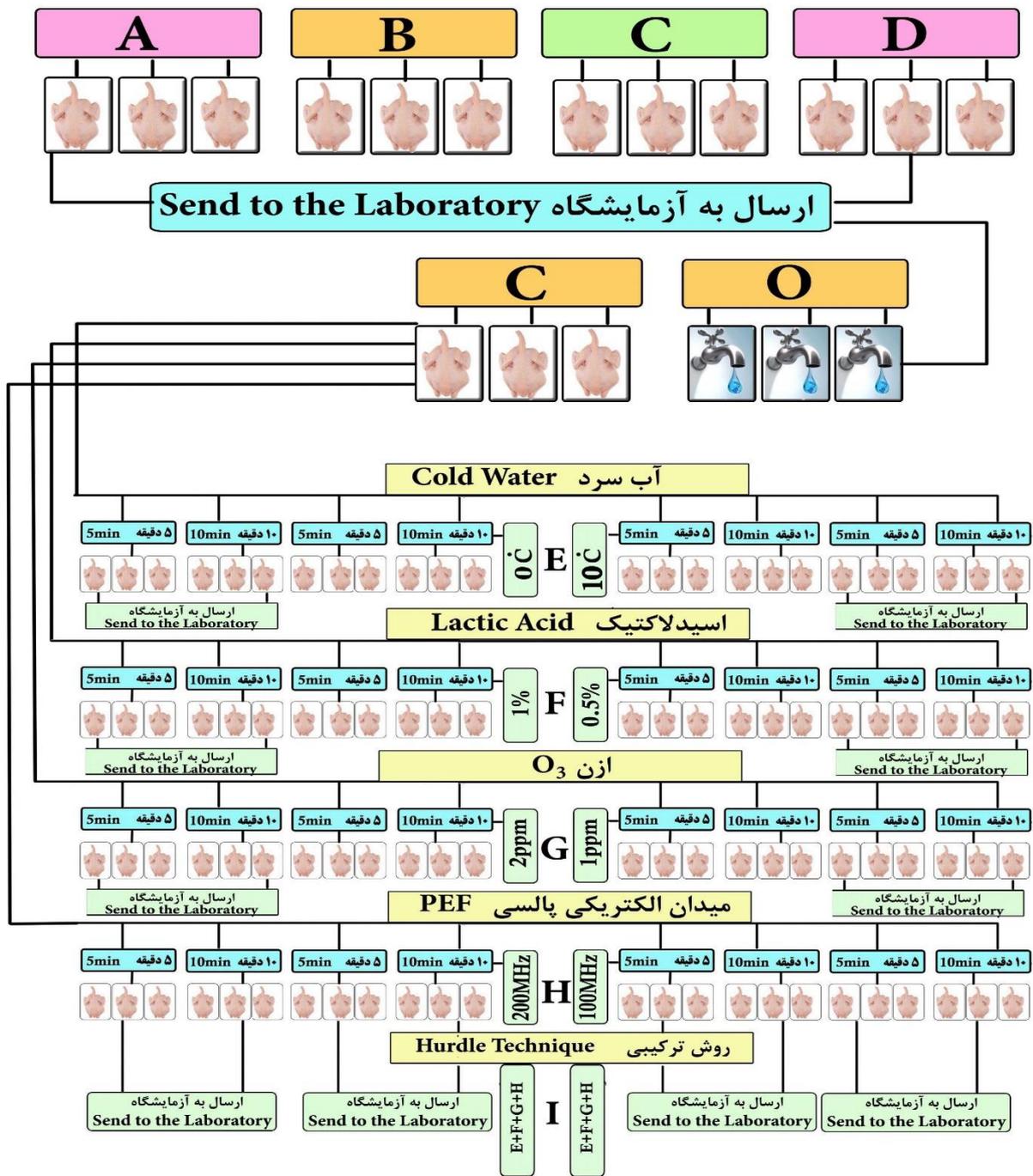
تمامی مواد شیمیایی و محیط‌های کشت میکروبی مورد استفاده در این تحقیق، با درجه خلوص بالا از شرکت مرک آلمان (Darmstadt, Germany) خریداری شدند.

### نمونه‌برداری و طراحی آزمایش

این مطالعه به صورت تجربی، از مردادماه تا آذرماه سال ۱۴۰۲ در یکی از کشتارگاه‌های صنعتی طیور شهرستان نجف‌آباد در استان اصفهان انجام شد. فرآیند نمونه‌برداری در ۶ نوبت مجزا به طوری که در هر نوبت تعداد ۲۵ نمونه طی دوره انجام مطالعه انتخاب گردید، صورت گرفت. در مجموع، تعداد ۴۵۰ قطعه لاشه مرغ گوشتی به صورت تصادفی پس از عبور از نقطه کنترل بحرانی مدنظر در خط کشتار انتخاب شد و این نقاط شامل قسمت تخلیه اندرون، دوش شستشوی لاشه، چیلر شستشو و چیلر خنک کننده لاشه مورد بررسی قرار گرفتند. در هر نوبت برای هر نمونه، سه لاشه به صورت کاملاً تصادفی از بخش‌های مختلف خط کشتار جدا و برای نمونه‌برداری انتخاب شد. برای ارزیابی آلودگی میکروبی، پوست ناحیه گردن به عنوان ناحیه شاخص انتخاب شد. این انتخاب به دلیل تماس مستقیم این ناحیه با محیط، تجهیزات، و دست‌کاری‌های انسانی در مراحل مختلف فرآوری، و همچنین تجمع آلودگی‌های سطحی از جمله باکتری‌های بیماری‌زای رایج مانند *سالمونلا* و *کمپیلوباکتر* انجام گرفت. پوست گردن مربوط به هر سه لاشه با استفاده از قیچی استریل جدا شده و پس از انتقال به ظروف سترون، با هم مخلوط گردید و به عنوان یک نمونه مرکب جهت انجام آزمون‌های میکروبی در نظر گرفته شد (Ivo, 2020). نمونه‌برداری از آب چیلرهای مورد استفاده در شستشوی لاشه‌ها به صورت مجزا و در هر نوبت نمونه‌گیری به مقدار ۵۰ میلی‌لیتر از آب انتهایی چیلر (O) تحت شرایط کاملاً استریل انجام شد. برای این منظور، از ظروف پلاستیکی استریل یک‌بار مصرف بهره گرفته شد تا از آلودگی‌های احتمالی جلوگیری شود. در مجموع، طی ۶ نوبت نمونه‌برداری، تعداد ۱۵۰ نمونه جهت بررسی میکروبیولوژیکی جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها به ۱۰ گروه مختلف تفکیک شدند. گروه کنترل به منظور بررسی میزان آلودگی میکروبی از نقاط کنترل بحرانی در مطالعه قرار داده شد که از ۵ بخش مختلف شامل O, A, B, C و D جداسازی شدند. در مقابل، گروه‌های تیمار که به منظور بررسی روش‌های کنترل و کاهش آلودگی میکروبی در لاشه مرغ در فرآیند کشتار طیور انجام گردید و همگی از قسمت انتهایی چیلر شستشو (C) گرفته شدند، به ترتیب با عناوین E, F, G, H و I نامگذاری گردیدند.

طی نگهداری در سردخانه (۴ درجه سانتی‌گراد) نشان داد، آستانه شمارش باکتری‌های هوازی مزوفیل در گروه‌های تیمار شده با میدان الکتریکی پالسی (شدت‌های ۴/۶۷ و ۷ kV/cm) نسبت به گروه کنترل با فاصله زمانی ۲ روز دیرتر مشاهده شد. برای باکتری‌های کلی‌فرم، تقریباً تفاوت ۲ لگاریتمی بین گروه‌های تیمار شده و کنترل وجود داشت. شمارش *سودوموناس آئروژینوزا* تغییر محسوسی نداشت، در حالی که رشد *لیستریا مونوسیتوژنز* توسط شدت ۴/۶۷ kV/cm افزایش یافت. همچنین این مطالعه نشان داد که اعمال پالس‌های با شدت متوسط، همراه با نگهداری سرد، موجب بهبود ماندگاری گوشت سینه مرغ می‌شود (Aşik-Canbaz, Çömlekçi, & Can Seydim, 2022). در پژوهشی، استفاده از فناوری نور پالسی به منظور کنترل گونه‌های *کمپیلوباکتر* بر روی گوشت طیور مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که نور پالسی باعث کاهش معنی‌دار شمارش *انتروباکتریاسه* شد، اما در کاهش بیش از ۱ لگاریتم جمعیت *کمپیلوباکتر* در گوشت مرغ موفق نبود. گوشت مرغ تیمار شده با نور پالسی نسبت به نمونه شاهد، اندکی روشن‌تر، قرمزتر و زردتر شد. همچنین، فناوری پالس نوریتوانست نسبت آلدئیدها (به ویژه ترکیبات مرتبط با بوی گوشت مرغ و بوی پوست مرغ) به کل ترکیبات فرار در گوشت را کاهش دهد (Baptista et al., 2022).

با وجود مزایای متعدد روش‌های فوق، هنوز در کشور ما پژوهش‌های کاربردی و تجربی کافی برای ارزیابی و مقایسه اثربخشی این تکنیک‌ها در شرایط عملیاتی کشتارگاه‌های صنعتی انجام نشده است. از طرفی، شرایط اقلیمی، نحوه پرورش، تجهیزات فرآوری و استانداردهای بهداشتی در کشتارگاه‌های داخلی، ممکن است نتایج متفاوت با یافته‌های بین‌المللی به همراه داشته باشد. از این رو، اجرای مطالعات میدانی بومی، می‌تواند داده‌های ارزشمندی برای بهبود راهکارهای بهداشتی ارائه دهد (Alali & Hofacre, 2018). بنابراین، هدف پژوهش حاضر، بررسی کاربرد و اثربخشی روش‌های مختلف کاهش آلودگی میکروبی، از جمله استفاده از آب حاوی پودر یخ در دمای صفر و ۱۰ درجه سانتی‌گراد، ازن، میدان الکتریکی پالسی و اسید لاکتیک در کاهش آلودگی میکروبی باکتری‌های بیماری‌زا شاخص (*سالمونلا* و *کمپیلوباکتر*) در فرآیند تولید گوشت مرغ در کشتارگاه طیور نجف‌آباد است. نتایج حاصل از این مطالعه می‌تواند به عنوان مبنایی علمی برای انتخاب روش‌های بهینه ضدعفونی در کشتارگاه‌های صنعتی کشور و ارتقاء ایمنی میکروبی گوشت مرغ در زنجیره تأمین غذا استفاده شود.



شکل ۱- مراحل توزیع نمونه‌ها در گروه‌های کنترل و تیمار (آب حاوی پودر یخ در دماهای ۰ و ۱۰ درجه سانتی‌گراد (E))، اسید لاکتیک (۵/۰ و ۱ درصد (F))، گاز ازن (۱ ppm و ۲ (G))، میدان الکتریکی پالسی ۶۰ ولت (۱۰۰ و ۲۰۰ مگاهرتز (H)) و تیمار ترکیبی (I) به همراه نمایش مشخصات و نحوه انجام آزمایش تیمارها

Fig. 1. The distribution stages of samples into control and treatment groups (Water containing ice powder (E): (at temperatures of 0 and 10 °C), lactic acid (F): (at 0.5% and 1%), ozone gas (G): (at 1 and 2 ppm), and pulsed electric field (H): (60 V, 100 and 200 MHz)), along with the description of their characteristics and the methodology of conducting the treatment experiments

پودر یخ تولید شده توسط دستگاه یخ‌ساز کشتارگاه، و به‌منظور سنجش تأثیر اسید لاکتیک (F)، از اسید لاکتیک با خلوص ۹۰ درصد بهره گرفته شد. در این تحقیق، برای بررسی اثر ازن (G) بر روی لاشه‌ها، دستگاه مولد ازن با ظرفیت ۱۰ گرم در ساعت که به‌صورت سفارشی توسط شرکت آرکا صنعت تهران ساخته شده بود، مورد استفاده قرار گرفت. همچنین، جهت ارزیابی تأثیر میدان الکتریکی پالسی (H)، دستگاه مولد میدان الکتریکی پالسی ساخت سفارشی شرکت تحقیقاتی مهندسی افرا صنعت کیمیا مشهد به کار گرفته شد. برای بررسی اثر ترکیبی تیمارها (I)، ابتدا هر ۴ تیمار قبلی یکی همه در سطوح اولدر دو زمان ۵ و ۱۰ دقیقه و سپس مجدد در سطوح دوم آزمایش شدند. پس از انجام تیمارها، نمونه‌ها در داخل کیسه‌های زیپ‌دار به همراه پودر یخ نگهداری شدند. تمامی مراحل انتقال نمونه‌ها به کیسه‌های استریل، جابجایی‌ها و انتقال‌ها با استفاده از پنس استریل و در مجاورت شعله چراغ الکی آزمایشگاه و با رعایت کامل شرایط آسپتیک و استریل انجام گرفت تا از هرگونه آلودگی خارجی جلوگیری شود (Golden, Rothrock Jr, & Mishra, 2021). جدول ۱ مشخصات دقیق محل‌های نمونه‌برداری، کدگذاری و نام‌گذاری نمونه‌ها، گروه‌های آزمایشی، تعداد نمونه‌ها و واحدهای اندازه‌گیری تیمارها را به تفکیک نشان داده است.

در این پژوهش به‌منظور بررسی روش‌های کنترل و کاهش آلودگی میکروبی و بهبود وضعیت بهداشتی فرآیند تولید در کشتارگاه طیور از آب حاوی پودر یخ (E) در دمای صفر و ۱۰ درجه سانتی‌گراد، اسید لاکتیک (F) در غلظت‌های ۰/۵ و ۱ درصد، آب ازن‌دار (G) با غلظت‌های ۱ ppm و ۲، میدان الکتریکی پالسی (H) با ولتاژ ۶۰ ولت با فرکانس‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ مگاهرتز و اثر ترکیبی (I) تیمارهای فوق (نمونه‌ها به‌ترتیب در معرض آب حاوی پودر یخ، اسید لاکتیک، آب حاوی ازن و میدان الکتریکی پالسی قرار گرفتند به عبارتی هر ۴ نوع تیمار با هم انجام شد) در دو سطح یا غلظت و دو زمان ۵ و ۱۰ دقیقه بر روی گروه‌های تیمار استفاده شد. در شکل ۱ نحوه توزیع نمونه‌ها در گروه کنترل و تیمارها به همراه مشخصات، تعداد نمونه، زمان انجام تیمارها، ترتیب تیمارها و نحوه ارسال به آزمایشگاه به تفکیک نشان داده شده است.

### روش اعمال تیمارها

برای بررسی اثر هر یک از تیمارهای مورد مطالعه لاشه‌های مرغ از قسمت انتهایی چیلر شستشو (C) به‌صورت تصادفی انتخاب و نمونه‌برداری انجام شد و جهت ارزیابی اثر آب حاوی پودر یخ (E)، از

جدول ۱- مشخصات نمونه‌ها و محل‌های نمونه‌برداری  
Table 1- Specifications of samples and sampling sites

کد نمونه Sample code	محل نمونه‌برداری و شرح نمونه Sampling place and description of the sample	واحد اندازه‌گیری The unit of measurement	مقدار/غلظت Amount/concentration	تعداد نمونه Number of samples
O	نمونه آب چیلر شستشوی Chiller washing water	-	-	6
A	لاشه مرغ پس از تخلیه اندرون Chicken carcass after evisceration	-	-	6
B	لاشه مرغ پس از دوش آب با فشار Chicken carcass after high-pressure water shower	-	-	6
C	لاشه مرغ انتهایی چیلر شستشوی Chicken carcass at the end of the washing chiller	-	-	6
D	لاشه مرغ انتهایی چیلر خنک کننده Chicken carcass at the end of the cooling chiller	-	-	6
E	لاشه مرغ در مخزن آب سرد Chicken carcass in the cold water tank	°C	10-0	24
F	لاشه مرغ در مخزن آب حاوی اسید لاکتیک Chicken carcass in the tank containing lactic acid	درصد %	0.5-1	24
G	لاشه مرغ در مخزن آب ازن Chicken carcass in the ozone water tank	ppm	1-2	24
H	لاشه مرغ در مخزن آب دارای میدان الکتریکی پالسی ۶۰ ولت Chicken carcass in the water tank with a 60-volt pulsed electric field	MHz	100-200	24
I	اثر ترکیبی تیمارهای فوق بر روی لاشه مرغ Combined effect of the above treatments on chicken carcass	-	-	24
کل Total				150

## تعیین میزان آلودگی لاشه‌های مرغ به سالمونلا

در نخستین مرحله جهت تهیه سوسپانسیون اولیه، مقدار ۲۶ گرم از هر نمونه با مقدار ۲۳۴ میلی‌لیتر محیط مایع استریل پپتون واتر بافری (BPW<sup>۱</sup>) مخلوط و به مدت ۱ دقیقه هموژن و همگن گردید. از این مقدار ۲۶۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون اولیه، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر معادل ۱ گرم به لوله آزمایش استریل منتقل شد تا از آن برای شمارش کلی باکتری‌ها و جداسازی و شمارش کمپیلوباکتر استفاده شود و رقت‌سازی سریالی تا رقت ۱۰<sup>-۶</sup> ادامه پیدا کرد. جهت ارزیابی حضور سالمونلا در نمونه‌های لاشه مرغ، فرآیند جداسازی و شناسایی بر اساس دستورالعمل استاندارد ملی ایران به شماره ۱۸۱۰ انجام شد. سپس مقدار ۲۵۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون اولیه معادل ۲۵ گرم نمونه با رقت ۱۰<sup>-۱</sup> به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. پس از آن مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از این سوسپانسیون به منظور افزایش احتمال جداسازی سالمونلا، به محیط غنی‌سازی انتخابی سلنیت برات بیس<sup>۲</sup> (مرک، آلمان)، منتقل و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. در ادامه، از محیط غنی‌شده به صورت خطی بر روی محیط کشت اختصاصی برلیانت گرین آگار<sup>۳</sup> (BGA<sup>۳</sup>) (مرک، آلمان) کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفت. کلنی‌های مشکوک به سالمونلا، که معمولاً به صورت صورتی تا قرمز با ناحیه اطراف بی‌رنگ یا زرد ظاهر می‌شوند، انتخاب و به محیط‌های افتراقی شامل آگار سه قند آهن<sup>۴</sup> (TSI)، لیزین آهن آگار<sup>۵</sup> (LIA) و محیط اوره آگار<sup>۶</sup> (مرک، آلمان) منتقل شدند، و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری گردیدند. پس از بررسی نتایج اولیه، از کلنی‌های دارای ویژگی‌های سازگار با سالمونلا کشت خالص بر روی محیط برلیانت گرین آگار (مرک، آلمان) صورت پذیرفت و کلنی‌های حاصل به محیط‌های بیوشیمیایی تکمیلی از جمله SIM<sup>۷</sup>، VP-MR<sup>۸</sup> و سیمون سیترات (مرک، آلمان) منتقل گردیدند و پس از گرمخانه‌گذاری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، تفسیر نتایج این آزمون‌ها به عنوان مبنایی برای شناسایی نهایی حضور یا عدم حضور گونه‌های سالمونلا در نمونه‌های مورد بررسی مورد استفاده قرار گرفت (ISIRI, 2010).

## شمارش و تأیید گونه‌های کمپیلوباکتر در لاشه‌های مرغ

شناسایی و شمارش گونه‌های کمپیلوباکتر با بهره‌گیری از استاندارد ملی ایران به شماره ۹۶۶۱ صورت گرفت. از رقت‌های ۱۰<sup>-۱</sup>، ۱۰<sup>-۲</sup> و ۱۰<sup>-۳</sup> تهیه شده از مابقی سوسپانسیون اولیه که جهت شناسایی سالمونلا تهیه گردید، مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر بر روی محیط کمپیلوباکتر آگار انتخابی بدون خون<sup>۹</sup> (مرک، آلمان)، به صورت یکنواخت و سطحی کشت داده شد. پلیت‌ها در شرایط میکروآنروفلیک و در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. پس از اتمام زمان انکوباسیون، کلنی‌هایی با مشخصات ظاهری مشکوک، شامل سطح خاکستری با درخشندگی فلزی، شکل مسطح و رطوبت‌دار، با گرایش به پخش شدن، مشاهده و پلیت‌هایی با شمارش کمتر از ۱۵۰ کلنی انتخاب شدند. جهت تأیید بیوشیمیایی، از هر پلیت پنج کلنی به صورت تصادفی انتخاب و برای تهیه کشت خالص به محیط کلمبیا بلاد آگار خون‌دار<sup>۱۰</sup> (مرک، آلمان) منتقل گردید. این پلیت‌ها نیز مجدداً در شرایط میکروآنروفلیک و دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند. کلنی‌های حاصل از کشت خالص، برای انجام مجموعه‌ای از آزمون‌های شناسایی به کار گرفته شدند. جهت بررسی ویژگی‌های میکروسکوپی، از هر کلنی سوسپانسیونی در محیط بروسلا برات<sup>۱۱</sup> (مرک، آلمان) تهیه شد و زیر میکروسکوپ نوری، شکل مارپیچی و خمیده باکتری‌ها همراه با حرکت فعال مشاهده گردید. بررسی توان رشد در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط هوایی، و همچنین در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط میکروآنروفلیک، منفی گزارش شد که با ویژگی‌های افتراقی این باکتری مطابقت داشت. در آزمون اکسیداز، بخشی از کلنی به وسیله میله‌ی شیشه‌ای استریل به کاغذ صافی آغشته به معرف اکسیداز منتقل شد. مشاهده رنگ بنفش یا آبی پررنگ در کمتر از ۱۰ ثانیه، بیانگر واکنش مثبت بود. همچنین، برای ارزیابی فعالیت آنزیم اوره‌آز، با استفاده از آنس استریل، بخشی از کلنی‌ها به صورت زیگزاگ بر سطح شیب‌دار محیط اوره‌آز (مرک، آلمان) کشت داده شده و پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد در شرایط میکروآنروفلیک، عدم تغییر رنگ به عنوان نتیجه منفی در نظر گرفته شد. تست کاتالاز نیز با افزودن کلنی‌ها به قطره‌ای از محلول پراکسید هیدروژن بر روی لام انجام و با ایجاد حباب ظرف ۳۰ ثانیه، نتیجه مثبت تأیید شد. در مجموع، تعداد ۲۵ کلنی خالص جهت اجرای آزمون‌های تأییدی مورد بررسی قرار گرفتند. کلنی‌هایی که در حداقل پنج آزمون دارای نتایج سازگار با مشخصات کمپیلوباکتر بودند، به عنوان

7- Sulfide-Indole-Motility

8- Voges-Proskauer/Methyl Red

9- Campylobacter Blood-Free Selective Agar Base

10- Columbia Blood Agar

11- Brucella broth

1- Buffered Peptone Water

2- Selenite F Broth

3- Brilliant Green Agar

4- Triple Sugar Iron Agar

5- Lysine Iron Agar

6- Urea Agar Base

سطح لاشه و داخل محوطه شکمی لاشه تخلیه شده کاهش یابد. در کشتارگاه مورد بررسی به دلیل کارایی نامناسب و وجود نقص در عملکرد دوش‌های شستشوی لاشه در این نقطه میزان آلودگی در بالاترین سطح از نظر شمارش کلی باکتری‌ها، کمپیلوباکتر و درصد سالمونلا بود، و تفاوت معناداری ( $P < 0.05$ ) با برخی نقاط دیگر نشان داد (جدول ۲). پس از این مرحله لاشه طیور به منظور خنک‌سازی وارد چیلرهای آبی حاوی پودر یخ (D) می‌شود و در این نقطه لاشه طیور بایستی همان شرایط لاشه مورد مصرف را داشته باشد که نتایج این پژوهش نیز گویای این موضوع است و آلودگی در این نقطه پایین‌ترین میزان و تفاوت معنی‌داری ( $P < 0.05$ )، با سایر نقاط نشان داد. به منظور بررسی احتمال ایجاد آلودگی متقاطع در چیلرهای شستشو و انتقال آن به سایر لاشه‌های کشتار شده در پایان هر مرحله از آب چیلرهای شستشو (O) نیز نمونه‌برداری انجام شد که میزان آلودگی در این نقطه پس از چیلرهای خنک کننده کمتر از سایر بخش‌ها بود (جدول ۲).

سازمان دامپزشکی کشور بر اساس دستورالعمل اجرایی ضوابط فنی بهداشتی کشتار، استحصال، بسته‌بندی و عرضه گوشت طیور با کد دستورالعمل ۰۶-۴۴-۸۷ ویژگی‌های میکروبی لاشه طیور و مقادیر مجاز آن مشخص شده است. بنابراین بر اساس این دستورالعمل، لاشه‌های طیور از نظر شمارش کلی باکتری‌ها، کمپیلوباکتر و حضور باکتری سالمونلا در ۲۵ گرم نمونه به ترتیب  $10^3$ ،  $10^5$  و منفی باشد. به عبارتی، لاشه‌های با بار میکروبی بالاتر از این مقادیر اجازه مصرف ندارد و قضاوت و نحوه مصرف آن بستگی به تعداد نمونه و وضعیت آلودگی آنها دارد. که از این نظر وضعیت آلودگی در نقاط کنترل بحرانی وضعیت مناسبی را نداشته و بکارگیری و استفاده از روش‌های کاهش‌دهنده آلودگی میکروبی و تکنولوژی‌های جدید در کشتارگاه طیور بیش از پیش مورد نیاز است. بر همین اساس در این پژوهش از روش‌هایی برای کاهش آلودگی میکروبی و بهبود وضعیت بهداشتی کشتارگاه طیور استفاده گردید.

نتایج این تحقیق نشان داد که در میان روش‌های اعمال شده، تیمارهای گاز ازن، اسید لاکتیک، میدان الکتریکی پالسی و اثر ترکیبی آنها به‌ویژه در سطوح بالاتر توانستند میزان آلودگی‌های میکروبی لاشه مرغ را نسبت به نمونه کنترل (C) کاهش دهند ( $P < 0.05$ ). بیشترین میزان شمارش کلی باکتری‌ها ( $6/18 \log \text{cfu/g}$ ) در نمونه کنترل مشاهده شد که نشان‌دهنده بار میکروبی اولیه و نسبتاً بالای نمونه‌های لاشه مرغ است. در میان روش‌های اعمال شده جهت کنترل و کاهش آلودگی باکتری‌ها، اسید لاکتیک در بالاترین سطوح مورد بررسی (۱٪- به مقدار  $1/58 \log \text{cfu/g}$  و  $1/90 \log \text{cfu/g}$  توانستند بیشترین

ایزوله‌های قطعی تلقی گردیدند. شمارش نهایی کلنی‌ها با استفاده از رابطه (۱) انجام شد.

$$a = \frac{b}{A} \times C \quad (1)$$

در رابطه فوق، a: تعداد کمپیلوباکتر در هر پلیت، A: تعداد کلنی انتخاب شده برای شناسایی، b: تعداد کلنی‌هایی که پس از شناسایی با میکروارگانیزم مربوطه مطابقت دارد، c: تعداد کلنی‌های شمارش شده در هر پلیت (ISIRI, 2006).

### شمارش کلی میکروارگانیزم‌ها

بدین منظور، پس از تهیه رقت‌های متوالی (تا رقت  $10^{-6}$ ) از سوسپانسیون اولیه، از رقت‌های  $10^{-4}$ ،  $10^{-5}$  و  $10^{-6}$  به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر بر روی محیط پلیت کانت آگار<sup>۱</sup> (مرک، آلمان) به روش شمارش صفحه‌ای سطحی کشت داده شد. پلیت‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. برای شمارش کلی، پلیت‌های دارای ۳۰ - ۳۰۰ پرگنه انتخاب گردیدند (Stęczyński & Kokoszyński, 2021).

### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

داده‌های حاصل از سه تکرار با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ تجزیه و تحلیل شدند. برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده گردید و در صورت معنی‌دار بودن نتایج ( $P < 0.05$ )، مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی انجام گرفت. نتایج به‌صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش شد.

### نتایج و بحث

به منظور بررسی سطح آلودگی در کشتارگاه تعدادی از نقاط کنترل بحرانی نمونه‌برداری و مورد بررسی قرار گرفت که در جدول ۲ میزان آلودگی و وضعیت بهداشتی نقاط مدنظر در حین فرآیند کشتار نشان داده شده است. در خط کشتار مرغ، پرند پس از عبور از مراحل ذبح و پرکنی، تخلیه امعاء و احشاء (A) به‌صورت دستی یا اتوماتیک انجام می‌شود و میزان آلودگی سطحی لاشه طیور معمولاً در این مرحله به دلیل جداسازی احشاء خوراکی و غیر خوراکی و پارگی بعضی از آنها در بالاترین حد خود می‌باشد و نتایج پژوهش حاضر نیز مؤید این مطلب است. پس از این مرحله عملیات شستشوی لاشه طیور ابتدا توسط دوش‌های پرفشار آب (B) و سپس در چیلرهای شستشو (C) انجام می‌شود و انتظار می‌رود تمامی آلودگی‌های فیزیکی و میکروبی روی

روش‌های فیزیکی مورد بررسی عمل کرده است (Ramirez- Hernandez, Brashears, & Sanchez-Plata, 2018). مشابه روند شمارش کلی باکتری‌ها، شمارش کمپیلوباکتر در نمونه کنترل نیز بیشترین مقدار (2/98 log cfu/g) را داشت و اختلاف معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) با اکثر تیمارها از خود نشان داد.

اثر بخشی را در کاهش بار کلی میکروبی داشته باشند ( $P < 0/05$ ). کاهش بار میکروبی به ترتیب به هنگام استفاده از پودر یخ، از ن و میدان الکتریکی پالسی کمتر از دو روش مذکور بود ( $P < 0/05$ ). این موضوع نشان می‌دهد که استفاده از عوامل شیمیایی مانند اسید لاکتیک، به دلیل خاصیت ضدباکتریایی مستقیم در مهار رشد میکروب‌ها مؤثرتر از

جدول ۲- میانگین شمارش کلی باکتری‌ها و شمارش کمپیلوباکتر (لگاریتم تعداد واحد کلنی به ازای هر گرم یا میلی‌لیتر) و آلودگی سالمونلا (درصد) در نقاط کنترل بحرانی در طی فرآیند کشتار

Table 2- The mean of total bacterial count and *Campylobacter* count (Log CFU/g) and *Salmonella* contamination (%) at critical control points during the slaughter process

نقاط کنترل بحرانی Critical control points	شمارش کلی باکتری‌ها (Log CFU/g) Total count of bacteria	شمارش کمپیلوباکتر (Log CFU/g) <i>Campylobacter</i> count	درصد آلودگی سالمونلا (%) The percentage of <i>Salmonella</i> infection
(A) تخلیه شکم Internal evacuation	6.26 ± 0.26 <sup>a</sup>	3.20 ± 0.48 <sup>ab</sup>	41 ± 0.41 <sup>a</sup>
(B) دوش شستشو Washing shower	6.43 ± 0.29 <sup>a</sup>	3.32 ± 0.42 <sup>a</sup>	42 ± 0.41 <sup>a</sup>
(C) چیلر شستشو Washing chiller	6.18 ± 0.33 <sup>a</sup>	2.98 ± 0.15 <sup>ab</sup>	42 ± 0.41 <sup>a</sup>
(D) چیلر خنک کننده Cooling chiller	5.55 ± 0.39 <sup>b</sup>	2.81 ± 0.33 <sup>ab</sup>	25 ± 0.55 <sup>b</sup>
(O) آب چیلر شستشو Chiller washing water	5.29 ± 0.32 <sup>b</sup>	2.64 ± 0.18 <sup>b</sup>	25 ± 0.55 <sup>b</sup>

حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد آزمون توکی هستند.

Different letters indicate significant differences at the 5% level according to Tukey's test.

داد. سایر روش‌ها نظیر میدان الکتریکی پالسی (۸/۵٪)، از ن (۱۶/۵٪) و پودر یخ (۲۵٪) نیز در کاهش سالمونلا اثر داشتند اما تأثیر آنها در کاهش آلودگی سالمونلا در مقایسه با اسید لاکتیک و روش ترکیبی کمتر بود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که استفاده ترکیبی از روش‌های شیمیایی و فیزیکی می‌تواند استراتژی مناسبی برای کاهش خطرات بهداشتی ناشی از سالمونلا باشد. اثرات قابل توجه اسید لاکتیک و روش ترکیبی در کاهش آلودگی باکتری‌های بیماری‌زا به احتمال زیاد ناشی از کاهش pH محیط و اثرات مستقیم ضدباکتریایی اسید لاکتیک است که موجب اختلال در عملکرد غشای سلولی و متابولیسم باکتری‌ها می‌شود. در مقابل، روش‌های فیزیکی مانند از ن و میدان الکتریکی پالسی با ایجاد استرس اکسیداتیو و اختلال در ساختار سلولی میکروب‌ها، به کاهش بار میکروبی کمک می‌کنند (Qian et al., 2019)، اگرچه در این مطالعه اثر بخشی آنها در کاهش آلودگی باکتری‌های بیماری‌زا و شمارش کلی کمتر از اسید لاکتیک بود.

یافته‌های این تحقیق با پژوهش‌های پیشین که بر تأثیر از ن، اسید لاکتیک و همچنین روش‌های ترکیبی بر کاهش بار میکروبی گوشت طیور تأکید دارند، همسو بود. در مطالعه‌ای که توسط مگاهد و همکاران (Megahed et al., 2020) انجام شد، استفاده از محلول‌از ن با غلظت ۸ ppm با به‌کارگیری دو روش غوطه‌وری و اسپری متوالی، کاهش

میزان کاهش در شمارش کمپیلوباکتر در نمونه‌های تیمار شده با اسید لاکتیک در بالاترین سطوح مورد بررسی (۱/۰۲ log cfu/g) و روش ترکیبی در بالاترین سطوح تمامی تیمارها (۱/۳۹ log cfu/g) نشان‌دهنده اثر مثبت این دو روش در کنترل این باکتری که از عوامل مهم بیماری‌زایی در مواد غذایی محسوب می‌شود، بود. در نمونه‌های تیمار شده با از ن و میدان الکتریکی پالسی نیز کاهش شمارش کمپیلوباکتر نسبت به نمونه کنترل گزارش شد که تنها در سطوح بالاتر تیمارها (غلظت بالاتر از ن و فرکانس بالاتر میدان الکتریکی پالسی در هر دو زمان ۵ و ۱۰ دقیقه)، تفاوت آماری معنی‌داری را نسبت به نمونه کنترل نشان دادند ( $P < 0/05$ ). استفاده از پودر یخ در سطوح مختلف مورد بررسی تأثیری در کاهش آلودگی کمپیلوباکتر نداشت ( $P > 0/05$ ). این نتایج تأکید می‌کند که ترکیب چند روش می‌تواند اثرات هم‌افزایی ایجاد کرده و در مهار باکتری‌های بیماری‌زا مؤثرتر عمل کند (جدول ۳).

طبق جدول ۳، میزان آلودگی سالمونلا در نمونه کنترل ۴۲٪ بود که نسبت به نمونه‌های تیمار شده با روش‌های مختلف بسیار بالاتر بود ( $P < 0/05$ ). استفاده از روش ترکیبی تیمارها موجب کاهش بیشتر این باکتری شد که تفاوت معنی‌داری ( $P < 0/05$ )، با سایر تیمارها و نمونه کنترل داشت. همچنین اسید لاکتیک نیز در مقایسه با سایر روش‌های مورد بررسی به‌طور مؤثرتری آلودگی به این باکتری بیماری‌زا را کاهش

درصد را بر کاهش بار میکروبی لاشه مرغ بررسی کرد. نتایج حاکی از کاهش قابل توجه شمارش کلی میکروارگانیزم‌ها، کمپیلوباکتر و درصد آلودگی *سالمونلا* بود. این کاهش در بار میکروبی با افزایش غلظت ازن تشدید شد که نشان‌دهنده افزایش اثربخشی ترکیب مذکور می‌باشد. همچنین، استفاده از این ترکیب در مرحله‌ی خنک‌سازی لاشه مرغ، کاهش ۱/۱۶ سیکل لگاریتمی شمارش کلی میکروارگانیزم‌ها را به همراه داشت. بای و همکاران (Bai et al., 2020) نیز ترکیبی از اسیدهای آلی (اسید سیتریک و اسید لاکتیک) همراه با سدیم دودسیل سولفات (SDS) را به‌عنوان ضدعفونی‌کننده‌ای مؤثر معرفی کردند که با مکانیسم هم‌افزایی توانستند در مدت ۱۵ ثانیه کاهش ۱۰۰ درصدی *سالمونلا* و کمپیلوباکتر را در غلظت‌های پایین ایجاد کند. کاهش بیش از  $4/7 \log \text{CFU/mL}$  در شمارش باکتری‌ها نشان‌دهنده قدرت بالای این ترکیب در کنترل آلودگی‌های میکروبی طی فرآیندهای کشتار طیور است.

معنی‌دار جمعیت *سالمونلا* را روی سطح پوست و بافت زیرجلدی ران مرغ نشان داد. به‌طوری‌که کاهش آلودگی پس از چندین مرحله غوطه‌وری و اسپری به‌ترتیب به حدود  $1/1 \log/\text{cm}^2$  و  $0/9 \log/\text{cm}^2$  رسید. علاوه بر این، افزودن اسید لاکتیک به محلول ازن موجب افزایش ظرفیت ضد میکروبی این ترکیب شد که این موضوع نشان‌دهنده اثر سینرژیک بین این دو عامل است. مطالعه دیگری توسط رحیمیان و همکاران (Rahimian et al., 2019) در شرایط خنک‌سازی لاشه طیور، نشان داد که استفاده از ازن با غلظت ۷ ppm توانست به‌طور قابل توجهی تعداد کل باکتری‌ها را کاهش دهد و نتایج آن با یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت داشت. این موضوع بیانگر نقش مؤثر ازن در کاهش بار میکروبی در مراحل پس از کشتار است که برای حفظ کیفیت و ایمنی محصولات طیور اهمیت زیادی دارد. همچنین، پژوهشی که کاظمی تسکوه و همکاران (Kazemi Taskooh et al., 2016) انجام دادند، تأثیر ترکیبی ازن با غلظت‌های ۱ ppm و ۲، و اسید لاکتیک ۱

جدول ۳- میانگین شمارش کلی باکتری‌ها، کمپیلوباکتر و درصد آلودگی *سالمونلا* در گروه‌های مورد مطالعه

Table 3- The mean total bacterial count, *Campylobacter* count, and the percentage of *Salmonella* contamination in the studied groups

تیمارها Treatments	سطوح و زمان اعمال تیمار Level and time of treatments	شمارش کلی باکتری‌ها Total bacterial log (count) (CFU/g)	کمپیلوباکتر <i>Campylobacter</i> log (count) (CFU/g)	<i>سالمونلا</i> <i>Salmonella</i> contamination (%)
کنترل Control(C)	-	6.18±0.33 <sup>a</sup>	2.98±0.15 <sup>a</sup>	42±0.41 <sup>a</sup>
پودر یخ Ice powder (E)	10 درجه - 5 دقیقه	6.05±0.07 <sup>ab</sup>	2.95±0.35 <sup>a</sup>	34.00±0.51 <sup>ab</sup>
	10 درجه - 10 دقیقه	5.87±0.13 <sup>bc</sup>	2.76±0.26 <sup>a</sup>	25.00±0.55 <sup>abc</sup>
	0 درجه - 5 دقیقه	5.72±0.13 <sup>c</sup>	2.60±0.26 <sup>a</sup>	25.00±0.55 <sup>abc</sup>
	0 درجه - 10 دقیقه	5.58±0.11 <sup>c</sup>	2.56±0.35 <sup>a</sup>	16.50±0.52 <sup>c</sup>
ازن Ozone (G)	1 ppm - 5 دقیقه	5.87±0.24 <sup>a</sup>	2.88±0.24 <sup>a</sup>	34.00±0.52 <sup>b</sup>
	1 ppm - 10 دقیقه	5.77±0.17 <sup>ab</sup>	2.69±0.15 <sup>ab</sup>	17.00±0.51 <sup>bc</sup>
	2 ppm - 5 دقیقه	5.42±0.29 <sup>b</sup>	2.48±0.24 <sup>b</sup>	8.50±0.41 <sup>c</sup>
	2 ppm - 10 دقیقه	5.35±0.17 <sup>b</sup>	2.44±0.23 <sup>b</sup>	8.50±0.41 <sup>c</sup>
میدان الکتریکی پالسی Pulse electric field (H)	100-5 mhz دقیقه	5.71±0.32 <sup>ab</sup>	2.67±0.25 <sup>ab</sup>	25.00±0.55 <sup>b</sup>
	100-10 mhz دقیقه	5.61±0.32 <sup>b</sup>	2.49±0.26 <sup>ab</sup>	8.50±0.41 <sup>c</sup>
	200-5 mhz دقیقه	5.38±0.37 <sup>b</sup>	2.37±0.20 <sup>b</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>
	200-10 mhz دقیقه	5.22±0.31 <sup>b</sup>	2.31±0.48 <sup>b</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>
اسید لاکتیک Lactic acid (F)	0.5% - 5 دقیقه	5.16±0.36 <sup>b</sup>	2.42±0.40 <sup>ab</sup>	8.50±0.41 <sup>b</sup>
	0.5% - 10 دقیقه	5.37±0.32 <sup>bc</sup>	2.28±0.44 <sup>b</sup>	8.50±0.41 <sup>b</sup>
	1% - 5 دقیقه	4.69±0.32 <sup>c</sup>	2.15±0.31 <sup>b</sup>	0.00±0.00 <sup>c</sup>
	1% - 10 دقیقه	4.60±0.30 <sup>c</sup>	1.96±0.41 <sup>b</sup>	0.00±0.00 <sup>c</sup>
اثر ترکیبی Combined effect (I)	همه تیمارها 1	4.93±0.19 <sup>b</sup>	2.26±0.24 <sup>b</sup>	8.50±0.41 <sup>b</sup>
	همه تیمارها 2	4.78±0.29 <sup>bc</sup>	1.97±0.26 <sup>bc</sup>	0.00±0.00 <sup>c</sup>
	همه تیمارها 3	4.57±0.37 <sup>bc</sup>	1.83±0.32 <sup>bc</sup>	0.00±0.00 <sup>c</sup>
	همه تیمارها 4	4.28±0.39 <sup>c</sup>	1.59±0.30 <sup>c</sup>	0.00±0.00 <sup>c</sup>

در هر ستون، میانگین تیمارها نسبت به گروه کنترل (میانگین ± انحراف معیار) که دارای حروف متفاوت هستند، در سطح پنج درصد آزمون توکی اختلاف معنی‌دار دارند. In each column, means (mean ± standard deviation) with different letters are significantly different at the 5% level according to Tukey's test.

فشار اکسیداتیو یا تخریب مکانیکی قرار گرفته و این امر موجب نشت محتویات سلولی، اختلال در توازن یونی و نهایتاً توقف فرآیندهای حیاتی مانند تنفس و سنتز پروتئین می‌شود. چنین مکانیسم‌هایی در مطالعات میکروبیولوژیکی مختلف برای توضیح اثربخشی عوامل ضد میکروبی به کرات گزارش شده است (Gonzalez-Fandos, Maya, & Martínez-Laorden, & Perez-Arnedo, 2020).

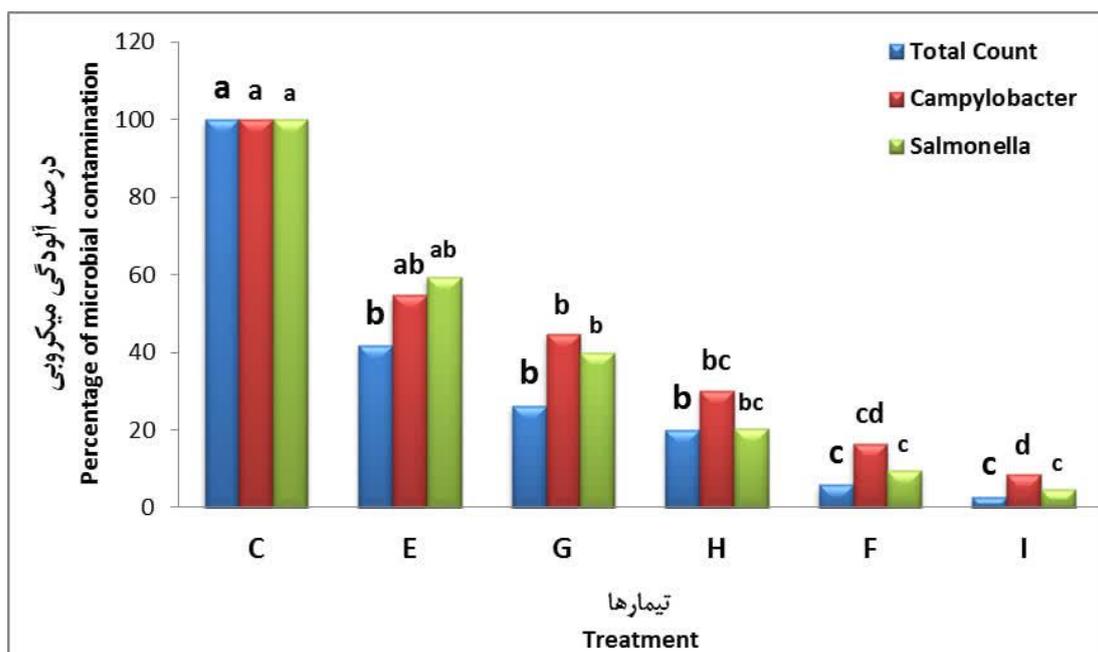
یافته‌های حاصل از جدول ۳ نشان می‌دهد که میانگین شمارش کلی باکتری‌ها و کمپیلوباکتر پس از اعمال اکثر تیمارها در زمان‌های ۵ و ۱۰ دقیقه، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشتند ( $P < 0.05$ ). همانطور که مشخص است اعمال تیمارها در کاهش بار میکروبی، در هر دو بازه زمانی به شکل مؤثری عمل کردند، ولی افزایش زمان از ۵ به ۱۰ دقیقه، تأثیری در کاهش بیش‌تر در شمارش باکتریایی نداشت ( $P > 0.05$ ). در این تحقیق مشخص شد که هرچند که روند کاهش در میزان آلودگی باکتری‌ها در دو زمان متفاوت بود، اما افزایش زمان تیمار از ۵ به ۱۰ دقیقه اثر معنی‌دار در کاهش میزان آلودگی نداشت که این امر نشان‌دهنده آن است که بخش اعظم اثر ضدباکتریایی تیمارها در دقایق اولیه حاصل شده و احتمالاً با گذشت زمان به اشباع اثر رسیده است، به‌گونه‌ای که افزایش زمان، اثر قابل توجهی در کاهش میزان آلودگی ایجاد نکرد. مشابه این یافته‌ها در مطالعات پیشین نیز گزارش شده است. مطالعه‌ی زانگ و همکاران (Zhang et al., 2022) نشان داد که استفاده از میدان الکتریکی پالسی در کاهش کمپیلوباکتر ژرونی در مرغ، در دقایق ابتدایی اثرگذار بوده و افزایش زمان تیمار تأثیری بر کاهش بیشتر باکتری نداشت. در تحقیق نوویچچوک و همکاران (Novickij et al., 2019) نیز نتایج حاکی از آن است که کاهش بار میکروبی تحت تأثیر تیمارهای غیرحرارتی (نظیر میدان الکتریکی پالسی یا ترکیبات ضد میکروبی طبیعی) بیشتر از اینکه به مدت تماس‌دهی بستگی داشته باشد، با شدت و نوع تیمار ارتباط دارد، چرا که باکتری‌ها در مدت زمان کوتاه به آستانه آسیب ساختاری می‌رسند و افزایش زمان تنها در مواردی با دوز پایین‌تر می‌تواند مؤثرتر باشد.

میانگین درصد آلودگی به *سالمونلا* در گروه کنترل برابر با ۴۲ درصد بود، که این میزان در تیمارهای با سطوح بالاتر (غلظت بالاتر- زمان بالاتر ازن و اسید لاکتیک، و فرکانس بالاتر- زمان طولانی‌تر میدان الکتریکی پالسی) کاهش بیشتری در مقایسه با تیمارهای با سطوح پایین‌تر (غلظت کمتر- زمان کوتاه‌تر ازن و اسید لاکتیک، و فرکانس پایین‌تر- زمان کوتاه‌تر میدان الکتریکی پالسی) نشان داد، که این امر بیانگر وجود رابطه‌ای وابسته به دوز میان افزایش غلظت ترکیبات و اثربخشی ضدباکتریایی آن‌ها است. مطالعات متعددی در

همانگونه که در جدول ۳ مشاهده می‌شود افزایش سطوح تیمارها (غلظت ازن، غلظت اسید لاکتیک و فرکانس میدان الکتریکی پالسی) باعث کاهش بیشتر شمارش میکروبی شد. ارتباط مثبت بین غلظت مواد فعال و کارایی بالاتر در کاهش آلودگی میکروبی با مکانیسم عمل بسیاری از عوامل زیست‌فعال در ارتباط است، به‌گونه‌ای که افزایش غلظت باعث تخریب بیشتر غشاهای سلولی میکروب‌ها، اختلال در فرآیندهای متابولیکی و در نهایت مرگ سلولی می‌شود. این موضوع در مطالعات پیشین نیز گزارش شده است. برای مثال، در مطالعاتی که اثر ضد باکتریایی اسید لاکتیک و گاز ازن بر باکتری‌های باکتری بیماری‌زا طیور بررسی شد، رابطه مستقیم میان افزایش غلظت این مواد و کاهش بار میکروبی به اثبات رسیده است (Wang et al., 2019). حبیب (Habeb, 2018) گزارش نمود که ترکیبات لاکتات سدیم، اسید لاکتیک و اسید استیک، چه به‌صورت مجزا و چه به‌صورت ترکیبی، توانستند کاهش قابل توجهی را در میزان آلودگی *سالمونلا* روی سطح ران مرغ ایجاد کنند. اثر ترکیبی این اسیدها به‌وضوح بیشتر از تأثیر هر یک به تنهایی بود، که این امر نشان‌دهنده وجود هم‌افزایی در فعالیت ضدباکتریایی آن‌هاست. همچنین، نتایج آن‌ها نشان‌دهنده رابطه‌ی دوز-وابسته بود؛ به‌گونه‌ای که با افزایش غلظت ترکیبات، میزان کاهش آلودگی به *سالمونلا* به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین، کاربرد میدان الکتریکی پالسی با ولتاژهای بالا و به‌صورت ترکیبی با عوامل ضد میکروبی توانسته است کاهش چشمگیری در میزان میکروارگانیزم‌ها به همراه داشته باشد (Aşık-Canbaz et al., 2022). در همین راستا، نتایج مطالعه‌ی سلیمنت و همکاران (Clemente et al., 2020) نشان داد که استفاده از میدان الکتریکی پالسی به‌تنهایی قادر است کاهش قابل توجهی در شمارش کمپیلوباکتر ژرونی<sup>۱</sup> در محیط‌های مایع ایجاد کند، به‌طوری‌که اعمال شدت میدان بالا و مدت زمان کافی منجر به کاهش چندین لگاریتمی جمعیت این باکتری می‌شود. اما با این حال، اثر این تیمار به‌تنهایی بر روی مرغ خام محدود بوده و کاهش معنی‌داری در جمعیت باکتری‌ها مشاهده نشده که این امر نشان‌دهنده چالش‌های نفوذپذیری این روش در ساختار پیچیده گوشت است. ترکیب میدان الکتریکی پالسی با ترکیبات ضدباکتریایی مانند اسید استیک و اسید فرمیک اثربخشی بیشتری در غیرفعال‌سازی/کاهش باکتری و سایر میکروارگانیزم‌های هدف داشت زیرا این ترکیبات با افزایش نفوذپذیری غشای سلولی، اثر ضدباکتریایی میدان الکتریکی پالسی را تقویت کرده و منجر به تخریب سریع‌تر و مؤثرتر باکتری‌ها می‌گردند. علت اصلی این رابطه مثبت میان غلظت و کارایی، با ویژگی‌های ساختاری و عملکردی سلول‌های میکروبی مرتبط است. در حقیقت، غشاهای سلولی با افزایش غلظت تیمارها بیشتر تحت

فناوری‌های نوین، از جمله اسیدهای آلی، میدان‌های الکتریکی پالسی و اوزونیزه کردن را در کاهش میزان آلودگی *سالمونلا* در گوشت طیور تأیید کردند (Barroug, Chaple, & Bourke, 2021). زانگ و همکاران (Zhang et al., 2020) نشان دادند که ترکیب اسید لاکتیک با فناوری میدان الکتریکی پالسی می‌تواند بیش از ۵۰ درصد از میزان آلودگی *سالمونلا* در سیستم‌های غذایی را در زمان کوتاهی کاهش دهد، که این میزان با یافته‌های مطالعه حاضر (کاهش ۵۳ درصدی در ۵ دقیقه) مطابقت داشت. همچنین در تحقیق دیگری، کاروالهو و همکاران (Carvalho et al., 2022) با بررسی اثر زمان تیمار روی فعالیت ضدباکتریایی اسیدهای آلی علیه باکتری بیماری‌زاهای غذایی گزارش کردند که افزایش زمان تماس تا حدی اثربخشی را افزایش می‌دهد، اما پس از رسیدن به یک نقطه اشباع، افزایش بیشتر زمان تأثیر چندانی ندارد؛ این موضوع در مطالعه حاضر نیز مشاهده شد، اگرچه کاهش میزان آلودگی *سالمونلا* در بازه زمانی بین ۵ تا ۱۰ دقیقه معنی‌دار گزارش شد، اما شدت این کاهش به اندازه افت قابل توجهی که در پنج دقیقه نخست مشاهده شد، چشمگیر نبود.

سال‌های اخیر نشان داده است که استفاده از ترکیبات ضدباکتریایی طبیعی و اسیدهای آلی به‌خصوص اسید لاکتیک، اسید استیک و نمک‌های لاکتات، توانسته‌اند به‌طور مؤثری جمعیت *سالمونلا* در محصولات گوشتی را کاهش دهند (El-Saadony et al., 2022). در همین رابطه، پژوهش توماس و همکاران (Thomas et al., 2020) اثربخشی اسید لاکتیک و ترکیبات آلی دیگر را در کاهش رشد *سالمونلا* در گوشت مرغ گزارش کردند که نتایج آنها مؤید آن است که افزایش دوز این ترکیبات، با کاهش مؤثر رشد باکتری بیماری‌زا همراه بوده که با یافته‌های مطالعه حاضر در خصوص وابستگی اثر غیرفعال‌کنندگی به میزان دوز، هم‌راستا می‌باشد. همچنین، هیلمی و همکاران (Hilmi et al., 2024) با بررسی اثر ترکیبی اسید لاکتیک و نانوذرات نقره، کاهش قابل توجهی در میزان آلودگی *سالمونلا* مشاهده نمودند که نشان‌دهنده نقش مهم اثرات سینرژیک در افزایش کارایی ضدباکتریایی است. یافته‌های این تحقیق حاکی از آن بود که انجام تیمارها به مدت ۵ دقیقه توانست بیش از نیمی از جمعیت *سالمونلا* را کاهش دهد و افزایش زمان تیمار به ۱۰ دقیقه، منجر به کاهش بیشتر این باکتری بیماری‌زا شد ( $P < 0.05$ ). مطالعات پیشین نیز اثربخشی ترکیبات ضدباکتریایی و



شکل ۲- میانگین درصد کاهش شمارش کلی باکتری‌ها، شمارش کمپیلوباکتر (تعداد واحد کلنی در هر گرم نمونه) و آلودگی *سالمونلا* (درصد) با اعمال هر یک از تیمارها نسبت به گروه کنترل

Fig. 2. Average percentage reduction in total bacterial count, Campylobacter count (number of colony-forming units per gram of sample), and Salmonella contamination (percentage) with each treatment compared to the control group

(F) بیشترین اثر را در کاهش آلودگی میکروبی لاشه‌های طیور داشتند. این مسئله می‌تواند به‌دلیل مکانیسم عملکرد متفاوت و مکمل این

یافته‌های شکل ۲ نشان می‌دهد که در میان روش‌های بررسی شده، استفاده از پودر بیخ (E) کمترین و تیمار ترکیبی (I) و اسید لاکتیک

۵ به ۱۰ دقیقه، تأثیر بیشتری بر کاهش این باکتری‌ها نداشت ( $P > 0.05$ ). اما همین زمان ۵ دقیقه بیش از نیمی از جمعیت *سالمونلا* را کاهش داد، و با افزایش زمان تیمار به ۱۰ دقیقه، کاهش بیشتری در *سالمونلا* را به همراه داشت ( $P < 0.05$ ). از آنجاکه اعمال هر یک از تیمارها در سطوح بالاتر ممکن است با اثرات جانبی زیان‌آور همراه باشد، به‌کارگیری همزمان آن‌ها (اثر ترکیبی) در دوزهای پایین‌تر، راهکاری مناسب برای دستیابی به اثربخشی مطلوب بدون به خطر انداختن کیفیت محصول یا ایمنی مصرف‌کننده به‌شمار می‌رود. با این حال، احتمال وقوع برهم‌کنش‌های فیزیکی و شیمیایی بین تیمارهای ترکیبی نظیر تشکیل یون‌های آزاد یا بارهای الکتریکی می‌تواند منجر به کاهش یا خنثی شدن اثرات سینرژیک گردد. از این‌رو، انجام مطالعات تکمیلی جهت روشن‌سازی مکانیسم‌های اثر، بررسی پایداری ترکیب تیمارها و تعیین شرایط بهینه اجرای آن‌ها در مقیاس صنعتی، امری ضروری به نظر می‌رسد. در مجموع، یافته‌های این تحقیق بیانگر آن است که استفاده از فناوری‌های نوین ترکیبی می‌تواند به‌عنوان یک رویکرد مؤثر، ایمن و قابل اعمال در مقیاس صنعتی، در راستای کاهش آلودگی میکروبی لاشه طیور و بهبود ایمنی مواد غذایی در زنجیره تولید، پردازش و عرضه فرآورده‌های دامی به‌کار گرفته شود.

### میزان مشارکت نویسندگان

**حمدالله مشتاقی:** تهیه پروپوزال، تصحیح و ویرایش متن نوشتاری پروژه. **امیر شفیعی:** انجام پروژه و تأمین بخشی از منابع. **مجتبی بنیادیان:** کمک در انجام کار آماری.

### منابع تأمین مالی

بودجه این کار توسط دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد پشتیبانی مالی شد.

عوامل باشد؛ اسید لاکتیک با کاهش pH سطح لاشه و ایجاد اختلال در فعالیت‌های متابولیک باکتری‌ها، محیط نامطلوبی برای رشد و بقای میکروارگانیسم‌ها ایجاد می‌کند. از سوی دیگر، میدان الکتریکی پالسی با ایجاد ایجاد منفذ یا تخریب در ساختار غشای سلولی باکتری‌ها، نفوذپذیری را افزایش داده و مرگ سلولی را تحریک می‌کند. هنگام کاربرد همزمان این دو عامل، اختلال در ساختار غشایی با اثر بازدارندگی اسید لاکتیک ترکیب شده و اثر سینرژیستی بر کاهش بار میکروبی ایجاد می‌گردد (Manzoor et al., 2020). همانطور که ملاحظه می‌شود روش ترکیبی توانست تعداد کل باکتری‌ها و تعداد کمپیلوباکتر را به ترتیب به میزان ۹۷ و ۹۱ درصد نسبت به گروه کنترل (تعداد واحد کلنی در هر گرم نمونه) و میزان *سالمونلا* را ۹۵ درصد نسبت به گروه کنترل کاهش دهد.

### نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که لاشه‌های طیور کشتارگاه از نظر بار کلی میکروبی و حضور باکتری بیماری‌زاهای شاخص، به‌ویژه *سالمونلا* و کمپیلوباکتر، در سطح نسبتاً بالایی از آلودگی قرار داشتند؛ به‌گونه‌ای که مقادیر به‌دست‌آمده تا حدودی نزدیک به حدود مجاز تعیین شده در ضوابط بهداشتی سازمان دامپزشکی کشور بودند. در این تحقیق، تیمار اسید لاکتیک در بالاترین سطوح مورد بررسی (۱-۱۰ دقیقه) و روش ترکیبی در بالاترین سطوح تمامی تیمارها به ترتیب به مقدار  $1/58 \log \text{cfu/g}$  و  $1/90 \log \text{cfu/g}$  در کاهش بار کلی میکروبی، و  $1/02 \log \text{cfu/g}$  و  $1/39 \log \text{cfu/g}$  در کاهش شمارش کمپیلوباکتر بیشترین اثربخشی را در مقایسه با سایر تیمارها داشتند. همچنین، یافته‌های این پژوهش نشان داد که تیمارهای اعمال شده منجر به کاهش معنی‌داری در شمارش کلی باکتری‌ها و کمپیلوباکتر در زمان‌های ۵ و ۱۰ دقیقه شدند ( $P < 0.05$ )، اگرچه افزایش زمان تیمار از

### References

- Alali, W.Q., & Hofacre, C.L. (2018). Preharvest food safety in broiler chicken production. *Preharvest Food Safety*, 69-86. <https://doi.org/10.1128/9781555819644.ch4>
- Aşık-Canbaz, E., Çömlekçi, S., & Can Seydim, A. (2022). Effect of moderate intensity pulsed electric field on shelf-life of chicken breast meat. *British Poultry Science*, 63(5), 641-649. <https://doi.org/10.1080/00071668.2022.2051431>
- Bai, Y., Ding, X., Zhao, Q., Sun, H., Li, T., Li, Z., Wang, H., Zhang, L., Zhang, C., & Xu, S. (2022). Development of an organic acid compound disinfectant to control food-borne pathogens and its application in chicken slaughterhouses. *Poultry Science*, 101(6), 101842. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.101842>
- Barroug, S., Chaple, S., & Bourke, P. (2021). Combination of natural compounds with novel non-thermal technologies for poultry products: a review. *Frontiers in Nutrition*, 8, 628723. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.628723>
- Baptista, E., Borges, A., Aymerich, T., Alves, S.P., Gama, L.T., Fernandes, H., Fernandes, M.J., & Fraqueza, M.J. (2022). Pulsed light application for *Campylobacter* control on poultry meat and its effect on colour and volatile profile. *Foods*, 11(18), 2848. <https://doi.org/10.3390/foods11182848>

6. Boubendir, S., Arsenault, J., Quessy, S., Thibodeau, A., Fravalo, P., Thériault, W.P., Fournaise, S., & Gaucher, M.L. (2021). *Salmonella* contamination of broiler chicken carcasses at critical steps of the slaughter process and in the environment of two slaughter plants: prevalence, genetic profiles, and association with the final carcass status. *Journal of Food Protection*, 84(2), 321-332. <https://doi.org/10.4315/JFP-20-250>
7. Carvalho, D., Menezes, R., Chitolina, G.Z., Kunert-Filho, H.C., Wilsmann, D.E., Borges, K.A., Furian, T.Q., Salle, C.T.P., Moraes, H.L.D.S., & do Nascimento, V.P. (2022). Antibiofilm activity of the biosurfactant and organic acids against foodborne pathogens at different temperatures, times of contact, and concentrations. *Brazilian Journal of Microbiology*, 53(2), 1051-1064. <https://doi.org/10.1007/s42770-022-00714-4>
8. Clemente, I., Condón-Abanto, S., Pedrós-Garrido, S., Whyte, P., & Lyng, J.G. (2020). Efficacy of pulsed electric fields and antimicrobial compounds used alone and in combination for the inactivation of *Campylobacter jejuni* in liquids and raw chicken. *Food Control*, 107, 106491. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.01.017>
9. Dantas, S.T., Camargo, C.H., Tiba-Casas, M.R., Vivian, R.C., Pinto, J.P., Pantoja, J.C., Hernandez, R.T., Júnior, A.F., & Rall, V.L. (2020). Environmental persistence and virulence of *Salmonella* spp. Isolated from a poultry slaughterhouse. *Food Research International*, 129, 108835. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108835>
10. Djeflal, S., Mamache, B., Elgroud, R., Hireche, S., & Bouaziz, O. (2018). Prevalence and risk factors for *Salmonella* spp. contamination in broiler chicken farms and slaughterhouses in the northeast of Algeria. *Veterinary World*, 11(8), 1102. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.1102-1108>
11. El-Saadony, M.T., Salem, H.M., El-Tahan, A.M., Abd El-Mageed, T.A., Soliman, S.M., Khafaga, A.F., Swelum, A.A., Ahmed, A.E., Alshammari, F.A., & Abd El-Hack, M.E. (2022). The control of poultry salmonellosis using organic agents: an updated overview. *Poultry Science*, 101(4), 101716. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.101716>
12. Golden, C.E., Rothrock Jr, M.J., & Mishra, A. (2021). Mapping foodborne pathogen contamination throughout the conventional and alternative poultry supply chains. *Poultry Science*, 100(7), 101157. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101157>
13. Gonzalez-Fandos, E., Maya, N., Martínez-Laorden, A., & Perez-Arnedo, I. (2020). Efficacy of lactic acid and modified atmosphere packaging against *Campylobacter jejuni* on chicken during refrigerated storage. *Foods*, 9(1), 109. <https://doi.org/10.3390/foods9010109>
14. Habeeb, G.A.H. (2020). The effects of sodium lactate, lactic acid and acetic acid, alone or in combination, on improving the shelf life of chicken drumstick and the survival of *Salmonella* spp. inoculated on the chicken drumstick (Master's thesis, Sağlık Bilimleri Enstitüsü). <https://doi.org/10.26873/svr-955-2020>
15. Hilmi, M., Zuprizal, D.N., & Ariyadi, B. (2024). Silver nanoparticles as an antibacterial candidate for poultry: An alternative to synthetic antibiotics. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 12(11), 2136-2143. <https://doi.org/10.17582/journal.aavs/2024/12.11.2136.2143>
16. ISIRI-9661/1. (2006). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. In *Detection method* (Vol. 9661, pp. 30). Islamic Republic of Iran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran. <https://doi.org/10.3403/30112075>
17. ISIRI 1810. (2010). Microbiology of food and animal feeding stuffs — Method for detection of *Salmonella* spp. (Vol. 1810, p. 30). Tehran, Iran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran. <https://doi.org/10.3403/02663250u>
18. IVO. (2020). *Animal Slaughterhouses Process Hygiene Criteria Self Control*. Iran veterinary organization: IVO
19. Kazemi Taskooh, N., Haddad Khodaparast, M.H., Varidi, M.J., & Tabatabaai Yazdi, F. (2016). The effect of combined aqueous ozone and lactic acid treatment for control of microbial contamination of poultry carcass in immersion chiller of slaughterhouse. *Research and Innovation in Food Science and Technology*, 5(2), 211-220. <https://doi.org/10.22101/JRIFST.2016.09.17.528>
20. Lee, Y., & Yoon, Y. (2024). Principles and applications of non-thermal technologies for meat decontamination. *Food Science of Animal Resources*, 44(1), 19. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2023.e72>
21. Manzoor, A., Jaspal, M.H., Yaqub, T., Haq, A.U., Nasir, J., Avais, M., Asghar, B., Badar, I.H., Ahmad, S., & Yar, M.K. (2020). Effect of lactic acid spray on microbial and quality parameters of buffalo meat. *Meat Science*, 159, 107923. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107923>
22. Megahed, A., Aldridge, B., & Lowe, J. (2020). Antimicrobial efficacy of aqueous ozone and ozone–lactic acid blend on *Salmonella*-contaminated chicken drumsticks using multiple sequential soaking and spraying approaches. *Frontiers in Microbiology*, 11, 593911. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.593911>
23. Monica, V., Rajan, A., & Mahendran, R. (2024). Novel disinfectant technologies applications for the food industries. In *Non-Thermal Technologies for the Food Industry* (pp. 300-315). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003359302-19>
24. Novickij, V., Lastauskienė, E., Staigvila, G., Girkontaitė, I., Zinkevičienė, A., Švedienė, J., ... & Novickij, J. (2019). Low concentrations of acetic and formic acids enhance the inactivation of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* with pulsed electric fields. *BMC Microbiology*, 19, 1-7. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1447-1>

25. Qian, J., Zhuang, H., Nasiru, M.M., Muhammad, U., Zhang, J., & Yan, W. (2019). Action of plasma-activated lactic acid on the inactivation of inoculated *Salmonella Enteritidis* and quality of beef. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 57, 102196. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102196>
26. Rahimian, Y., Moeini, M., Kheiri, F., & Davoodi, S.M. (2019). The effect of cold water chilling, hydrogen peroxide solution and ozone therapy in reducing microbial load of poultry carcasses.
27. Ramirez-Hernandez, A., Brashears, M.M., & Sanchez-Plata, M.X. (2018). Efficacy of lactic acid, lactic acid-acetic acid blends, and peracetic acid to reduce *Salmonella* on chicken parts under simulated commercial processing conditions. *Journal of Food Protection*, 81(1), 17-24. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-087>
28. Roobab, U., Madni, G.M., Ranjha, M.M.A.N., Khan, A.W., Selim, S., Almuhayawi, M.S., Samy, M., Zeng, X.A., & Aadil, R.M. (2023). Applications of water activated by ozone, electrolysis, or gas plasma for microbial decontamination of raw and processed meat. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 7, 1007967.
29. Song, X., Wang, H., & Xu, X. (2021). Investigation of microbial contamination in a chicken slaughterhouse environment. *Journal of Food Science*, 86(8), 3598-3610. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15842>
30. Stęczny, K., & Kokoszyński, D. (2021). Effect of probiotic preparations (EM) on productive characteristics, carcass composition, and microbial contamination in a commercial broiler chicken farm. *Animal Biotechnology*, 32(6), 758-765. <https://doi.org/10.1080/10495398.2020.1754841>
31. Thomas, C., Schönknecht, A., Püning, C., Alter, T., Martin, A., & Bandick, N. (2020). Effect of peracetic acid solutions and lactic acid on microorganisms in on-line reprocessing systems for chicken slaughter plants. *Journal of Food Protection*, 83(4), 615-620. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-19-350>
32. Vargas, D.A., Casas, D.E., Chávez-Velado, D.R., Jiménez, R.L., Betancourt-Barszcz, G.K., Randazzo, E., Lynn, D., Echeverry, A., Brashears, M.M., Sánchez-Plata, M.X., & Miller, M.F. (2021). In-plant intervention validation of a novel ozone generation technology (Bio-safe) compared to lactic acid in variety meats. *Foods*, 10(9), 2106. <https://doi.org/10.3390/foods10092106>
33. Wang, J., Wang, S., Sun, Y., Li, C., Li, Y., Zhang, Q., & Wu, Z. (2019). Reduction of *Escherichia coli* O157: H7 and naturally present microbes on fresh-cut lettuce using lactic acid and aqueous ozone. *RSC advances*, 9(39), 22636-22643. <https://doi.org/10.1039/C9RA03544C>
34. Werlang, G.O., Kich, J.D., Lopes, G.V., Coldebella, A., Feddern, V., & Cardoso, M. (2022). Effect of gaseous ozone application during chilling on microbial and quality attributes of pig carcasses. *Food Science and Technology International*, 28(4), 366-376. <https://doi.org/10.1177/10820132211014985>
35. Zhang, H., Tikekar, R.V., Ding, Q., Gilbert, A.R., & Wimsatt, S.T. (2020). Inactivation of foodborne pathogens by the synergistic combinations of food processing technologies and food-grade compounds. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(4), 2110-2138. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12582>
36. Zhang, C., Zhao, W., & Yang, R. (2022). Response of foodborne pathogens to pulse electric fields. In *Stress Responses of Foodborne Pathogens* (pp. 251-280). Cham: Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-90578-1\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-030-90578-1_9)



# Contents

## Research Articles

- Effect of Surfactant Type on the Properties of Peanut Oil-based Oleogels and Their Functionality in Butter Cake** 477  
S.M. Najibi Hosseini, B. Ghanbarzadeh
- Investigation of the Effect of Post-harvest Treatment with Water and Disinfectant Agents Activated by Cold Plasma on Certain Physicochemical Properties of Oranges** 497  
S.F. Hossieni, S.J. Hashemi, A. Ranjbar Nedamani, F. Sohbatzadeh
- Green Synthesis of ZnO Nanoparticles by Using Propolis Extract and Its Application in Preparation of Biodegradable Active Film Based on Whey Protein Isolate** 511  
B. Imani, H. Almasi, M.K. Pirouzifard, H. Nourbakhsh
- Investigating the Interaction between Cyanidin-3-Glucoside and Grass Pea (*Lathyrus sativus* L.) Protein Isolate in Acidic Conditions via Fluorescence Quenching Approach** 529  
S.H. Razavizadegan Jahromi, R. Farhoosh
- Evaluation of Quality Attributes and Antioxidant Changes of Button Mushrooms Coated with Gum Arabic, Starch and Ascorbic Acid during Cold Storage** 549  
F. Amighi, F. Heidari Dalfard, A. Sadeghi

## Short Articles

- Assessment of Methods to Control and Reducing the Indicator Pathogenic Bacteria Contamination in Poultry Carcasses during the Slaughter Process** 569  
A. Shafiee Dastgerdi, H. Moshtaghi, M. Bonyadian

# Iranian Food Science and Technology Research Journal

**Vol. 21**

**No. 5**

**2025**

<b>Published by:</b>	Ferdowsi University of Mashhad, (College of Agriculture), Iran
<b>Executive Manager:</b>	N. Shahnoushi, Department of Agricultural Economics, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
<b>Editor-in-Chief:</b>	M. Yavarmanesh, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
<b>Editorial Board:</b>	
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

<b>Publisher</b>	Ferdowsi University of Mashhad
<b>Address:</b>	College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
<b>P.O.BOX:</b>	91775- 1163
<b>Fax:</b>	(98)051-38787430
<b>E-Mail:</b>	ifstrj@um.ac.ir
<b>Web Site:</b>	<a href="https://ifstrj.um.ac.ir">https://ifstrj.um.ac.ir</a>



# Iranian Food Science and Technology Research Journal



Vol.21 No.5

2025

ISSN:1735-4161

## Contents

### Research Articles

**Effect of Surfactant Type on the Properties of Peanut Oil-based Oleogels and Their Functionality in Butter Cake..... 477**  
S.M. Najibi Hosseini, B. Ghanbarzadeh

**Investigation of the Effect of Post-harvest Treatment with Water and Disinfectant Agents Activated by Cold Plasma on Certain Physicochemical Properties of Oranges..... 497**  
S.F. Hossieni, S.J. Hashemi, A. Ranjbar Nedamani, F. Sohbatzadeh

**Green Synthesis of ZnO Nanoparticles by Using Propolis Extract and Its Application in Preparation of Biodegradable Active Film Based on Whey Protein Isolate ..... 511**  
B. Imani, H. Almasi, M.K. Pirouzifard, H. Nourbakhsh

**Investigating the Interaction between Cyanidin-3-Glucoside and Grass Pea (*Lathyrus sativus* L.) Protein Isolate in Acidic Conditions via Fluorescence Quenching Approach ..... 529**  
S.H. Razavizadegan Jahromi, R. Farhoosh

**Evaluation of Quality Attributes and Antioxidant Changes of Button Mushrooms Coated with Gum Arabic, Starch and Ascorbic Acid during Cold Storage ..... 549**  
F. Amighi, F. Heidari Dalfard, A. Sadeghi

### Short Articles

**Assessment of Methods to Control and Reducing the Indicator Pathogenic Bacteria Contamination in Poultry Carcasses during the Slaughter Process ..... 569**  
A. Shafiee Dastgerdi, H. Moshtaghi, M. Bonyadian