

پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی

جلد ۸، شماره ۲، سال ۱۳۹۸

شاپا: ۲۲۵۲-۰۹۳۷ (چاپی)، ۲۳۵۷-۲۵۳۸ (الکترونیکی)

فهرست مطالب

ارزیابی رهایش و اینلین از ریزکپسول‌های چندلایه تحت شرایط شبیه‌سازی شده دهان ۱۱۱
محبت محبی، مهدی وردی، محمد نوشاد، محمد خلیلیان موحد

بینه‌سازی فرایند استخراج زلاتین، از ضایعات پوست گوسفند با استفاده از آنزیم آلکالاز به روش سطح پاسخ .. ۱۲۵
مهدى زارعى، مصطفى مظاهري تهرانى، حسن رشيدى، محسن فتحى نجفى

مدل‌سازی و بهینه‌یابی خصوصیات فیزیکو‌شیمیایی، حسی و قابلیت زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس
در پنیر فراپاپالوده سین‌بیوتیک حاوی آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی، محلول پودر آب‌پنیر و اینولین ۱۳۷
فرشتهه ترابي، حسين جوينده، محمد نوشاد، حسن بزرگ

بررسی اثر آنتی‌اکسیدان و نگهدارنده‌ها بر ویژگی‌های اکسایشی و میکروبی گرددو طی زمان ماندگاری .. ۱۵۱
مصطفی شهیدی نوقابی، راضیه نیازمند، مژده صراف، مهناز شهیدی نوقابی

اثر نسبت امولسیون حاوی قند‌های الکلی و اندازه ذرات بر مقاومت حرارتی و برخی ویژگی‌های فیزیکی و
حسی شکلات ۱۶۵
عبدالعلی اسماعلی، نارملأا آصفی، سمیرا یگانه‌زاد

کاربرد شبکه عصبی مصنوعی و آزمون غیر مغرب سی‌تی اسکن در تخمین مقدار کوفتگی گلابی در اثر اعمال
بارهای خارجی ۱۷۷
محسن آزادبخت، محمد واحدی ترشیزی

به کارگیری تبدیل موجک تصویر برای درجه‌بندی کیفی چای سبز به کمک الگوریتم‌های فرایابتکاری ۱۸۹
عادل بخشی پور زیارتگاهی، حماد ذرعی فروش، ایرج باقری

استفاده از جیره غذایی غنی‌شده با پودر تفاله لیمو برای پیشگیری از اکسیداسیون لیپیدی و پروتئینی ماهی
کپور طی نگهداری در یخچال ۲۰۱
الهام شعبانی، امیر سالاری، داور شاهسونی، حسن باغیشنی

نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی

جلد ۸، شماره ۲، سال ۱۳۹۸

شماره پروانه: ۹۲/۲۰۵۱۹

صاحب امتیاز: مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی

مدیر مسئول: دکتر رسول کددخایی

دانشیار گروه نانوفناوری مواد غذایی مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی

سردیبیر: دکتر سیدعلی مرتضوی

استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

مدیر داخلی: دکتر سارا ناجی طبسی

استادیار گروه نانوفناوری مواد غذایی مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی

کارشناس اجرایی: طبیه شجاعی دوین

هیأت تحریریه:

استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

دکتر سیدعلی مرتضوی

استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

دکتر فخری شهریادی

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

دکتر قدیر رجبزاده

استاد گروه مهندسی شیمی دانشکده مهندسی دانشگاه ماهیدول تایلند

دکتر محمدنقی اشتیاقی

استاد گروه مهندسی شیمی صنایع غذایی دانشگاه صنعتی شریف

دکتر ایران عالمزاده

استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس

دکتر سلیمان عباسی

استاد گروه شیمی دارویی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

دکتر بی بی صدیقه فضلی بزار

استاد گروه مهندسی شیمی دانشکده مهندسی دانشگاه فردوسی مشهد

دکتر سید محمود موسوی

دانشیار گروه نانوفناوری مواد غذایی مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی

دکتر رسول کددخایی

دانشیار گروه زیستفناوری مواد غذایی مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی

دکتر مرضیه حسینی نژاد

عضو هیأت علمی دانشگاه متropoliten لندن

دکتر حمید بهادرقدوسی

عضو هیأت علمی دانشگاه چارلز استوارت استرالیا

دکتر عسگر فرحتاکی

استاد گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع

دکتر سیدمهدي جعفری

طبیعی گرگان

ناشر: مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی

شمارگان:

قیمت: ۲۵۰۰۰ ریال (دانشجویان ۱۲۵۰۰۰ ریال)

نشانی: مشهد، کیلومتر ۱۲ بزرگراه مشهد-قوچان، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، صندوق پستی: ۹۱۸۹۵/۱۵۷/۳۵۶

تلفن: ۰۵۱ - ۳۵۴۲۵۳۲۸-۹

پایگاه اینترنتی: <http://journals.rifst.ac.ir>

آدرس الکترونیکی: jrifst@rifst.ac.ir

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِيمِ

مندرجات

صفحه

عنوان مقالات

از زیابی رهایش و اینلین از ریزکپسول های چند لایه تحت شرایط شبیه سازی شده دهان ۱۱۱	محبت محبی، مهدی وریدی، محمد نوشاد، محمد خلیلیان موحد
بینه سازی فرایند استخراج ژلاتین، از ضایعات پوست گوسفند با استفاده از آنزیم آلکالاز به روش سطح پاسخ ۱۲۵	مهردی زارعی، مصطفی مظاہری تهرانی، حسن رشیدی، محسن فتحی نجفی
مدل سازی و بینه بابی خصوصیات فیزیکوشیمیابی، حسی و قابلیت زندگمانی باکتری لاکتوبراسیلوس اسیدوفیلوس در پنیر فرآپالوده سین بیوتیک حاوی آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی، محلول پودر آبپنیر و اینولین ۱۳۷	فرشته ترابی، حسین جوینده، محمد نوشاد، حسن برزگر
اثر آنتی اکسیدان و نگهدارنده ها بر ویژگی های اکسایشی و میکروبی گرد و طی زمان ماندگاری ۱۵۱	مصطفی شهیدی نوقابی، راضیه نیازمند، مژده صراف، مهناز شهیدی نوقابی
اثر نسبت امولسیون حاوی قندهای الکلی و اندازه ذرات بر مقاومت حرارتی و برخی ویژگی های فیزیکی و حسی شکلات ۱۶۵	عبدالعلی اسماعلی، نارملأ آصفی، سمیرا یگانهزاد
کاربرد شبکه عصبی مصنوعی و آزمون غیر مخرب سی تی اسکن در تخمین مقدار کوفتگی گلابی در اثر اعمال بارهای خارجی ۱۷۷	محسن آزادبخت، محمد واحدی ترشیزی
به کارگیری تبدیل موجک تصویر برای درجه بندی کیفی چای سبز به کمک الگوریتم های فرا ابتکاری ۱۸۹	عادل بخشی پور زیارتگاهی، حماد ذرعی فروش، ایرج باقری
استفاده از جیره غذایی غنی شده با پودر قالله لیمو برای پیشگیری از اکسیداسیون لیپیدی و پروتئینی ماهی کپور طی نگهداری در یخچال ۲۰۱	الهام شعبانی، امیر سalarی، داور شاهسونی، حسن باغیشنی

ارزیابی رهایش و اینلین از ریزکپسول‌های چندلایه تحت شرایط شبیه‌سازی شده دهان

محبت محبی^{۱*}، مهدی وربدی^۲، محمد نوشاد^۳، محمد خلیلیان موحد^۴

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

* نویسنده مسئول (m-mohebbi@um.ac.ir, mohebbatm@gmail.com)

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

۳- دانش آموخته دکتری مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۴- دانشجوی دکتری مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۵/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۲/۰۸

چکیده

واژه‌های کلیدی
دهان مصنوعی
رهایش
مدل سازی
وانیلین

در این پژوهش، رهایش وانیلین از ریزکپسول‌های چندلایه تشکیل شده از ایزوله پروتئین سویا، نشاسته اصلاح شده و کیتوزان که توسط خشک کن پاششی تولید شده بودند تحت شرایط مختلف بررسی گردید. ارزیابی رهایش با استفاده از یک شبیه‌ساز دهان بررسی شد. پارامترهای موردنظر شامل متغیرهای دهانی نظیر براز و دامنه تنفس وارد شده بر میزان رهایش وانیلین بود. برای بررسی نحوه رهایش وانیلین ریزکپسوله شده، رهایش این ریزکپسول‌ها (یک و دولایه) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و pH=۶/۸ و نیز تعداد دفعات جویدن (۰، ۳۰ و ۵۵ دور در دقیقه) مورد بررسی قرار گرفت. همچنین خصوصیات فیزیکوشیمیایی ریزکپسول‌ها مطالعه شد. نتایج بررسی رهایش ریزکپسول‌های یکلایه (ایزوله پروتئین سویا) و دولایه (نشاسته اصلاح شده) براساس معادله کورسمیر-پیاس حاکی از این بود که ریزکپسول‌های دولایه نسبت به ریزکپسول‌های یکلایه دارای ضریب نفوذ کمتری بودند که مقدار شاخص متوسط زمان انحلال (MDT) برای کپسول دولایه و یکلایه به ترتیب معادل ۱/۲۴ و ۱/۰۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد محاسبه گردید، سپس در شرایط یکسان (افروzen براز و تنفس برشی)، سرعت رهایش وانیلین از ریزکپسول‌های دولایه کمتر از ریزکپسول‌های یکلایه می‌باشد که این امر به دلیل پوشش نشاسته اصلاح شده اطراف پوسته‌ها و افزایش ضخامت پوسته ریزکپسول دولایه می‌باشد که باعث کاهش سرعت انتشار وانیلین از ریزکپسول‌های دولایه می‌شود.

این روش اجزای جامد، مایع یا گاز که به آنها ماده هسته نیز اطلاق می‌گردد، توسط مواد مختلفی که به آنها دیواره یا ماتریکس اطلاق می‌شود، پوشانده می‌شوند. معمولاً دیواره را به گونه‌ای می‌توان طراحی کرد که ریزکپسول‌ها محتویاتشان را با سرعت کنترل شده و تحت شرایط خاص

مقدمه

انسان همواره سعی کرده است ترکیبات ارزشمند غذایی، دارویی و مواد معطر حساس به عوامل محیطی را به روش‌های گوناگون پوشش داده و محافظت نماید. این پدیده را در مقیاس میکروسکوپی ریزپوشانی^۱ می‌نامند. در

^۱ Microencapsulation

موجود در دهان درنظرگرفته نشده است. به همین دلیل ساخت و استفاده از یک شبیه‌ساز کام و دهان می‌تواند نتایج موجود را به واقعیت نزدیک‌تر نماید (Salles *et al.*, 2007).

راهیش کنترل شده روشی است که در آن یک یا چند جزء در زمان و مکان مشخص و با سرعت دلخواه در دسترس قرار می‌گیرد. با استفاده از این تکنولوژی به کاربردن بعضی افزودنی‌های حساس به دما و pH از جمله ترکیبات طعم‌دهنده در سیستم‌های غذایی امکان‌پذیر شده است. ضمن اینکه این افزودنی‌ها در سرعت‌های کنترل شده و طی زمان‌های بیشتری آزاد می‌شوند (Pothakamury & Barbosa-Cánovas, 1995).

راهیش عطر و طعم از شبکه پیچیده مواد غذایی کار دشواری است، لذا اغلب به منظور توصیف فرایند آزادسازی ارتباط و واکنش متقابل بین مولکول‌های عطر و طعم و اجزاء غذایی در سیستم‌های مدل دوتایی و سه‌تایی مورد بررسی قرار می‌گیرد (Siefarth *et al.*, 2011).

دو نوع مهم راهیش، راهیش تأخیری و راهیش ثابت است. راهیش ثابت، مکانیسمی است که برای ثابت نگهداشتن غلظت ماده فعال در محل نهایی موردنظر طراحی شده است و از جمله می‌توان به راهیش شیرین‌کننده‌های پوشش‌دار در آدامس اشاره کرد. راهیش تأخیری، مکانیسمی است که راهیش مواد فعال از یک فاز تأخیری محدود تا زمانی که راهیش مطلوب است؛ به تأخیر انداخته می‌شود و مثال آن ریزپوشانی باکتری‌های پروبیوتیک در برابر اسید معده و راهیش در روده است (Lakkis, 2007).

به منظور تعیین ویژگی‌های انتقال جرمی میکروکپسول‌ها و برای پیش‌بینی راهیش و برازش باداده‌های تجربی به مدل‌های ریاضی معتبری نیازمندیم. مدل سازی راهیش همچنین در طراحی سیستم‌های ریزپوشانی (ماده، ساختار، اندازه و بارگذاری) و رسیدن به سرعت راهیش مطلوب حائز اهمیت است (Zuidam & Nedovic, 2010)؛ لذا یک سیستم انتقال موفق نه تنها به طراحی هوشمند یک شبکه برای بهدام‌انداختن ماده موردنظر، بلکه به مدل سازی ریاضی اولیه و دقیقی برای پیش‌بینی روند راهیش آن ماده نیاز دارد.

Ansarifar, Shahidi, Mohebbi, Koocheki و Ramezanian (۲۰۱۷) از روش انکپسولاسیون چندلایه با

آزاد نمایند (Jafari, Assadpoor, He, & Bhandari, 2008).

فرایند ریزپوشانی ترکیبات حساس لیپوفیل معمولاً در ۲ مرحله انجام می‌شود: ابتدا امولسیون ماده فعال مانند ترکیبات مولد طعم و بو در محلول ماده دیواره مانند یک پلی‌ساقارید یا پروتئین و یا ترکیب آمها تولید می‌شود. میزان باقی‌ماندن ترکیبات در داخل ریزکپسول‌ها به عوامل مختلفی نظیر وزن مولکولی، ویژگی‌های شیمیایی، قطبی یا غیرقطبی بودن و خصوصیات دیواره و فرایند مورد استفاده برای ریزپوشانی بستگی دارد (Jafari *et al.*, 2008).

در فرایند تولید امولسیون چندلایه، ابتدا برای تولید امولسیون اولیه از امولسیفایر یونی استفاده می‌شود که این امولسیفایرها طی فرایند هموژناسیون با جذب اطراف قطره‌های روغن باعث ایجاد و پایداری امولسیون می‌شوند؛ سپس با اضافه کردن محلول پلی‌کتروولیت (محلول پروتئین یا پلی‌ساقارید) با بار الکتریکی مخالف به امولسیون اولیه، امولسیون دوم ایجاد می‌شود که در این امولسیون قطره‌ها به وسیله دولایه احاطه شده‌اند. با استفاده از محلول پلی‌کتروولیت‌های مختلف و تکرار این فرایند می‌توان قطره‌های روغنی که به وسیله سه‌لایه یا بیشتر احاطه شده‌اند، تولید کرد. در این روش جذب لایه‌ها روی یکدیگر از طریق پیوند الکترواستاتیک می‌باشد (Benjamin, Silcock, Leus, & Everett, 2012; Grigoriev & Miller, 2009).

اولین قدم در راه گوارش غذا، خردکردن و جویدن مواد غذایی است که در آن مواد عطری و طعمی آزاد و توسط مصرف‌کننده حس می‌شود. در این مرحله مصرف‌کننده در ا بطه با خوب یا بد بودن مواد عطری و طعمی قضاوت می‌کند. آزادسازی عطر و طعم طی فرایند خوردن غذا به میزان زیادی به پارامترهای دهانی وابسته است. از این پارامترها می‌توان به دمای دهان، ترکیب و میزان بzac¹، نیروهای اصطکاکی، میزان مخلوط کردن، pH و عوامل متعدد دیگر اشاره نمود؛ بنابراین یک آزمون ساده آنالیز سرفنا² (برای ترکیبات عطری) و یا بررسی مایع استخراجی (برای ترکیبات طعمی) تنها نتایج محدودی را حاصل می‌نماید که در آنها شرایط و پدیده‌های دینامیکی

¹ Saliva

² Head space

کلرید کلسیم از شرکت سیگما و هیدروکسید سدیم، فسفات دی‌هیدروژن پتاسیم (KH_2PO_4)، فسفات هیدروژن دی‌پتاسیم (K_2HPO_4) و آنزیم آلفا-امیلاز (Code: 141783) از شرکت مرک آلمان با درجه خلوص حداقل ۹۹ درصد تهیه شدند. برای تهیه محلول‌ها از آب یون‌زادی شده ۲ بار تقطیر استفاده شد.

تهیه سوسپانسیون

برای تهیه محلول ایزوله پروتئین سویا، ابتدا مقدار پروتئین (۰ تا ۳ درصد) در بافر استات ۵ میلی‌مولار $\text{pH}=8/5$ (IKA) با استفاده از یک همزن مغناطیسی (Astafon، ساخت آلمان) به مدت ۵ دقیقه مخلوط شدند. مخلوط حاصل به مدت ۵ دقیقه و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد تحت تأثیر امواج فرا صوت (Schaper model Unique USC 25 kHz) قرار گرفت. سپس دیسپرسیون به دست آمده در $5000 \times g$ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. برای جذب حداکثر آب توسط پروتئین، محلول‌ها به مدت حداقل ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Huang, Sun, Xiao, & Yang, 2012).

برای تهیه محلول نشاسته، ابتدا مقدار نشاسته اصلاح شده اکتنیل سوکسینیک اینیدرید^۳ (۰-۳ درصد) موردنظر در بافر استات ۵ میلی‌مولار ($\text{pH}=7$) حل شدند و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم (۸۵ درجه سانتی‌گراد) دارای همزن قرار گرفتند، سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا جذب آب به طور کامل انجام شود (Nilsson & Bergenstähl, 2007).

برای تهیه محلول کیتوزان، مقدار پودر کیتوزان (۰ تا ۱/۵ درصد) به محلول بافر استات ۵ میلی‌مولار ($\text{pH}=4$) طی همزن مداوم اضافه شدند. سوسپانسیون‌های یادشده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا به طور کامل آب جذب نمایند (Chuah, Kuroiwa, Kobayashi, & Nakajima, 2009). برای تهیه تمام دیسپرسیون‌های فوق از آب دیونیزه استفاده شد.

تهیه امولسیون

تهیه امولسیون و تعیین نقاط بهینه ایزوله پروتئین سویا، کیتوزان و نشاسته طبق پژوهش‌های قبلی نویسنده‌گان

لایه‌های متناوب فیبریل سویا و پکتین با درجه متوكسیل بالا برای ریزپوشانی لیمونن استفاده کردند. آنها گزارش دادند که با افزایش لایه‌ها مقدار ضریب نفوذ کاهش یافته و سرعت رهایش لیمونن کم می‌شود.

Tong, Wang, Ye و Liu (2005) گزارش کردند در میکروکپسول‌های چندلایه آلثینات/کیتوزان زمانی که تعداد لایه‌ها از ۵ به ۲۰ افزایش می‌یابد ضریب نفوذ از $3/9 \times 10^{-9}$ تا $3/1 \times 10^{-9}$ سانتی‌متر مربع بر ثانیه کاهش یافته است.

Qiu, Leporatti و Mohwald (2001) برای ریزکپسول‌های چندلایه پلی‌استایرن سولفات‌ات/پلی‌آلیامین هیدروکلرید^۱ زمانی که تعداد لایه‌ها از ۱۰ به ۲۰ افزایش یافت، ضریب نفوذ دچار کاهش شد.

de Roos (2000) بیان کرد که دو پارامتر سرعت رهایش عطر و طعم از محصولات را کنترل می‌کند؛ یکی تعادل بین ترکیب معطر در ماتریس مواد غذایی (پارامتر ترمودینامیکی) و دوم مقاومت به انتقال جرم از محصول به هوا می‌باشد (پارامتر کینتیکی).

بنابراین هدف کلی این پژوهش عبارتند از ارزیابی رهایش و انیلین انکپسوله شده توسط ایزوله پروتئین سویا، نشاسته اصلاح شده و کیتوزان با استفاده از روش خشک کن پاششی، بررسی خصوصیات فیزیکو شیمیایی و ایجاد شرایط دهانی به منظور اندازه‌گیری تأثیر پارامترهای دهانی نظیر بzac و دامنه تنش وارد شده بر میزان رهایش و انیلین و مدل‌سازی رهایش می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی

نشاسته اصلاح شده با نام تجاری Hi Cap100 (نشاسته ذرت مومی با استخلاف‌های جانبی اکتنیل سوکسینات) از شرکت National Starch (آلمان)، کیتوزان (با وزن مولکولی حدود ۳۰۰ کیلودالتون و درجه داسیلاسیون ۹۰ درصد) از شرکت Bio basic Inc (ساخت کانادا)، ایزوله پروتئین سویا با ۸۴ درصد پروتئین از شرکت به پارس تهران و روغن آفتتاب‌گردان با نام تجاری فامیلا از بازار محلی تهیه شدند. وانیلین، بیکربنات سدیم (NaHCO_3)، کلرید سدیم (NaCl)، اسید‌هیدروکلریدریک ۳۷ درصد،

^۳ Octenyl Succinic Anhydride

^۱ Polystyrene Sulfonate/Polyallylamine Hydrochloride
^۲ Degree of Deacetylation

قبلی که برابر ۱۸۴ درجه سانتیگراد دمای ورودی خشک کن، غلظت $8/5$ درصد (وزنی/وزنی) مالتودکسترن و غلظت $0/36$ درصد (وزنی/وزنی) وانیلین بود، استفاده شد و ریزکپسول های دو و سه لایه نیز در همان شرایط بهینه خشک و تهیه شدند (Noshad et al., 2015).

محتوای نهایی رطوبت

محتوای رطوبتی ریزکپسول های تولید شده با استفاده از روش AOAC (۱۹۹۵)، محاسبه شد. برای این منظور نمونه ها در دمای 105 درجه سانتیگراد در آون (UNB400، ساخت آلمان) به مدت 6 ساعت نگهداری شدند.

راندمان ریزپوشانی

جهت محاسبه راندمان ریزپوشانی خارج قسمت مقدار وانیلین در پودر به مقدار آن در امولسیون اولیه مطابق رابطه (۱) محاسبه شد:

$$\text{رابطه (۱)} \quad R = \frac{W_1}{W_2} \times 100$$

$=$ راندمان ریزپوشانی

$\times (W_1 \text{ در امولسیون اولیه}) / (W_2 \text{ در پودر})$

به منظور تعیین مقدار وانیلین با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری، $1/0$ گرم از نمونه ها با 10 میلی لیتر اتانول در داخل لوله آزمایش درب پیچ دار مخلوط گردید. سپس ذرات پودر با کمک کاغذ صافی واتمن شماره 1 ، از حلال جدا شدند. سپس مقدار وانیلین موجود در نمونه در طول موج 231 نانومتر اندازه گیری شد. این ناحیه بیشینه طول موج جذبی وانیلین در دامنه 200 تا 600 نانومتر طیف نوری می باشد. منحنی استاندارد با استفاده از محلول های با غلظت مختلف وانیلین در اتانول رسم گردید. از نمونه اتانول نیز به عنوان شاهد برای جلوگیری از خطای جذب در دستگاه استفاده شد (Rodríguez, Wilderjans, Sosa, & Bernik, 2013).

حالیت

برای بررسی میزان حالیت ریزکپسول ها، از روش وزن سنجی استفاده شد. در این روش، ابتدا $0/5$ گرم از نمونه به 50 میلی لیتر آب مقطر اضافه و به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق به وسیله همزن همگن شد. سپس محلول

انجام گرفت که به صورت زیر می باشد:

در ابتدا با استفاده از همزن (Digital electrical stirrer-Tebazma) ساخت ایران) با سرعت 100 دور در دقیقه به مدت 1 دقیقه و در دمای اتاق وانیلین با روغن مخلوط شد. پس از تهیه دیسپرسیون ها، برای تهیه امولسیون چند لایه مرحله زیر انجام گرفت. ابتدا در pH= $3/5$ ، امولسیون اولیه که حاوی 5 درصد روغن آفتاب گردان و 95 درصد بافر استات حاوی غلظت 0 تا 3 درصد) ایزوله پروتئین سویا بود، تهیه شد. همگن سازی اولیه با استفاده از همگن ساز اولتراتوراکس (مدل T50، شرکت IKA، ساخت آلمان) با سرعت 18000 دور در دقیقه به مدت 2 دقیقه و در دمای اتاق انجام گردید و برای همگن سازی ثانویه امواج فرا صوت (مدل VCX750، شرکت Sonics & Material) ساخت آمریکا) در بیشینه توان اسمی دستگاه (750 وات) و فرکانس 20 کیلوهرتز به مدت 2 دقیقه به کاربرده شد. دمای نمونه در طول فرایند با چرخش مداوم آب سرد اطراف ظرف نمونه حدود 20 درجه سانتیگراد ثابت نگه داشته شد. مقدار بهینه ایزوله پروتئین سویا برای پایداری امولسیون اولیه طبق نتایج پژوهش های گذشته، درصد ایزوله پروتئین سویا در نظر گرفته شد (Noshad, Mohebbi, Shahidi, & Koocheki, 2015).

برای تهیه امولسیون دوم، امولسیون اولیه که حاوی 10 درصد روغن، 90 درصد بافر استات حاوی 1 درصد ایزوله پروتئین سویا بود، تهیه شد. سپس محلول نشاسته با غلظت $0/8$ درصد (Noshad et al., 2015) به نسبت $1/1$ به امولسیون اولیه اضافه شد. همگن سازی نمونه با استفاده از امواج فرما صوت به مدت 1 دقیقه انجام شد.

جهت تهیه امولسیون سوم، امولسیون دوم که حاوی غلظت 1 درصد ایزوله پروتئین سویا و $0/8$ درصد نشاسته اصلاح شده پایدار شده بود، تهیه شد. سپس محلول کیتوزان با غلظت $0/5$ درصد (Noshad et al., 2015) به امولسیون دوم اضافه شد به طوری که امولسیون سوم نیز حاوی 5 درصد روغن باشد.

تهیه ریزکپسول

برای تهیه ریزکپسول ها از خشک کن پاششی نیمه صنعتی (سروش، ساخت ایران) استفاده شد. برای این منظور ابتدا شرایط تولید ریزکپسول های یک لایه بهینه شده در کارهای

استفاده گردید (شکل ۱). تنظیم pH با استفاده از محلول‌های ۱/۰ نرمال اسیدکلریدریک و هیدروکسید سدیم انجام شد.



شکل ۱ - دستگاه شبیه‌ساز دهان

تولید بزاق با استفاده از روش Zandi (۲۰۱۴) انجام شد که فرمول آن به صورت ذیل می‌باشد:

- بی‌کربنات سدیم ۲۰ میلی‌مولار
- کلرید کلسیم ۱۵ میلی‌مولار
- فسفات دی‌هیدروژن پتاسیم ۱۲/۲ میلی‌مولار
- فسفات هیدروژن دی‌پتاسیم ۲/۷۵ میلی‌مولار
- آلفا‌آمیالز ۲۰۰ واحد آنزیم در هر میلی‌لیتر

طبق این فرمول باید pH نهایی بزاق مصنوعی تولیدی روی ۶/۸ تنظیم گردد.

نحوه رهایش وانیلین انکپسوله شده از ریزکپسول‌های یک و دولایه تولیدی در شرایط دهانی انجام پذیرفت. رهایش در این حالت در حضور بزاق مدل (مصنوعی) تولید شده، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در دو تنش برشی ۳۰ و ۵۵ معکوس ثانیه صورت گرفت. نسبت بزاق مصرفی به ریزکپسول نیز براساس پژوهش Zandi (۲۰۱۴) تعیین گردید، بدین صورت که ریزکپسول‌های پراکنده شده در آب مقطر (به نسبت ۱ به ۱۰) با بزاق به نسبت ۴ به ۱ مخلوط و رهایش بررسی شد.

برای رسم پروفایل رهایش وانیلین، در فواصل زمانی معین با استفاده از سرنگ مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از نمونه با استفاده از سرنگ برداشته و از کاغذ واتمن شماره ۱، عبور

تهیه شده به مدت ۵ دقیقه در ۳۰۰۰×g سانتریفیوژ شد و ۲۵ میلی‌لیتر از محلول به پتریدیش منتقل و تا تبخیر کامل آب و ثابت شدن وزن در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد در آون نگهداری شد. از اختلاف وزن قبل و بعد از آون برای اندازه‌گیری میزان حلalیت ریزکپسول‌ها استفاده شد (Rocha-Selmi, Bozza, Thomazini, 2013).

(Bolini, & Fávaro-Trindade, 2013)

۱- رطوبت‌پذیری^۱

برای این منظور حدود ۱ گرم از ریزکپسول‌ها را درون دسیکاتورهایی که حاوی محلول اشباع نمک طعام (رطوبت نسبی حدود ۷۵ درصد) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ هفته قرار دادیم. سپس رطوبت‌پذیری نمونه‌ها به صورت مقدار گرم آب جذب شده توسط ۱۰۰ گرم نمونه محاسبه شد (Comunian et al., 2013).

رهایش وانیلین از ریزکپسول‌ها در آب گرم

برای بررسی تأثیر حرارت بر میزان رهایش وانیلین در آب از روش Rocha-Selmi و همکاران (۲۰۱۳) استفاده شد. برای این منظور سوسپانسیون ۵ درصدی از ریزکپسول‌های یک، دو و سه‌لایه تهیه و در حمام آب گرم با دمای ۳۷ و ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس در فواصل زمانی صفر، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۷۵ و ۹۰ دقیقه مقدار وانیلین آزاد شده از ریزکپسول‌ها براساس روشی که برای اندازه‌گیری میزان راندمان ریزپوشانی (رابطه ۱) گفته شده، اندازه‌گیری شد.

رهایش وانیلین

پس از تولید ریزکپسول‌ها، نمونه‌های حاصل برای بررسی رهایش مورد آنالیز قرار گرفت. برای بررسی نحوه رهایش وانیلین انکپسوله شده، رهایش این ریزکپسول‌ها (یک و دولایه) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و pH=۶/۸ و نیز تعداد دفعات جویدن (۰، ۳۰ و ۵۵ دور در دقیقه) موربد بررسی قرار گرفت. برای اعمال دما و تنش برشی از دستگاه شبیه‌ساز دهان که توسط گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه فردوسی مشهد طراحی و ساخته شد،

^۱ Hygroscopicity

رابطه (۶)

$$\frac{M_t}{M_0} = 6 \left(\frac{Dt}{\pi R^2} \right)^{\frac{1}{2}} - \frac{3Dt}{R^2} \quad \frac{M_t}{M_0} < 0.4$$

در رابطه (۶)، t برابر زمان رهایش (برحسب ثانیه)، D نمایانگر ضریب نفوذ (برحسب مترمربع بر ثانیه)، M_t و M_0 به ترتیب برابر مقدار وانیلین رهایش یافته در زمان t و صفر و R نمایانگر شعاع ریزکپسول می‌باشد که شعاع ریزکپسول اول 71 mm سانتی‌متر و شعاع ریزکپسول دوم 74 mm سانتی‌متر توسط دستگاه انکسار نور لیزر (مدل Shimadzu SALD-2101) ساخت ژاپن) اندازه‌گیری شد.

آنالیز آماری و برآش نتایج

برآش داده‌ها با استفاده از معادله‌های ارائه شده به کمک نرم‌افزار متلب (نسخه a R2011a) صورت گرفت و بهترین مدل براساس اندازه‌گیری ضریب همبستگی^۱ انتخاب و Microsoft پیشنهاد گردید. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۳ رسم گردید.

نتایج و بحث

بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ریزکپسول‌ها جدول (۱)، مقادیر به دست آمده برای محتوای رطوبت نهایی، حلالیت، رطوبت‌پذیری و میزان راندمان ریزپوشانی برای ریزکپسول‌ها را نشان می‌دهد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود محتوای رطوبت نهایی ریزکپسول‌ها در بازه $2/32$ تا $3/61$ درصد می‌باشد که در بازه رطوبتی پودرهای Rocha-^(۲) تولید شده به روش خشک‌کن افشارهای می‌باشد (Selmi et al., 2013). اضافه کردن نشاسته اصلاح شده به امولسیون اولیه تأثیر معنی‌داری بر محتوای رطوبت نهایی ریزکپسول‌ها ندارد؛ درحالی‌که اضافه کردن کیتوzan به امولسیون دوم و تولید امولسیون سوم باعث کاهش محتوای رطوبت نهایی در ریزکپسول‌ها می‌شود. این امر احتمالاً به این دلیل می‌باشد که با افزایش غلظت فاز پیوسته، مقدار آب موجود در امولسیون کمتر شده، بنابراین در هنگام خشک‌کردن در یک زمان ثابت، امولسیون‌هایی که حاوی رطوبت کمتری هستند، پودر با محتوای رطوبتی کمتری کمتری نیز دارند. Kadkhodaee, Najafi.

داده شد تا ریزکپسول‌ها از محیط جدا گرددند. درنهایت نمونه فیلترشده برای اندازه‌گیری میزان وانیلین موجود در آن از روش طیفسنج مرئی-فرابینفش^۱ و طول موج ۲۳۱ نانومتر استفاده شد (Rodríguez et al., 2013).

مدل‌سازی

برای بررسی رهایش وانیلین از ریزکپسول‌های یک و دولایه و همچنین آنالیز کینتیک رهایش آن، از مدل‌های مختلفی شامل معادله درجه اول^۲ (رابطه ۲)، هیکسون و کروول^۳ (رابطه ۳)، هیگوچی^۴ (رابطه ۴) و کورسمیر-پپاس^۵ (رابطه ۵) استفاده شد (Nath, & Chowdhury, 2010).

رابطه (۲)

$$\ln M_t = \ln M_0 - K_1 \times t$$

رابطه (۳)

$$M_t = K_{KP} t^n$$

رابطه (۴)

$$M_0^{\frac{1}{3}} - M_t^{\frac{1}{3}} = K_{HC} \times t$$

رابطه (۵)

$$\frac{M_t}{M_0} = K_H \sqrt{t}$$

در رابطه‌های (۲)، (۳)، (۴) و (۵)، t برابر زمان رهایش (برحسب ثانیه)، M_t و M_0 به ترتیب برابر مقدار وانیلین رهایش یافته در زمان t و صفر، K_1 برابر ثابت معادله درجه اول، K_{HC} برابر ثابت هیکسون و کروول، K_H برابر ثابت هیگوچی و K_{KP} برابر ثابت کورسمیر-پپاس و n نیز به عنوان توان در معادله کورسمیر-پپاس نشان‌دهنده مکانیسم رهایش است. همچنین برای یافتن ضریب نفوذ از مدل برآمده از قانون فیک که توسط Siepmann (۲۰۰۸) برای ذرات کروی که تحت فرایندهایی با مدت زمان کوتاه قرار می‌گیرند، به طوری که مقدار رهایش ترکیبات کمتر از 40 درصد باشد، استفاده شد:

¹ UV-VIS spectrophotometry

² First order model

³ Hixson and Crowell

⁴ Higuchi

⁵ Korsemeyer-peppas

⁶ Correlation coefficient

به عنوان دیواره برای ریزپوشانی آسپارتام^۳ استفاده کردند، کمتر است. پایین بودن میزان رطوبت‌پذیری پودرها باعث آسان ترشدن بسته‌بندی و حمل و نقل آنها می‌شود.

جدول (۱) مقادیر به دست آمده برای میزان راندمان ریزپوشانی جهت ریزکپسول‌ها را نشان می‌دهد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود به لحاظ آماری بین ریزکپسول‌های سه‌لایه با ریزکپسول‌های یک و دو لایه اختلاف معنی‌داری وجود دارد. این نتایج نشان می‌دهد که ریزکپسول‌های تهیه شده از امولسیون اولیه و دوم نسبت به ریزکپسول‌های تهیه شده از امولسیون سوم دارای بازده بیشتری است. این امر احتمالاً به دلیل گرانروی بالای امولسیون سوم است که باعث می‌شود، پوسته به سختی و کندتر اطراف ذرات تشکیل شود و درنتیجه باعث افزایش میزان ازدست‌رفتن و اندیلین می‌شود و همین امر باعث کاهش میزان راندمان ریزپوشانی می‌شود. Finney و Reineccius (۲۰۰۲) اظهار داشتند در حالی که با افزایش اندازه ذرات، نسبت سطح به حجم کاهش می‌یابد و انتظار می‌رود که این امر باعث افزایش میزان راندمان ریزپوشانی شود، به دلیل آنکه زمان بیشتری برای تشکیل پوسته اطراف ذرات طی خشک‌کردن لازم است همین امر باعث ازدست‌رفتن بیشتر ترکیبات فرار از نمونه‌ها می‌شود، بنابراین برخلاف انتظار میزان راندمان ریزپوشانی کاهش می‌یابد. نتایج به دست آمده در پژوهش نسبت به نتایج Grossos و Fávaro-Trindade Rocha (۲۰۱۲) که از نشاسته اصلاح شده برای ریزپوشانی لیکوپن استفاده کردند (راندمان بین ۲۱ تا ۲۹ درصد)، بیشتر است.

و Mortazavi (۲۰۱۱) از نشاسته اصلاح شده و پودر شیر بدون چربی برای تولید ریزکپسول‌های روغن هل استفاده کردند. این پژوهشگران نتایج مشابهی را با پژوهش حاضر به دست آورده‌اند که با افزایش غلظت ماده دیواره، رطوبت پودر کاهش یافت. همچنین این مطلب توسط Jafari و همکاران (۲۰۰۸) نیز گزارش گردیده است. با توجه به جدول (۱)، مشاهده می‌شود که تفاوت معنی‌داری بین میزان حلالیت ریزکپسول‌های تولیدی وجود ندارد. کم بودن میزان حلالیت ریزکپسول‌ها در ریزپوشانی کردن مواد معطر و طعم‌ها امری مطلوب تلقی می‌شود زیرا باعث بهبود پایداری پودر در برابر تغییرات قدرت یونی محیط و رهایش کنترل یافته ترکیب به محیط می‌شود (Comunian et al., 2013). مقادیر به دست آمده برای میزان حلالیت ریزکپسول‌ها (۱۰/۱۶ تا ۱۲/۲۸ درصد) در این پژوهش تقریباً مشابه مقادیر به دست آمده برای ریزپوشانی اسیداسکوربیک به روش توده‌سازی مرکب^۱ که با استفاده از ژلاتین و صمغ عربی توسط Comunian و همکاران (۲۰۱۳) انجام شد (۸/۱۴ تا ۱۴/۵ درصد)، می‌باشد.

میزان رطوبت‌پذیری ریزکپسول‌های تهیه شده در این پژوهش در بازه (۱۰۰/۸-۱۱/۳) می‌باشد و به لحاظ آماری نیز اختلاف معنی‌داری بین ریزکپسول‌های تولید شده وجود ندارد (جدول ۱). نتایج به دست آمده در این پژوهش نسبت به نتایج به دست آمده توسط Nori و همکاران (۲۰۱۱) که از روش توده‌سازی مرکب با استفاده از ایزوله پروتئین سویا و پکتین برای Rocha ریزپوشانی پروپولیس^۲ استفاده کردند و همچنین Selmi و همکاران (۲۰۱۳) که از ژلاتین و صمغ عربی

جدول ۱ - پارامترهای محتوای رطوبت نهایی، حلالیت، رطوبت‌پذیری و میزان راندمان ریزپوشانی برای ریزکپسول‌های یک، دو و سه‌لایه

ریزکپسول	محتوای رطوبت نهایی	حالیت	محتوای رطوبت نهایی	رطوبت‌پذیری	میزان راندمان ریزپوشانی
یک‌لایه	۳/۶۱±۰/۰۴ ^a	۱۱/۴۲±۲/۵۵ ^a	۱۱/۳۰±۰/۰۲ ^a	۵۱/۹۱±۲/۵۳ ^a	۴۱/۹۱±۲/۵۳ ^a
دو لایه	۳/۰۹±۰/۰۶ ^a	۱۲/۲۸±۰/۳۱ ^a	۸/۷۰±۰/۰۳ ^a	۴۴/۵۹±۳/۳۳ ^a	۴۴/۵۹±۳/۳۳ ^a
سه‌لایه	۲/۳۲±۰/۳۰ ^b	۱۰/۱۶±۰/۶۹ ^a	۱۰/۲۰±۰/۰۲ ^a	۲۷/۴۹±۲/۶۷ ^b	۲۷/۴۹±۲/۶۷ ^b

* حروف کوچک متفاوت در هر ستون بین‌گر تفاوت آماری معنی‌دار می‌داند ($P<0/05$).

توان (n) موجود در معادله کورسمیر-پیاس به عنوان شاخصی از مکانیسم رهایش استفاده شد (جدول ۲). نتایج

به منظور توصیف مکانیسم رهایش و اندیلین در محیط آب (دماه ۳۷ و ۸۰ درجه سانتی‌گراد) از ریزکپسول‌ها از

^۳ Aspartame

^۱ Complex coacervation

^۲ Propolis

استفاده می‌شود. به طوری که MDT بالاتر نشان دهنده آزادسازی آهسته‌تر ترکیب ریزپوشانی شده از ریزکپسول‌هاست (Balcerzak & Mucha, 2010). مقادیر MDT به دست‌آمده برای ریزکپسول‌ها در جدول (۲) نشان داده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود ریزکپسول‌های سه‌لایه نسبت به ریزکپسول‌های دو و یک‌لایه توانایی بهتری در کاهش سرعت رهایش وانیلین MDT از ریزکپسول‌ها را دارد. همچنین با مقایسه مقادیر MDT به دست‌آمده برای ریزکپسول‌ها در دمای ۳۷ و ۸۰ درجه سانتی‌گراد مشاهده می‌شود که ریزکپسول‌های سه‌لایه نسبت به دو ریزکپسول دیگر در برابر حرارت پایدارتر می‌باشد و با افزایش دما تغییری در مقدار MDT آن حاصل نشد. در حالی که افزایش دما باعث کاهش مقادیر MDT به دست‌آمده برای ریزکپسول‌های دو و یک‌لایه می‌شود، یعنی افزایش دما باعث افزایش سرعت رهایش وانیلین از این ریزکپسول‌ها می‌شود.

نشان داد که این شاخص در محدوده بین ۴/۰-۲۴/۰ قرار گرفته و نشان دهنده این است که رهایش از تمام ریزکپسول‌ها براساس مکانیسم نفوذ فیک^۱ رخداده، این نوع رهایش به عنوان مکانیسم غالب در رهایش وانیلین از ریزکپسول‌ها می‌باشد (Arifin, Lee, & Wang, 2006).

همچنین به منظور بررسی تأثیر لایه‌ها بر روند آزادسازی وانیلین از ریزکپسول‌ها، از روش مستقل از مدل استفاده شد. در واقع در این روش با محاسبه متوسط زمان انحلال (MDT^۲)، کلیه داده‌های به دست‌آمده طی رهایش وانیلین از ریزکپسول‌ها به یک عدد تبدیل می‌شود (رابطه (۷)):

$$\text{رابطه (۷)}$$

$$\text{MDT} = [n/(n+1)] \times K^{-1/n}$$

در رابطه (۷)، n و K ثابت معادله کورسمیر-پیاس می‌باشد. از MDT برای تعیین سرعت آزادسازی ترکیب ریزپوشانی شده و توانایی پلیمر در کنکردن رهایش آن

جدول ۲ - پارامترهای کینتیکی ریزکپسول‌های یک، دو و سه‌لایه براساس معادله کورسمیر-پیاس

R ²	سه‌لایه			دو‌لایه			یک‌لایه			دما
	MDT (ساعت)	n	R ²	MDT (ساعت)	n	R ²	MDT (ساعت)	n		
۰/۹۳	۱/۷۸	۰/۲۵	۰/۰۸۶	۱/۲۴	۰/۳۷	۰/۰۸۸	۱/۰۸	۰/۲۴	۳۷ درجه سانتی‌گراد	
۰/۹۶	۱/۷۷	۰/۲۶	۰/۰۹۷	۰/۹۸	۰/۴۰	۰/۰۹۶	۰/۰۸۶	۰/۳۲	۸۰ درجه سانتی‌گراد	

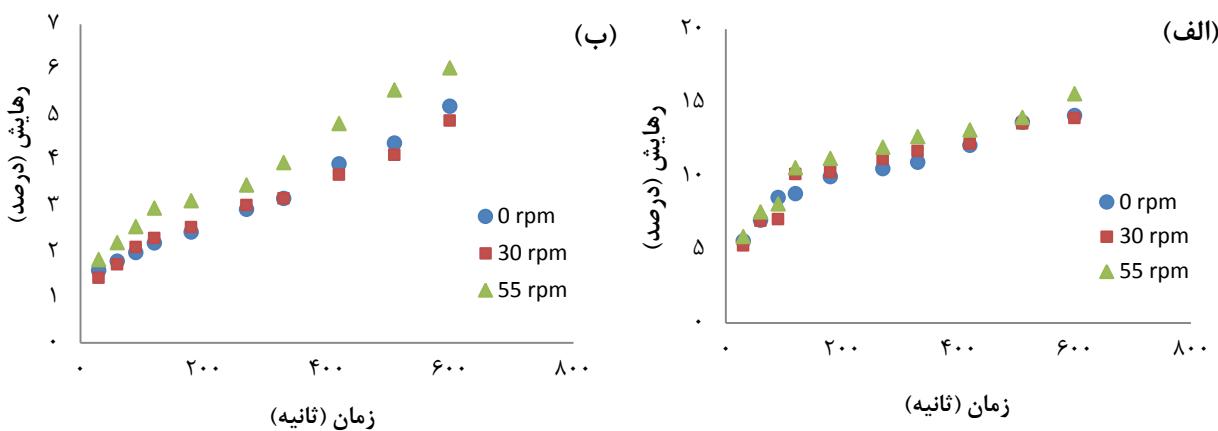
تنش برشی برخی از ریزکپسول‌ها تخریب شده، این امر سبب افزایش میزان انتشار وانیلین به محیط می‌شود. نتایج مشابهی برای بررسی تأثیر فرایند جویدن بر میزان سرعت رهایش عطر و طعم توسط برخی از پژوهشگران گزارش شده است. Zandi (۲۰۱۴) و van Ruth (۲۰۰۰) گزارش نمودند که اعمال و افزایش فرایند جویدن شبیه‌سازی شده سبب افزایش سرعت رهایش عطر و طعم از ماتریکس کپسوله کننده می‌گردد.

بررسی رهایش وانیلین از ریزکپسول‌های یک و دو‌لایه با توجه به کمبودن میزان راندمان ریزپوشانی ریزکپسول‌های سه‌لایه، رهایش وانیلین از این ریزکپسول‌ها مورد بررسی قرار نگرفت.

شکل (۲)، پروفایل رهایش وانیلین از ریزکپسول‌های یک و دو‌لایه را به عنوان تابعی از تنش برشی محیط رهایش نشان می‌دهند. نتایج به دست‌آمده نشان می‌دهد که اعمال تنش برشی سبب افزایش سرعت رهایش می‌گردد. به نظر می‌رسد که اعمال تنش برشی همانند یک نیروی فشاری عمل کرده، خروج وانیلین را از منافذ ریزکپسول‌ها افزایش می‌دهد. علاوه بر این طی اعمال

¹ Fickian diffusional

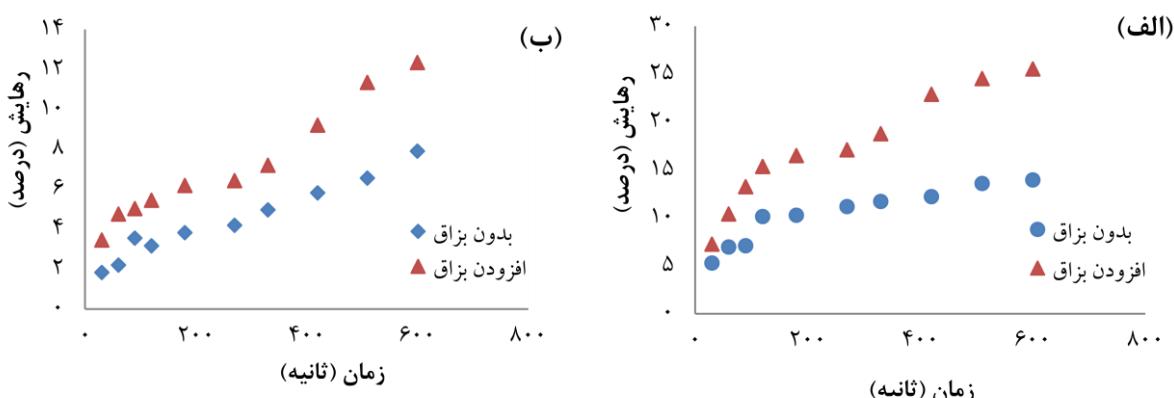
² Mean Dissolution Time



شکل ۲ - تأثیر تنفس برشی بر پروفایل رهایش وانیلین از ریزکپسول‌های الف: یک‌لایه و ب: دولايه

همان‌طورکه در شکل (۳) دیده می‌شود، افزودن بزاق سبب افزایش سرعت رهایش در ریزکپسول‌ها می‌گردد. این امر احتمالاً به دلیل تغییر قدرت یونی محیط می‌باشد که سبب ناپایداری ریزکپسول‌ها می‌شود. اگرچه آزمیم آلفا-آمیلاز جزء اصلی و عمدۀ بزاق مصنوعی مورد استفاده در این پژوهش بود، ولی با توجه به ماهیّت ریزکپسول یک‌لایه و همچنین مقاومت نشاسته اصلاح شده (OSA) در برابر آن، نمی‌تواند بر ریزکپسول‌های یک و دولايه تأثیری زیاد داشته باشد. نتایج مشابهی توسط Ansarifar و همکاران (۲۰۱۷) درمورد استفاده نسبت‌های مختلف بزاق برای رهایش لیمونن پوشش‌دهی شده با لایه‌های فیبریل پروتئین ایزوله سویا و پکتین مشاهده شد.

دو مکانیسم عمدۀ آزادسازی طی فرایند رهایش از ریزکپسول‌های یک و دولايه رخ می‌دهد، اولین مکانیسم نشت ماده ریزپوشانی شده (وانیلین) از میان حفره‌ها و سوراخ‌های پوسته ریزکپسول و دومین آن، رهایش ماده ریزپوشانی شده با استفاده از مکانیسم نفوذ از میان پوسته ریزکپسول می‌باشد. از آنجاکه رهایش سریع اولیه (که ریزکپسول می‌باشد. از آنجاکه رهایش انجاری^۱ شناخته می‌شود) به ویژگی‌های سطح و پوسته ریزکپسول‌ها بستگی دارد، از این‌رو شبیب اولیه موجود در پروفایل رهایش ریزکپسول‌های یک‌لایه نسبت به دولايه بیشتر است. این امر احتمالاً به دلیل افزایش ضخامت پوسته ریزکپسول دولايه و همچنین پوشش نشاسته اصلاح شده اطراف پوسته‌ها می‌باشد که باعث کاهش سرعت انتشار وانیلین از ریزکپسول‌های دولايه می‌شود.



شکل ۳ - پروفایل رهایش وانیلین از ریزکپسول‌های الف: یک‌لایه و ب: دولايه در حضور و عدم حضور بزاق در تنفس برشی ۳۰ دور در دقیقه

^۱ Burst-release phenomenon

سوراخها و حفره‌ها که به رهایش انفحاری معروف است، مورد استفاده قرار می‌گیرد (Zandi, 2014).

به منظور توصیف مکانیسم رهایش وانیلین از ریزکپسول‌های یک و دولایه، توان موجود در رابطه کورسمیر-پیاس (n) به عنوان شاخصی از مکانیسم رهایش محاسبه گردید. نتایج حاصل از این توان رهایش نشان داد که این شاخص در محدوده بین ۰/۴۱-۰/۲۳ نشان می‌دهد که این نتایج حاصل از این توان رهایش براساس قرار گرفته و نشان‌دهنده این است که رهایش براساس مکانیسم نفوذ فیک^۱ رخ داده، این نوع رهایش به عنوان مکانیسم غالب در آزادسازی وانیلین از ریزکپسول‌ها می‌باشد (Arifin et al., 2006) (جدول ۳).

مدل‌های رهایش و بررسی ضریب نفوذ به عنوان تابعی از شرایط محیط رهایش

به منظور بررسی مکانیسم رهایش وانیلین از ریزکپسول‌ها، مدل‌های کینتیکی مختلفی به داده‌های تجربی رهایش برآش گردید. پارامترهای حاصل از برآش مدل‌های مورد استفاده روی داده‌های رهایش در جداول (۳) خلاصه گردیده است. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که مدل کینتیکی درجه اول از نظر ریاضی بهترین توصیف را برای رهایش وانیلین از ریزکپسول‌ها فراهم آورد، به گونه‌ای که ضریب همبستگی حاصل در تمامی برآش‌ها با این مدل بالای ۰/۹۴ بود. از سوی دیگر مدل درجه اول بیشتر برای توصیف رهایش از طریق

جدول ۳ - پارامترهای مدل حاصل از برآش مدل‌های مختلف بر نتایج تجربی برای ریزکپسول‌های یک و دولایه در ۳ سرعت جویدن (۰۰ و ۵۵ دور در دقیقه) و در حضور و عدم حضور بzac (اعداد از میانگین دو آزمون به دست آمده است).

		با بzac		بدون بzac		پارامتر
۵۵	۳۰	.	۵۵	۳۰	.	
ریزکپسول یک‌لایه						
مدل درجه اول						
۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	K_1
۰/۹۸	۰/۹۵	۰/۹۴	۰/۹۷	۰/۹۸	۰/۹۹	R^2
مدل هیکسون-کروول						
۰/۳۹	۰/۲۵	۰/۲	۰/۳۱	۰/۲۱	۰/۲۰	K_{HC}
۰/۷۴	۰/۸۵	۰/۷۱	۰/۶۵	۰/۷۱	۰/۶۸	R^2
مدل هیکچی						
۰/۹۱	۰/۸۲	۰/۳۷	۰/۳۷	۰/۳۳	۰/۳۲	K_H
۰/۹۱	۰/۸۷	۰/۸۶	۰/۸۹	۰/۷۵	۰/۹۰	R^2
کورسمیر-پیاس						
۱/۴۰	۰/۵۷	۱/۱۸	۰/۸۸	۰/۸۶	۰/۴۳	K_{SP}
۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۲۸	۰/۲۳	۰/۲۹	۰/۳۱	n
۰/۹۰	۰/۹۱	۰/۸۵	۰/۸۸	۰/۹۴	۰/۹۰	R^2
ریزکپسول دولایه						
مدل درجه اول						
۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	K_1
۰/۹۴	۰/۹۶	۰/۹۷	۰/۹۸	۰/۹۷	۰/۹۸	R^2
مدل هیکسون-کروول						
۰/۲۷	۰/۲۵	۰/۱۷	۰/۲۶	۰/۲۰	۰/۱۵	K_{HC}
۰/۷۶	۰/۸۱	۰/۸۸	۰/۶۸	۰/۸۱	۰/۷۳	R^2
مدل هیکچی						
۰/۴۸	۰/۴۷	۰/۲۱	۰/۲۴	۰/۲۰	۰/۱۸	K_H
۰/۸۹	۰/۸۸	۰/۹	۰/۹۲	۰/۹۳	۰/۹۲	R^2
کورسمیر-پیاس						
۰/۶۰	۰/۳۳	۰/۵۷	۰/۲۹	۰/۲۶	۰/۲۳	K_{SP}
۰/۴۱	۰/۳۹	۰/۳۳	۰/۳۵	۰/۳۴	۰/۳۶	n
۰/۹۲	۰/۸۶	۰/۹۴	۰/۸۷	۰/۹۱	۰/۸۹	R^2

^۱ Fickian diffusional

ریزکپسول دولایه و همچنین پوشش نشاسته اصلاح شده اطراف پوسته‌ها می‌باشد که باعث کاهش سرعت انتشار وانیلین از ریزکپسول‌های دولایه می‌شود. همچنین افزودن بzac سبب افزایش ضریب نفوذ و درنتیجه افزایش سرعت رهایش در ریزکپسول‌های یک و دولایه می‌شود که این امر احتمالاً بهدلیل تغییر قدرت یونی محیط می‌باشد که سبب ناپایداری ریزکپسول‌ها می‌شود.

باتوجه به جدول (۴)، همان‌گونه که انتظار می‌رفت با اعمال و افزایش تنفسی برشی در محیط رهایش، ضریب نفوذ افزایش پیدا کرد. این افزایش احتمالاً می‌تواند به سبب تأثیر تنفسی برشی به عنوان یک نیروی فشاری (که پیشتر توضیح داده شد) باشد. علاوه بر این طی اعمال تنفسی برخی از ریزکپسول‌ها تخریب شده و درنتیجه سبب افزایش میزان انتشار وانیلین به محیط نیز می‌شود.

همان‌طور که قبلاً نیز اشاره شد برای یافتن ضریب نفوذ از مدل برآمده از قانون فیک که توسط Siepmann و Siepmann (۲۰۰۸) برای فرایندهایی با مدت زمان کوتاه به طوری که مقدار رهایش ترکیبات کمتر از ۴۰ درصد باشد، استفاده شد (رابطه ۶). نتایج حاصل از آزمایش‌ها و مدل نشان داد که همبستگی بسیار خوبی بین این نتایج وجود دارد، به طوری که مقدار ضریب همبستگی R^2 بین نتایج تجربی و مدل در تمامی آزمایش‌ها بالاتر از ۹۱ درصد بود. جدول (۴)، مقدار ضریب نفوذ را برای فرایند رهایش وانیلین از ریزکپسول‌های یک و دولایه تحت شرایط متفاوت محیط نشان می‌دهد. همان‌طور که در جدول (۴) مشاهده می‌شود، ریزکپسول‌های دولایه نسبت به ریزکپسول‌های یک‌لایه دارای ضریب نفوذ کمتری می‌باشد که درنتیجه باعث کاهش سرعت رهایش وانیلین می‌شود. این امر احتمالاً بهدلیل افزایش ضخامت پوسته

جدول ۴ - تأثیر تنفسی برشی و افزودن بzac بر ضریب نفوذ پذیری ریزکپسول‌های یک و دولایه

ریزکپسول یک‌لایه			ریزکپسول دولایه			D (مترمربع بر ثانیه)	
سرعت جویدن			سرعت جویدن				
۵۵	۳۰	.	۵۵	۳۰	.		
$۲/۵۷ \times 10^{-9}$	$۲/۳۴ \times 10^{-9}$	$۱/۰۵ \times 10^{-9}$	$۱/۰۴ \times 10^{-9}$	$۹/۳۰ \times 10^{-10}$	$۸/۹۹ \times 10^{-10}$	افزودن بzac	
$۱/۱۵ \times 10^{-9}$	$۹/۳۴ \times 10^{-10}$	$۶/۰۰ \times 10^{-10}$	$۶/۸۲ \times 10^{-10}$	$۵/۵۹ \times 10^{-10}$	$۵/۳۸ \times 10^{-10}$	بدون بzac	

وانیلین از ریزکپسول‌های یک و دولایه، مدل‌های کینتیکی مختلفی بر داده‌های تجربی رهایش برازش گردید، نتایج حاصل نشان داد که رهایش از این ریزکپسول‌ها براساس مکانیسم نفوذ رخ داده است که به عنوان مکانیسم غالب در این فرایند رهایش است. همچنین نتایج بررسی رهایش ریزکپسول‌های یک و دولایه حاکی از این بود که ریزکپسول‌های دولایه نسبت به ریزکپسول‌های یک‌لایه دارای ضریب نفوذ کمتری بودند، پس در شرایط یکسان (افزودن بzac و تنفسی برشی)، سرعت رهایش وانیلین از ریزکپسول‌های دولایه کمتر از ریزکپسول‌های یک‌لایه می‌باشد که این امر بهدلیل پوشش نشاسته اصلاح شده اطراف پوسته‌ها و افزایش ضخامت پوسته ریزکپسول دولایه می‌باشد که باعث کاهش سرعت انتشار وانیلین از ریزکپسول‌های دولایه می‌شود.

نتیجه‌گیری

بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ریزکپسول‌های یک، دو و سه‌لایه نشان داد محتوا رطوبت نهایی ریزکپسول‌ها در بازه ۲/۳۲ تا ۳/۶۱ درصد یعنی در بازه رطوبتی پودرهای تولید شده به روش خشک کن افشارهای می‌باشد. همچنین تفاوت معنی‌داری بین میزان حلالت و رطوبت پذیری ریزکپسول‌های تولیدی وجود نداشت. در حالی که ریزکپسول‌های تهیه شده از امولسیون اولیه و دوم نسبت به ریزکپسول‌های تهیه شده از امولسیون سوم دارای میزان راندمان ریزپوشانی بیشتری بود اما این ریزکپسول‌ها نسبت به ریزکپسول سه‌لایه در برابر حرارت ناپایدارتر می‌باشند، با افزایش دما سرعت رهایش وانیلین از این ریزکپسول افزایش می‌یابد درحالی که با افزایش دما، تغییری در سرعت رهایش وانیلین از ریزکپسول‌های سه‌لایه حاصل نشد. به منظور بررسی مکانیسم رهایش

پژوهش و فناوری دانشگاه فردوسی مشهد همچنین معاونت پژوهش و فناوری دانشکده کشاورزی بهدلیل مساعدت‌های مالی جهت اجرای این طرح پژوهشی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

تقدیر و تشکر

مقاله علمی حاضر مستخرج از طرح پژوهشی با کد ۲۰۱۱۱ مصوب در دانشگاه فردوسی مشهد می‌باشد. نویسنده‌گان مقاله برخود لازم می‌دانند که از معاونت

منابع

- Ansarifar, E., Mohebbi, M., Shahidi, F., Koocheki, A., & Ramezanian, N. (2017). Novel multilayer microcapsules based on soy protein isolate fibrils and high methoxyl pectin: Production, characterization and release modeling. *International Journal of Biological Macromolecules*, 97, 761-769. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.056>
- AOAC. (1995). *Official methods of analysis of AOAC International*. Arlington, Va.: AOAC Intl. pv (loose-leaf).
- Arifin, D. Y., Lee, L. Y., & Wang, C.-H. (2006). Mathematical modeling and simulation of drug release from microspheres: Implications to drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(12), 1274-1325. doi:<https://doi.org/10.1016/j.addr.2006.09.007>
- Balcerzak, J., & Mucha, M. (2010). Analysis of model drug release kinetics from complex matrices of polylactide-chitosan. *Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives*, 15, 117-126.
- Benjamin, O., Silcock, P., Leus, M., & Everett, D. W. (2012). Multilayer emulsions as delivery systems for controlled release of volatile compounds using pH and salt triggers. *Food Hydrocolloids*, 27(1), 109-118. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.08.008>
- Chuah, A. M., Kuroiwa, T., Kobayashi, I., & Nakajima, M. (2009). Effect of chitosan on the stability and properties of modified lecithin stabilized oil-in-water monodisperse emulsion prepared by microchannel emulsification. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 600-610. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.03.014>
- Comunian, T. A., Thomazini, M., Alves, A. J. G., de Matos Junior, F. E., de Carvalho Balieiro, J. C., & Favaro-Trindade, C. S. (2013). Microencapsulation of ascorbic acid by complex coacervation: Protection and controlled release. *Food Research International*, 52(1), 373-379. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.03.028>
- Dash, S., Narasimha Murthy, P., Nath, L., & Chowdhury, P. (2010). Kinetic Modeling on Drug Release from Controlled Drug Delivery Systems. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 67(3), 217-223.
- de Roos, K. B. (2000). Physiochemical Models of Flavor Release from Foods. In D. D. Roberts & A. J. Taylor (Eds.), *Flavor Release* (Vol. 763, pp. 126-141): American Chemical Society.
- Finney, J., Buffo, R., & Reineccius, G. A. (2002). Effects of Type of Atomization and Processing Temperatures on the Physical Properties and Stability of Spray-Dried Flavors. *Journal of Food Science*, 67(3), 1108-1114. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb09461.x>
- Grigoriev, D. O., & Miller, R. (2009). Mono- and multilayer covered drops as carriers. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 14(1), 48-59. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cocis.2008.03.003>
- Huang, G.-Q., Sun, Y.-T., Xiao, J.-X., & Yang, J. (2012). Complex coacervation of soybean protein isolate and chitosan. *Food chemistry*, 135(2), 534-539. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.140>
- Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y., & Bhandari, B. (2008). Encapsulation Efficiency of Food Flavours and Oils during Spray Drying. *Drying Technology*, 26(7), 816-835. doi:<https://doi.org/10.1080/07373930802135972>
- Lakkis, J. M. (2007). *Encapsulation and controlled release technologies in food systems*: Wiley Online Library.
- Najafi, M. N., Kadkhodaee, R., & Mortazavi, S. A. (2011). Effect of drying process and wall material on the properties of encapsulated cardamom oil. *Food biophysics*, 6(1), 68-76. doi:<https://doi.org/10.1007/s11483-010-9176-x>

- Nilsson, L., & Bergenstähl, B. (2007). Adsorption of hydrophobically modified anionic starch at oppositely charged oil/water interfaces. *Journal of Colloid and Interface Science*, 308(2), 508-513. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2007.01.024>
- Nori, M. P., Favaro-Trindade, C. S., Matias de Alencar, S., Thomazini, M., de Camargo Balieiro, J. C., & Contreras Castillo, C. J. (2011). Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. *LWT - Food Science and Technology*, 44(2), 429-435. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.09.010>
- Noshad, M., Mohebbi, M., Shahidi, F & ,Koocheki, A. (2015). Effect of layer-by-layer polyelectrolyte method on encapsulation of vanillin. *International journal of biological macromolecules*, 81, 803-808. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.09.012>
- Pothakamury, U. R., & Barbosa-Cánovas ,G. V. (1995). Fundamental aspects of controlled release in foods. *Trends in Food Science & Technology*, 6(12), 397-406. doi:[https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)89218-3](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)89218-3)
- Qiu, X., Leporatti, S., Donath, E., & Möhwald, H. (2001). Studies on the drug release properties of polysaccharide multilayers encapsulated ibuprofen microparticles. *Langmuir*, 17(17), 5375-5380. doi:<https://doi.org/10.1021/la010201w>
- Rocha-Selmi, G. A., Bozza, F. T., Thomazini, M., Bolini, H. M. A., & Fávaro-Trindade, C. S. (2013). Microencapsulation of aspartame by double emulsion followed by complex coacervation to provide protection and prolong sweetness. *Food Chemistry*, 139(1), 72-78. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.114>
- Rocha, G. A., Fávaro-Trindade, C. S., & Grossos, C .R. F. (2012). Microencapsulation of lycopene by spray drying: Characterization, stability and application of microcapsules. *Food and Bioproducts Processing*, 90(1), 37-42. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fbp.2011.01.001>
- Rodríguez, S. D., Wilderjans, T., Sosa, N., & Bernik, D. L. (2013). Image texture analysis and gas sensor array studies applied to vanilla encapsulation by octenyl succinic anhydride starches. *Journal of Food Research*, 2(2), 36-48. doi:<https://doi.org/10.5539/jfr.v2n2p36>
- Salles, C., Tarrega ,A., Mielle, P., Maratray, J., Gorria, P., Liaboeuf, J., & Liodenot, J. J. (2007). Development of a chewing simulator for food breakdown and the analysis of in vitro flavor compound release in a mouth environment. *Journal of Food Engineering*, 82(2), 189-198. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.02.008>
- Siefarth, C., Tyapkova, O., Beauchamp, J., Schweiggert, U., Buettner, A., & Bader, S. (2011). Influence of polyols and bulking agents on flavour release from low-viscosity solutions. *Food Chemistry*, 129(4), 1462-1468. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.115>
- Siepmann, J., & Siepmann, F. (2008). Mathematical modeling of drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 364(2), 328-343. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.09.004>
- van Ruth, S. M., & Roozen, J. P. (2000). Influence of mastication and saliva on aroma release in a model mouth system. *Food Chemistry*, 71(3), 339-345. doi:[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00186-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00186-2)
- Ye, S., Wang, C., Liu, X., & Tong, Z. (2005). Multilayer nanocapsules of polysaccharide chitosan and alginate through layer-by-layer assembly directly on PS nanoparticles for release. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 16(7), 909-923. doi:<https://doi.org/10.1163/1568562054255691>
- Zandi. (2014). *Production of colloidosomes as Dieacetyl carrier and modelling of it's release using multi-agent systems*. (Unpublished doctoral dissertation), Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Iran. (in persian)
- Zuidam, N., & Nedovic, V. (2010). *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*: Springer, New York, NY.

Evaluation of the Release of Microcapsulated Vanillin under Simulated Oral Conditions

**Mohebbat Mohebbi^{1*}, Mahdi Varidi², Mohammad Noshad³,
Mohammad Khalilian Movahhed⁴**

1- Professor, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

* Corresponding author (mohebbatm@gmail.com, m-mohebbi@um.ac.ir)

2- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

3- PhD, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

4- PhD Student, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Abstract

In this study, vanillin release from multilayered microcapsules consisting of isolated soy protein, modified starch, and chitosan produced by spray dryer was investigated. Vanillin release was studied using a mouth simulator. The parameters included oral variable such as saliva and the tension on vanillin release. To examine the release of vanillin, the release of these microcapsules (one and two-layers) at 37 °C and pH=6.8, as well as frequent chewing (0, 30 and 55 rpm) were investigated. The results of the release of single (isolated soy protein) and twolayers (modified starch) microcapsules according to the Korsemeyer- Peppas equation showed that the two-layer microcapsules were less diffusion coefficient than the one-layer microcapsules. Mean dissolution time for two-layer and one-layer were calculated 1.24 and 1.08 h at 37 °C, respectively. Therefore, at the same conditions (adding saliva and shear stress), the release rate of vanillin from the two-layer microcapsules was lower than the one-layer microcapsules due to the modified starch coating around the shells and the increase in the thickness of the shell of the two-layered microcapsule, which reduces the release velocity of vanillin from the two-layer microcapsules.

Keywords: Modeling, Mouth Simulator, Release, Vanillin

بهینه‌سازی فرایند استخراج ژلاتین، از ضایعات پوست گوسفند با استفاده از آنزیم آلکالاز به روش سطح پاسخ

مهدي زارعي^۱، مصطفى مظاهري تهراني^{۲*}، حسن رشيدی^۳، محسن فتحي نجفي^۴

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

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

* نويسنده مسئول (mmazaheri@um.ac.ir)

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

۴- استادیار، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی - شعبه مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۴/۳۰

چکیده

واژه‌های کلیدی
استخراج آنزیمی
ژلاتین
سطح پاسخ
ضایعات پوست گوسفند

در این تحقیق، شرایط بهینه استخراج آنزیمی ژلاتین از ضایعات پوست گوسفند با استفاده از اثر سه متغیر، غلظت آنزیم (۰/۵-۰/۵ درصد)، زمان هیدرولیز (۶۰-۲۴۰ دقیقه) و دمای استخراج (۶۰-۸۰ درجه سانتی‌گراد) تعیین شد. اثر این سه متغیر بر بازده استخراج، استحکام ژل، ویسکوزیته، درجه هیدرولیز، نقطه ذوب و تعیین الگوی الکتروفورز بررسی شد و نتایج حاصل با کمک طرح آزمایشی مرکب مرکزی به روش سطح پاسخ، تجزیه و تحلیل شدند. فاکتور عدم برآش نیز برای تمامی صفات مذکور در سطح ۹۵ درصد معنی‌دار نبود. برای اساس معلوم شد که دمای استخراج ۶۰ درجه سانتی‌گراد، با ۰/۵ درصد غلظت آنزیم و ۱۶۶ دقیقه زمان هیدرولیز، شرایط مطلوبی برای بهدست‌آوردن بیشترین بازده استخراج (۱۱۰/۳ درصد) و بهترین درجه هیدرولیز (۲۳ درصد) است. علاوه‌بر این، اثر این سه متغیر روی ویسکوزیته، استحکام ژل و نقطه ذوب نیز معنی‌دار بود و در شرایط بهینه، استحکام ژل ۱۷۵/۳۳ گرم، ویسکوزیته ۳/۲۶ میلی‌پاسکال بر ثانیه و نقطه ذوب ۲۵/۳۹ درجه سانتی‌گراد بهدست آمد.

مقدمه

برای استخراج ژلاتین وجود دارد: روش‌های اسیدی، قلیایی، آنزیمی و پراکسید هیدروژن. استفاده از آنزیم در فرایند تولید ژلاتین، علاوه‌بر مقرن به صرفبودن از نظر اقتصادی، نیاز به مواد شیمیایی را کاهش داده و زمان فرایند استخراج را نیز کوتاه‌تر می‌کند. یکی از عوامل گوناگون مؤثر در انتخاب آنزیم‌ها، محدوده فعالیت آنزیم و کارایی مطلوب آن است. آلکالاز^۱ آنزیمی قلیایی است که از پروتئاز یک باکتری پرکاربرد در هیدرولیز پروتئین‌ها، به نام باسیلوس

ژلاتین یکی از پرمصرف‌ترین مواد پروتئینی است که از هیدرولیز جزئی مواد خام کلارن‌دار پوست، استخوان و بافت‌های پیوندی حیوانات بهدست می‌آید (Mad-Ali, Benjakul, Prodpran, & Maqsood, 2017; Mulyani, Setyabudi, Pranoto, & Santoso, 2017). ژلاتین کاربردهای غذایی و غیرغذایی (دارویی، عکاسی، آرایشی- بهداشتی و ریزپوشینه کردن طعم‌ها) زیادی دارد. عواملی چون سن حیوان، منبع ماده خام، پیش عملیات و روش استخراج، بر ویژگی‌های ژلاتین (استحکام ژل و نقطه ذوب) تأثیر دارد (Lassoued et al., 2014; Mad-Ali, Benjakul,

¹ Alcalase

این محققان pH را عاملی مؤثر در ویسکوزیتۀ ژلاتین می‌دانستند و ویسکوزیتۀ ژلاتین نیز در pH بهینه هیدرولیز کلازن افزایش یافت. در تحقیقی دیگر، Talapphet و همکاران (۲۰۱۷) بهینه‌سازی فرایند استخراج و ویژگی‌های ژلاتین استخراج شده از پوست دباغی‌شده گاو را بررسی کردند، که با استفاده از روش پیش‌عملیات اسیدی و هیدرولیز حرارتی ژلاتین بهدست آوردند. ژلاتین استخراج شده دارای استحکام ژل و ویسکوزیتۀ کمتری نسبت به ژلاتین پوست گاو بود. آنها علت را مقدار کم پروتئین و حضور پپتیدهایی با وزن مولکولی پایین اعلام کردند که بر اثر هیدرولیز زنجیره پروتئینی در طول فرایند آهکزنی پوست در پوست دباغی‌شده به وجود آمدند.

با توجه به اینکه در حال حاضر، اطلاعات کمی درمورد تولید ژلاتین از پوست گوسفند موجود است، هدف از انجام این تحقیق، بهینه‌سازی فرایند استخراج آنزیمی ژلاتین از ضایعات پوست گوسفند با استفاده از روش سطح پاسخ است و بررسی خصوصیاتی چون استحکام ژل، ویسکوزیتۀ بازده استخراج، درجه هیدرولیز و الگوی الکتروفورز روی ژلاتین تولید شده است.

مواد و روش‌ها

مواد

ضایعات پوست گوسفند از شرکت صنایع چرم آریا، آنزیم پروتئاز آلکالاز از شرکت نووو و تمام مواد شیمیایی موردنیاز این تحقیق از شرکت مرک آلمان تأمین شده است.

تعیین فعالیت آنزیم آلکالاز

آنزیم فوق با استفاده از هیدرولیز کازئین به عنوان سوبسترا جهت تعیین فعالیت مشخص گردید. ابتدا مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از پودر آنزیم ۱ درصد را در بافر فسفات حل نموده و با مقدار ۰/۹ میلی‌لیتر از کازئین ۵/۰ درصد مخلوط و گرم‌خانه‌گذاری به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. سپس با استفاده از تری‌کلرواستیک‌اسید واکنش متوقف و بعد از سانتریفیوژ‌کردن محلول به مدت ۱۵ دقیقه، جذب در ۲۸۰ نانومتر انجام گردید.

لیچنفورمیس^۱ بهدست می‌آید. این باکتری توانایی زیادی در هیدرولیز پروتئین‌های غیراختصاصی دارد. دامنه فعالیت آن نیز در pH=۸-۱۰ و محدوده دمایی ۵۰ درجه سانتی‌گراد است که احتمال آلوگی‌های میکروبی را در طی فرایند تولید کاهش می‌دهد (Salwanee, Mustapha, Mamot, Maskat, & Ibrahim, 2013; See, Hoo, & Babji, 2011). استفاده از اسید در پیش‌عملیات نیز سبب تجزیه جزئی پیوندهای بین‌زنجیره‌ای اسیدهای آمینه و سُست‌شدن پیوندهای بین‌مولکولی و درون‌مولکولی کلازن Mad-Ali, Benjakul, Prodpran, & Maqsood, 2016a) دلیل استفاده از قلیا در پیش‌عملیات، حذف مواد پروتئینی غیرکلازنی از فرایند تولید است. استفاده از کلروفرم بهمنزله حلal نیز در کاهش چربی پوست بسیار مفید است (Talapphet, Prommajak, & Raviyan, 2017). گزارش‌ها نشان می‌دهند ایران با سهم ۲/۶ درصد از دامهای جهان، ۲/۳ درصد از کل پوست جهان را در اختیار دارد. از این مقدار، سالانه حدود ۱ میلیون جلد پوست گوسفند در صنعت پوست کشور به چرم تبدیل می‌شود و در طی این فرایند تبدیل، ۲۰ درصد آن به صورت ضایعات هدر می‌رود. از این مقدار ضایعات می‌توان ۱۲-۱۵ درصد ژلاتین بهدست آورد (Tehran Chamber of Commerce, Industries, Mines and Agriculture, 2017). بنابراین ضایعات در صنعت پوست می‌تواند جایگزین مناسبی برای منابع حاوی کلازن در تولید ژلاتین باشد. بدین‌طریق، هزینه‌های دفع نیز در این صنعت کاهش می‌باید (ShahiriTabarestani, Maghsoudlou, Xu, Motamedzadegan, & Sadeghi Mahoonak, 2010) و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که در استخراج ژلاتین از پوست ماهی با استفاده از آنزیم، پیش‌عملیات قلیایی و استون (حلال چربی پوست)، با افزایش زمان هیدرولیز، بازده محصول و توزیع وزن مولکولی افزایش می‌باید. Mulyani و همکاران (۲۰۱۷) با استفاده از پیش‌عملیات قلیایی و اسیدی و هیدرولیز حرارتی، از پوست بوفالو ژلاتینی استخراج کردند که ۲۹/۱۷ درصد تا ۱۴/۶۷ درصد بازده استخراج داشته است. ژلاتین استخراج شده زنجیره‌های طولانی تری داشته است، بنابراین بازه استحکام ژل ۴۴/۲۳۹ تا ۴۱/۲۹۳ گرم تا ۴۱/۲۹۳ گرم اعلام شد، اما ویسکوزیتۀ بهدست‌آمده از ژلاتین تولید شده ۳۷/۱۶ تا ۱۷/۲۲ پاسکال بر ثانیه بود.

^۱ *Bacillus licheniformis*

بازده استخراج

بازده استخراج هریک از نمونه‌های تولیدشده با استفاده از اندیس رفرکتومتری (Rfractometer رومیزی آبه مدل توواج، ساخت چین) انجام شد. غلظت (بریکس) محلول صافشده ژلاتین در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با رفرکتومتر تعیین و با قراردادن عدد قرائت شده در رابطه (۱)، غلظت ژلاتین در محلول محاسبه شد (Hosseini parvar, Keramat, Kadivar, Khanipour, & Milani, 2006) رابطه (۱)

$$\text{بریکس} \times 6/81 = \text{غلظت ژلاتین (گرم در لیتر)}$$

سپس با قراردادن اعداد مربوط به غلظت ژلاتین در رابطه (۲)، میزان بازده استخراج ژلاتین به دست آمد:

$$\text{رابطه (۲)}$$

$$Yield = \frac{(C \times V)}{M} \times 100$$

در رابطه (۲)، C غلظت ژلاتین تولیدشده (میلی‌گرم/میلی‌لیتر)، V حجم ژلاتین تولیدشده (میلی‌لیتر) و M وزن نمونه پوست اولیه (میلی‌گرم) می‌باشد.

تعیین استحکام ژل

طبق استاندارد British Standards Institution (BSI 757) [1975]، محلولی با غلظت ۶/۶۷ درصد را آماده و سپس در بن‌ماری به مدت ۱۵ دقیقه در دمای حدود ۶۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا کاملاً ژلاتین حل شود. سپس آن را تا دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد سرد کرده و به مدت ۱۶ ساعت در این دما نگهداشته شد. پس از سپری شدن مدت زمان رسیدگی، استحکام ژل بحسب گرم با استفاده از بلومسنج (فروبردن میله‌ای از جنس تفلون به قطر ۱/۲۷ سانتی‌متر تا عمق ۴ میلی‌متری درون ژل) اندازه‌گیری شد.

ویسکوزیته

طبق استاندارد BSI 757 [1975] محلولی با غلظت ۱۰ درصد (وزنی/حجمی) از ژلاتین تهیه شد و ویسکوزیته آن با استفاده از دستگاه ویسکومتر (مدل رئولو ۳۰ Q30، ساخت اتریش) با سرعت ۶۰ دور بر دقیقه و دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد.

روش تولید ژلاتین

استخراج ژلاتین در این پژوهش براساس روش Lassoued و همکاران (۲۰۱۴) با اندکی تغییر انجام شد. ضایعات پوست گوسفند به آزمایشگاه منتقل و پس از لشزنی، به قطعه‌هایی در ابعاد ۵ میلی‌متری تبدیل و تا زمان مصرف در فریزر نگهداری شدند. پوست‌ها را قبل از فرایند تولید، به دمای محیط رسانده، سپس برای متورم کردن و شستشوی بهتر، به مدت ۳۰ دقیقه با نسبت ۱:۵ در آب‌مقطمر غوطه‌ور شدند. پس از آب‌کشی، آنها را به نسبت ۱:۵ با کلروفرم مخلوط و به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط قرار گرفتند. پس از چربی‌زدایی کامل، کلروفرم را از مخلوط حذف و پوست‌ها شست و شو شدند. برای حذف پروتئین‌های غیرکلازنی، از محلول سود (NaOH) و برای شکستن زنجیره‌های بین‌مولکولی از اسید استفاده شد. عملیات استخراج ژلاتین با کمک آنزیم آکالاز (pH=۸/۵) با غلظت‌ها (۰، ۰/۵ و ۱/۵ درصد)، زمان‌ها (۰، ۶۰ و ۲۴۰ دقیقه) و دماهای (۰، ۶۰ و ۸۰ درجه سانتی‌گراد) موردنظر در طول ۳ ساعت انجام شد. محلول ژلاتین به دست آمده را با کمک صافی با مش ۱۰۰ صاف و تا خشک شدن کامل، در پلیت‌های مخصوص و آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند.

خصوصیات فیزیکوشیمیایی پوست

میزان پروتئین نمونه پوست با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری پروتئین میکروکلadal ((شرکت بوخی، ساخت سوئد) شامل بخش‌های هضم و تقطیر) طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۳۴۷۴ (Institute of Standards and Industrial Research of Iran [ISIRI], 1994) اندازه‌گیری شد؛ چربی پوست به روش سوکسله و طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۳۴۷۴ (ISIRI, 1994) مشخص گردید؛ مقدار رطوبت نمونه را به روش وزنی و با قراردادن آن در آون (مدل UFB400، شرکت ممرت، ساخت آلمان) و میزان خاکستر را نیز با قراردادن در کوره (مدل F2L 1500 شرکت ویک استار، ساخت انگلستان) و با توجه به روش استاندارد ملی ایران به شماره ۳۴۷۴ (ISIRI, 1994) اندازه‌گیری شد. در این آزمون‌ها در صورت نیاز، از ترازوی آزمایشگاهی (مدل جی‌آر، شرکت اند، ساخت ژاپن) با دقت 1 ± 0.000 استفاده شد.

الکتروفورز متصل کرده و بعد از عمل دناتوراسیون حرارتی نمونه‌ها، به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ انجام گرفت و سپس ۳۰ میکرولیتر از مخلوط نمونه ژلاتین و بافر و ۱۰ میکرولیتر از مارکر (استاندارد) به چاهک‌ها تزریق شد. الکتروفورز شروع به کار کرد و وقتی رنگ به انتهای شیشه رسید، جریان برق قطع شد و قالب شیشه‌ای از الکتروفورز جدا شد. سپس ژل را به مدت ۱۲ ساعت در محلول، غوطه‌ور نموده و پس از رنگ‌آمیزی، به مدت ۶ ساعت رنگبری روی آن صورت گرفت تا باندهای پروتئینی به‌وضوح مشاهده شود.

تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش‌ها براساس روش کامل‌اً تصادفی در قالب طرح مرکب مرکزی (CCD^۴) با ۶ تکرار در نقطه مرکزی برای سه متغیر و در سه سطح انجام شد. نتایج تحقیق با استفاده از نرم‌افزار Design Expert نسخه ۷ به روش سطح پاسخ (RSM) آنالیز شده و هریک از متغیرهای پاسخ (بازده استخراج، استحکام ژل و درجه هیدرولیز) در قالب مدل رگرسیون درجه اول (رابطه^۴) به صورت تابعی از متغیرهای مستقل (غلظت آنزیم، زمان هیدرولیز و دمای استخراج) ارائه شدند:

رابطه (۴)

$$y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i$$

هریک از متغیرهای پاسخ (ویسکوزیته و نقطه ذوب) در قالب رگرسیون درجه دوم به صورت تابعی از متغیرهای مستقل فرایند آنزیمی (غلظت آنزیم، زمان هیدرولیز و دمای استخراج) ارائه شدند (رابطه^۵):

رابطه (۵)

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \sum \beta_{ij} X_{ij}$$

در رابطه‌های (۴) و (۵)، Y نشان‌دهنده متغیر تابع یا پاسخ، β_0 ، β_{ii} و β_{ij} ضرایب مدل و X_i و X_{ij} متغیرهای مستقل می‌باشند.

نتایج و بحث تجزیه ترکیبات پوست

ترکیبات پوست گوسفند مورد استفاده در این تحقیق

تعیین درجه هیدرولیز

درجه هیدرولیز با استفاده از روش استاندارد AOAC (۲۰۰۰)^۱ تعیین شد. در این روش از تری‌کلرواستیک اسید^۱ (TCA) و سانتریفیوژ (مدل ۳E-1، ساخت آلمان) استفاده شد. درجه هیدرولیز نمونه‌ها با توجه به رابطه^(۳) محاسبه گردید:

رابطه (۳)

$$\text{مقدار نمونه برداشت شده از سانتریفیوژ محلول شده} \times 100 = \frac{\text{مقدار نیتروژن کل در نمونه}}{\text{مقدار نیتروژن کل در نمونه}} \quad (\text{درجه هیدرولیز})$$

تعیین نقطه ذوب

نقطه ذوب نمونه ژلاتین به دست آمده طبق استاندارد BSI 757 (BSI، 1975)² اندازه‌گیری شد. محلولی با غلظت ۶/۶۷ درصد تهیه و به لوله‌های آزمایش منتقل گردید. سپس آن را به مدت ۱۸-۱۲ ساعت در دمای یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) قرار داده و بعد از این مدت، ۲ تا ۳ قطره از محلول ۰/۵ درصدی متیل رد-کلروفرم^۳ را به لوله‌های حاوی نمونه افزوده و در حمام آب با دمای اولیه ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از آن دما به صورت تدریجی افزایش یافت و دمایی که در آن، قطره کلروفرم آزادانه به کف لوله سقوط کرد، به منزله نقطه ذوب ژلاتین ثبت گردید.

تعیین الگوی پروتئین به روش الکتروفورز

آزمون الکتروفورز ژل سدیم دودسیل سولفات-پلی‌اکریل‌آمید^۳ (SDS-PAGE) پروتئین ژلاتین با روش Laemmli (۱۹۷۰)^۴ و استفاده از دستگاه آنالیز الکتروفورز (مدل PS2000-2، شرکت سیگما، ساخت آمریکا) انجام شد. ابتدا ژل را در قالب آماده نموده و سپس به‌منظور الکتروفورز نمونه‌های ژلاتین از ۱۵ درصد (وزنی/حجمی) ژل جدا کننده در بین دو صفحه شیشه‌ای ریخته و با لایه نازکی از آب پوشانده شد. پس از انعقاد این لایه، آب بالایی آن را حذف کرده و روی آن، ۵ درصد (وزنی/حجمی) ژل متراکم‌کننده ریخته و بلا فاصله، شانه برای ایجاد چاهک، در ژل قرار داده شد. پس از آماده شدن ژل، قالب شیشه‌ای را به تانک پر از بافر

¹ Trichloroacetic acid

² Methylene red chloroform

³ Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

غلظت آنزیم، زمان هیدرولیز و دمای استخراج معنی‌دار ($P<0.01$) بودند (جدول ۲ و ۳). ضرایب همبستگی بازده استخراج با متغیرهای فرایند استخراج ژلاتین استحصال شده از پوست گوسفند (جدول ۴) نشان می‌دهد که اثر زمان هیدرولیز بر بازده استخراج بیش از اثر غلظت آنزیم و دمای استخراج می‌باشد. همچنین اثر غلظت آنزیم بر بازده استخراج بیش از اثر دمای استخراج می‌باشد. این امر به دلیل تأثیر زمان کافی برای بی ثبات کردن پیوندهای هیدروژن در مولکول کلژن می‌باشد که درنتیجه کلژن بیشتری هیدرولیز و به Mad-Ali, Benjakul, Prodpran, (۲۰۱۶c) & Maqsood, 2016c.

از نظر میزان پروتئین $23/54\pm1/43$ چربی $18/90\pm0/27$ ، خاکستر $27/91\pm0/35$ و رطوبت $28/93\pm0/10$ تعیین شد. این ترکیبات نشان‌دهنده خصوصیات ماده اولیه می‌باشد.

بازده استخراج

بازده استخراج ژلاتین تولید شده دارای مقادیر $9/79$ تا $14/65$ درصد می‌باشد (جدول ۱). متغیرهای مستقل به ترتیب، X_1 : غلظت آنزیم، X_2 : درجه هیدرولیز و X_3 : دمای استخراج و متغیرهای پاسخ به ترتیب Y_1 : راندمان استخراج، Y_2 : استحکام ژل، Y_3 : ویسکوزیته، Y_4 : درجه هیدرولیز و Y_5 : نقطه ذوب می‌باشد. نتایج آنالیز واریانس مدل سطح پاسخ در این پژوهش نشان داد که متغیرهای

جدول ۱- داده‌های آزمایشی استخراج آنزیمی و نتایج راندمان استخراج، استحکام ژل، ویسکوزیته، درجه هیدرولیز و نقطه ذوب ژلاتین

مشاهده‌ها	غلظت آنزیم (درصد)	درجه هیدرولیز (دقیقه)	دمای استخراج (سانتی‌گراد)	راندمان استخراج (درصد)	استحکام ژل (گرم)	ویسکوزیته (میلی‌پاسکال) بر ثانیه	متغیرهای پاسخ	
							نقطه ذوب (سانتی‌گراد)	درجه هیدرولیز (درصد)
۱	۰/۵	۲۴۰	۶۰	۱۲/۶	۱۷۰	۳/۲	۲۲	۲۴
۲	۰/۵	۶۰	۸۰	۱۰/۱	۱۸۳	۳/۶	۱۶	۲۷
۳	۰/۵	۶۰	۶۰	۹/۷۹	۱۸۵	۳/۷	۱۸	۲۴
۴	۰/۵	۲۴۰	۸۰	۱۲/۷	۱۶۵	۳	۲۱	۲۵
۵	۰/۵	۱۵۰	۷۰	۱۱	۱۷۵	۲/۹	۲۷	۲۶
۶	۱/۵	۱۵۰	۷۰	۱۱/۷	۱۳۷	۱/۷	۲۹	۲۷
۷	۱/۵	۲۴۰	۷۰	۱۳/۹۶	۱۳۱	۱/۵	۳۰	۲۳
۸	۱/۵	۶۰	۷۰	۱۰/۴۶	۱۴۰	۱/۹	۲۳	۲۵
۹	۱/۵	۱۵۰	۷۰	۱۱/۱۳	۱۳۵	۱/۷	۲۶	۲۲
۱۰	۱/۵	۱۵۰	۷۰	۱۱	۱۳۷	۱/۹	۲۵	۲۶
۱۱	۱/۵	۱۵۰	۷۰	۱۱/۹	۱۳۵	۱/۶	۲۹	۲۷
۱۲	۱/۵	۱۵۰	۶۰	۱۰/۹۲	۱۴۰	۱/۷	۳۱	۲۴
۱۳	۱/۵	۱۵۰	۸۰	۱۳/۵۳	۱۳۱	۱/۶	۲۴	۲۳
۱۴	۱/۵	۱۵۰	۷۰	۱۲/۲۷	۱۳۶	۱/۹	۲۹	۲۵
۱۵	۱/۵	۱۵۰	۷۰	۱۲/۳۵	۱۳۴	۱/۷	۳۰	۲۲
۱۶	۲/۵	۲۴۰	۸۰	۱۴/۳	۸۷	۱	۳۷	۱۵
۱۷	۲/۵	۶۰	۶۰	۱۲/۹	۹۷	۱/۴	۳۱	۱۹
۱۸	۲/۵	۲۴۰	۶۰	۱۴/۶۵	۸۷	۰/۹	۳۵	۱۶
۱۹	۲/۵	۱۵۰	۷۰	۱۲/۰۵	۹۵	۱/۲	۳۳	۱۷
۲۰	۲/۵	۶۰	۸۰	۱۲/۷	۱۰۷	۱/۶	۲۷	۲۰

جدول ۲- ضرایب برآوردشده مدل‌های رگرسیون راندمان استخراج، استحکام ژل، ویسکوزیته، درجه هیدرولیز و نقطه ذوب در استخراج آنزیمی ژلاتین

ضریب	درجه آزادی (درصد)	بازده استخراج (در گرم)	استحکام ژل (گرم)	ویسکوزیته (میلی‌پاسکال بر ثانیه)	درجه هیدرولیز (درصد)	نقطه ذوب (سانتی‌گراد)
X ₁	۱	۱/۰۴**	-۴۰/۵۰**	-۱/۰۳**	۵/۹۰**	-۴/۲۰**
X ₂	۱	۱/۲۲**	-۷/۲۰**	-۰/۲۶**	۳**	-۱/۵۰*
X ₃	۱	۰/۲۵**	-۰/۶۰ ns	-۱×۱۰ ^{-۰/۰۲} ns	-۱/۲۰ ns	۰/۰۰۰۱ ns
X ₁ X ₂	۱	-	-	۰/۰۰۰۱ ns	-	-۰/۳۸ ns
X ₁ X ₃	۱	-	-	۰/۰۸ ns	-	-۰/۱۳ ns
X ₂ X ₃	۱	-	-	۰/۰۳ ns	-	-۰/۱۳ ns
X ₁ ²	۱	-	-	۰/۴۵**	-	-۲/۵۰*
X ₂ ²	۱	-	-	۰/۱۰ ns	-	۰/۰۰۰۱ ns
X ₃ ²	۱	-	-	۰/۰۵ ns	-	-۰/۵۰ ns

(ns) غیرمعنی‌دار، (*) معنی‌دار در سطح آماری ۵ درصد و (**) معنی‌دار در سطح آماری ۱ درصد

جدول ۳- آنالیز واریانس رگرسیون راندمان استخراج، استحکام ژل، ویسکوزیته، درجه هیدرولیز و نقطه ذوب در استخراج آنزیمی ژلاتین

مجموع مریعات										منابع تنوع
نقطه ذوب (سانتی‌گراد)	درجه آزادی	درجه هیدرولیز (درصد)	درجه آزادی	ویسکوزیته (میلی‌پاسکال بر ثانیه)	درجه آزادی	استحکام ژل (گرم)	درجه آزادی	بازده استخراج (درصد)	درجه آزادی	منابع تنوع
۱۹۸/۹۰**	۳	۴۵۲/۵۰**	۳	۱۱/۲۹**	۳	۱۶۹۲۴/۵۰**	۳	۲۶/۴۸**	۳	خطی
۴۰/۰۰*	۳	۳۲/۷۰ ns	۳	۱/۴۵**	۳	۴/۳۴ ns	۳	۲/۶۴ ns	۳	درجه دوم
۱/۳۸ ns	۳	۹/۳۸ ns	۳	۰/۰۵ ns	۳	۵۸/۳۸ ns	۳	۰/۶۶**	۳	حاصلضرب‌ها
۲۴۰/۲۸**	۹	۴۵۲/۵۰**	۳	۱۲/۷۹**	۹	۱۶۹۲۴/۵۰**	۳	۲۶/۴۸**	۳	مدل

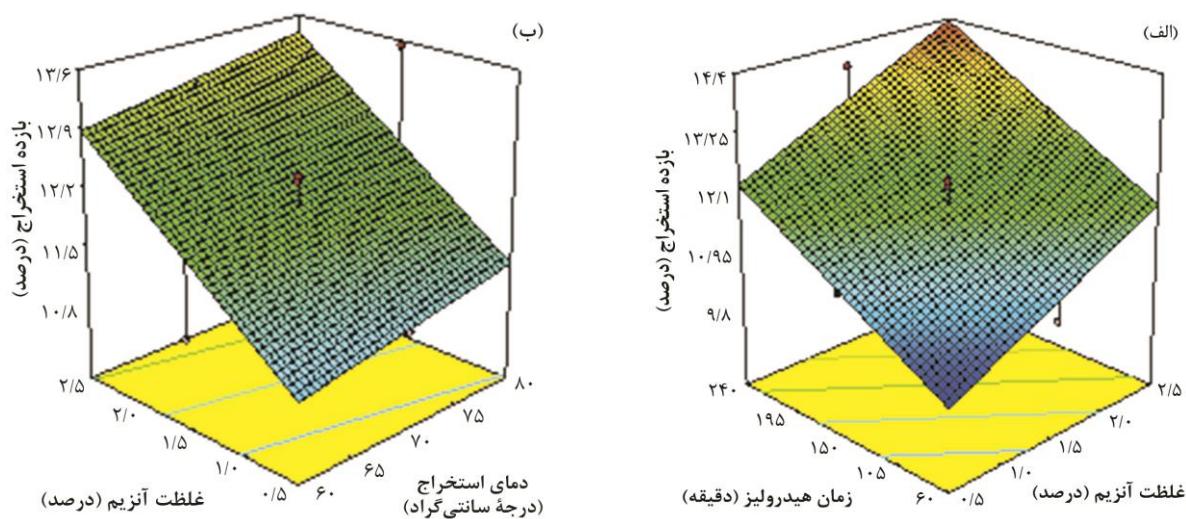
(ns) غیرمعنی‌دار، (*) معنی‌دار در سطح آماری ۵ درصد و (**) معنی‌دار در سطح آماری ۱ درصد

جدول ۴- ضرایب همبستگی میان متغیرهای فرایند استخراج آنزیمی و متغیرهای تابع

ضریب همبستگی							متغیر
نقطه ذوب (سانتی‌گراد)	درجه هیدرولیز (درصد)	ویسکوزیته (میلی‌پاسکال بر ثانیه)	استحکام ژل (گرم)	بازده استخراج (درصد)			متغیر
-۰/۸۱	۰/۷۹	-۰/۹۰	-۰/۹۸	۰/۰۵۵			غلظت آنزیم
-۰/۲۹	۰/۴۰	-۰/۲۳	-۰/۱۷	۰/۰۶۵			زمان هیدرولیز
۰/۰۰	-۰/۱۶	-۰/۰۱	-۰/۰۱	۰/۰۱۳			دماه استخراج

افزایش می‌یابد (شکل ۱-ب). با افزایش میزان غلظت آنزیم میزان کلائزهای محلول بیشتر می‌گردد، بدین ترتیب کلائز بیشتر و سریع‌تر هیدرولیز می‌شود. درنتیجه افزایش هیدرولیز، زنجیره‌های پروتئینی بیشتری در هلیکس سه‌تایی کلائز دچار شکستگی شده و درنتیجه میزان کلائز تولیدی بیشتر می‌شود (Mulyani *et al.*, 2017).

رونده تغییرات مقدار بازده استخراج در ژلاتین استحصلال شده از پوست گوسفند در شکل (۱) نشان داده شده است. شکل (۱-الف) نشان می‌دهد که در یک دما استخراج ثابت با افزایش غلظت آنزیم از ۰/۰۵ به ۰/۰۲۵ درصد و زمان هیدرولیز از ۶۰ به ۲۴۰ دقیقه، بازده استخراج ژلاتین افزایش می‌یابد و همچنین در یک زمان هیدرولیز ثابت افزایش غلظت آنزیم و دما استخراج، بازده استخراج



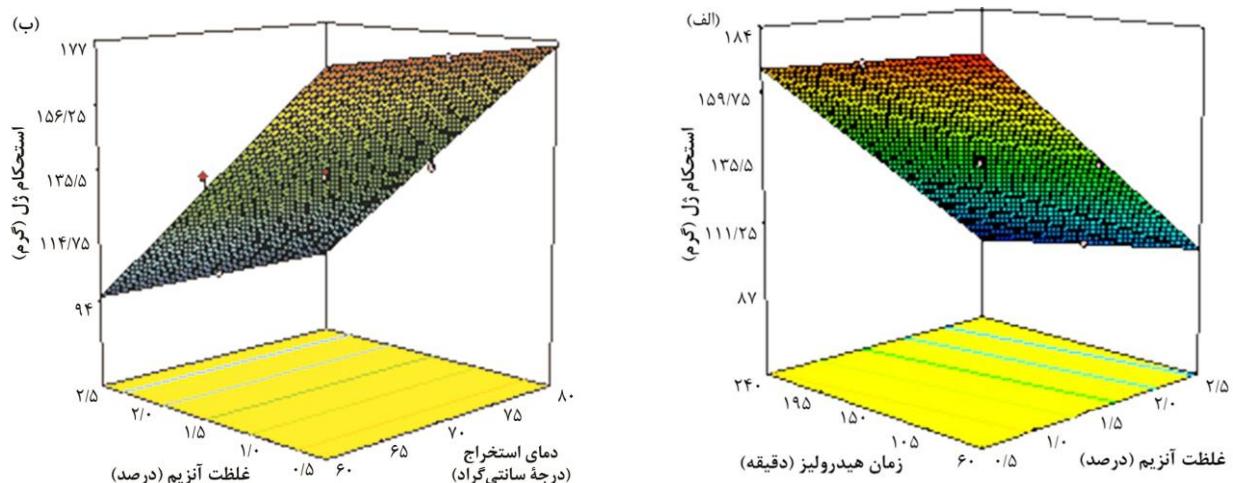
شکل ۱- تأثیر هم‌زمان متغیرهای غلظت آنژیم، زمان هیدرولیز و دمای استخراج بر بازده استخراج ژلاتین

(جدول ۴)

روند تغییرات استحکام ژل در استخراج ژلاتین استحصلال شده از پوست گوسفند با متغیرهای غلظت آنژیم، زمان هیدرولیز و دمای استخراج در شکل (۲) نشان داده شده است. در شکل (۲-ب) عدم تأثیر دمای استخراج روی استحکام ژل مشاهده می‌شود. همچنین نشان می‌دهند که با افزایش غلظت آنژیم، مقدار استحکام ژل کاهش می‌یابد. تأثیر غلظت آنژیم و زمان هیدرولیز روی کاهش استحکام ژل بهدلیل افزایش هیدرولیز و تولید زنجیرهای کوتاه پپتیدی می‌باشد که درنهایت، کاهش در وزن مولکولی ژلاتین تولیدی سبب کاهش در قدرت تشکیل ژل می‌شود (Lassoued *et al.*, 2014).

استحکام ژل (بلوم)

بلوم^۱ در واقع میزان سختی و ثبات، استحکام و تراکم پذیری ژل در دمای موردنظر است؛ یکی از ویژگی‌های کاربردی مهم ژلاتین که با اعمال بار (گرم) برای فشرده‌سازی ژل در Ahmed, Ptaszek, & Basu, 2016 شرایط عادی، آن را اندازه می‌گیرند (Girard, 2016). نتایج آنالیز واریانس اثر کلی متغیرهای فرایند روی استحکام ژل نشان داد که فقط اثرات خطی غلظت آنژیم و زمان هیدرولیز مدل تأثیر معنی‌داری ($P < 0.01$) داشتند (جدول ۲). ضرایب همبستگی میان متغیرهای فرایند و متغیرهای تابع نشان می‌دهد که غلظت آنژیم، تأثیر بیشتری روی کاهش میزان استحکام ژل نسبت به زمان هیدرولیز و دمای استخراج دارد. همچنین اثر دمای استخراج روی استحکام ژل کمتر از زمان هیدرولیز می‌باشد



شکل ۲- تأثیر هم‌زمان متغیرهای غلظت آنژیم، زمان هیدرولیز و دمای استخراج بر استحکام ژل ژلاتین

¹ Bloom

زمان هیدرولیز و دمای استخراج می‌باشد.

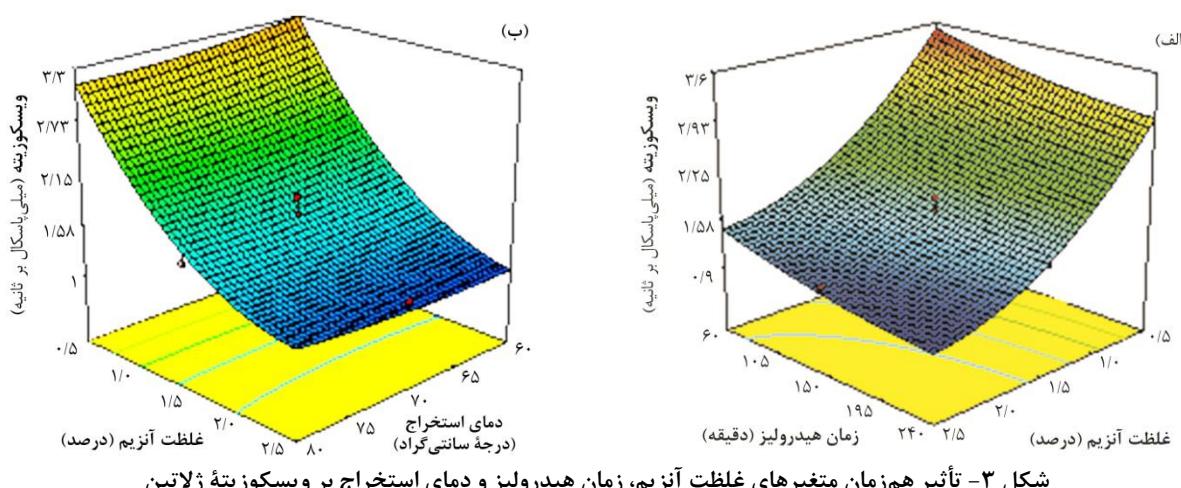
همان‌گونه که در شکل (۳-الف) نشان می‌دهد در دمای استخراج ثابت، با افزایش غلظت آنزیم و زمان هیدرولیز مقدار ترکیبات هیدرولیز شده افزایش و درنتیجه مقدار ویسکوزیته کاهش می‌یابد. این کاهش ممکن است درنتیجه مدت زمان هیدرولیز، زنجیرهای پپتیدی با وزن مولکولی پایین ایجاد گردد که درنهایت ژلاتین با ویسکوزیته پایین تولید می‌شود (Mohammad, Kumar, & Basha, 2015; Rafieian, Keramat, & Shahedi, 2015). همچنین شکل (۳-ب) نشان می‌دهد که در غلظت‌های بالای آنزیم، دمای استخراج روی ویسکوزیته تأثیر معنی‌داری نداشت. فاکتور عدم برآش برای صفت ویسکوزیته در سطح ۹۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۵).

ویسکوزیته

توزیع وزن مولکولی، pH، غلظت، شرایط پیش‌عملیات، اندازه و توزیع مولکولی و پراکندگی بر ویسکوزیته مؤثرند (Mulyani *et al.*, 2017; Sanaei, Mahmoodani, See, Yusop, & Babji, 2013; ShahiriTabarestani *et al.*, 2010; Talapphet *et al.*, 2017). نتایج نشان داد که، غلظت آنزیم و زمان هیدرولیز دو فاکتور مهم تأثیرگذار بر ویسکوزیته ژلاتین استحصلال شده از پوست گوسفند بودند ($P<0.01$). در مقابل متغیر دمای استخراج تأثیر معنی‌داری بر ویسکوزیته نداشت (جدول ۲). ضرایب همبستگی متغیرهای فرایند با ویسکوزیته (جدول ۴) نشان می‌دهد که اثر غلظت آنزیم روی مقدار ویسکوزیته ژلاتین استحصلال شده از پوست گوسفند بیش از اثر

جدول ۵- شاخص‌های نیکوبی برآش شده بازده استخراج، استحکام ژل، ویسکوزیته، درجه هیدرولیز و نقطه ذوب

نقطه ذوب (سانتی‌گراد)	درجه هیدرولیز (درصد)	ویسکوزیته (میلی‌پاسکال بر ثانیه)	استحکام ژل (گرم)	بازده استخراج (درصد)	متغیر
۰/۸۸	۰/۸۱	۰/۹۸	۰/۹۹	۰/۷۰	ضریب تعیین تعییل شده
۸۱/۸۳	۱۶۶/۴۵	۱/۱۲	۲۶۷/۹۰	۱۴/۳۸	مجموع مربعات خطای پیشگویی
۰/۱۸ ^{ns}	۱/۸۶ ^{ns}	۲/۱۸ ^{ns}	۳/۷۷ ^{ns}	۲/۱۲ ^{ns}	فقدان برآش
۷/۷۴	۹/۳۰	۷/۷۹	۲/۲۰	۶/۲۲	ضریب تغییرات
(ns) غیرمعنی‌دار					



شکل ۳- تأثیر هم‌زمان متغیرهای غلظت آنزیم، زمان هیدرولیز و دمای استخراج بر ویسکوزیته ژلاتین

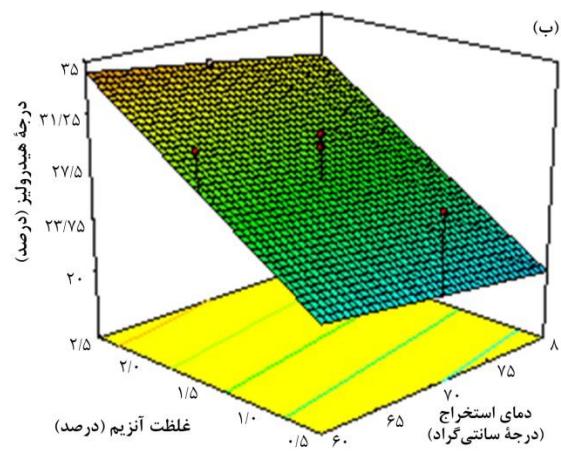
متغیرهای فرایند و متغیر وابسته (جدول ۴) نشان می‌دهد که اثر متغیر غلظت آنزیم بر درجه هیدرولیز بیش از دو متغیر دیگر می‌باشد. تأثیر هم‌زمان غلظت آنزیم، زمان هیدرولیز و دمای استخراج روی درجه هیدرولیز ژلاتین استحصلال شده از پوست گوسفند در شکل (۴) نشان داده شده است.

شکل (۴) به خوبی نشان می‌دهد که زمان هیدرولیز و

درجه هیدرولیز (DH)

درجه هیدرولیز بهمنزله پارامتر نظارت بر عملکرد پروتئولیز به کار می‌رود و بهترین آزمون برای مقایسه بین هیدرولیز پروتئین‌های مختلف است. آنالیز واریانس، معنی‌داربودن اثر غلظت آنزیم و زمان هیدرولیز ($P<0.01$) بر درجه هیدرولیز ژلاتین استحصلال شده از پوست گوسفند را نشان می‌دهد (جدول ۲). ضرایب همبستگی پیرسون میان

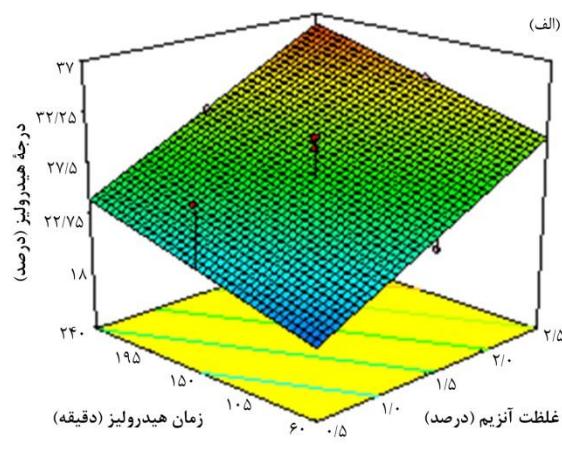
(2009; See *et al.*, 2011). البته انتخاب مقدار غلظت آنزیم باید با توجه به کل زنجیره‌های پیتیدی در سوبسترا و درجه شکست مناسب پروتئین انتخاب شود تا هزینه‌های مصرفی Gbogouri, Linder, Fanni, & (Parmentier, 2004) را کاهش دهد ().



شکل ۴- تأثیر هم‌زمان متغیرهای غلظت آنزیم، زمان هیدرولیز و دمای استخراج بر درجه هیدرولیز ژلاتین

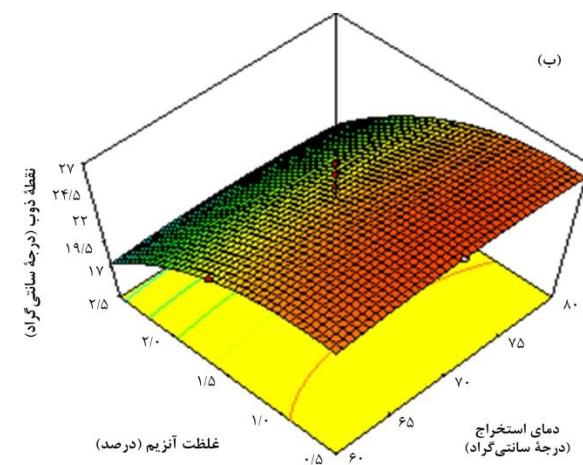
متغیر غلظت آنزیم روی نقطه ذوب ژلاتین استحصال شده بیش از زمان هیدرولیز است. تأثیر هم‌زمان غلظت آنزیم، زمان هیدرولیز و دمای استخراج روی نقطه ذوب ژلاتین در شکل (۵) نشان داده شده است. شکل (۵-ب) به خوبی نشان می‌دهد که دمای استخراج تأثیر زیادی روی میزان نقطه ذوب محلول ژلاتین ندارد.

غلظت آنزیم تأثیر زیادی روی درجه هیدرولیز محلول ژلاتین دارد. واضح است که با افزایش غلظت آنزیم، باندهای پیتیدی در سوبسترا بیشتر شکسته می‌شوند و درنتیجه درجه هیدرولیز نهایی را افزایش می‌دهند Giménez, Alemán, Montero, & Gómez-Guillén, (



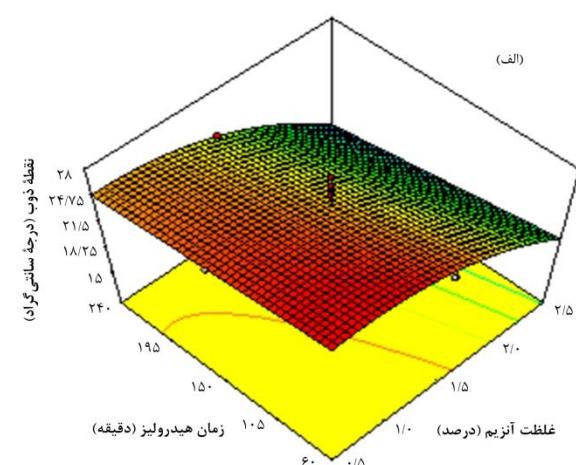
نقطه ذوب

همان‌طور که نتایج آنالیز واریانس مدل سطح پاسخ (جدول ۳) نشان می‌دهد اثر غلظت آنزیم تأثیر ($P<0.01$) معنی‌داری بر نقطه ذوب ژلاتین حاصل از پوست گوسفند داشت. نقطه ذوب ژلاتین تولیدشده دارای طیف دمایی ۱۵ تا ۲۷ درجه سانتی‌گراد بود. همچنین ضرایب همبستگی میان متغیرهای فرایند (جدول ۴) نشان می‌دهد که اثر



شکل ۵- تأثیر هم‌زمان متغیرهای غلظت آنزیم، زمان هیدرولیز و دمای استخراج بر نقطه ذوب ژلاتین

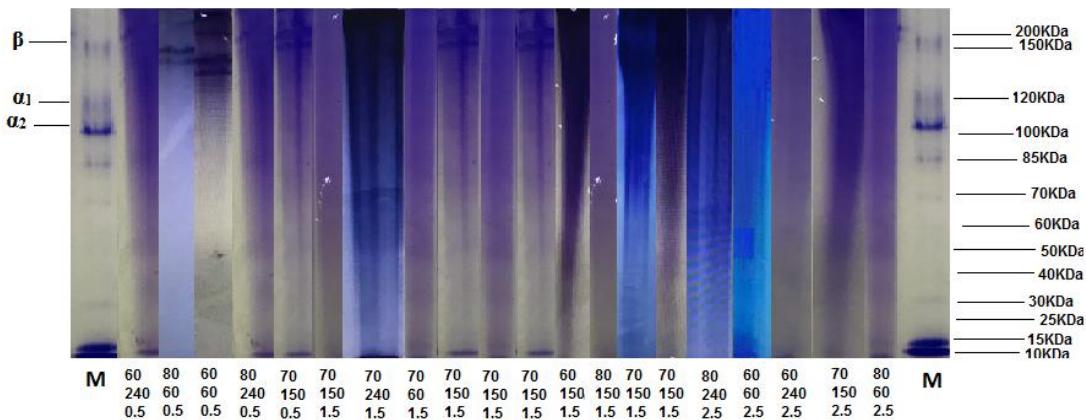
حاوی ترکیبات اصلی زنجیره β و باندهای پروتئینی زنجیره α است. بیشترین وزن مولکولی نمونه‌های ژلاتین تولیدشده در غلظت آنزیم پایین، بدون درنظر گرفتن زمان هیدرولیز



تعیین الگوی پروتئین به روش الکتروفورز SDS-PAGE (شکل ۶) نشان می‌دهد که بعضی از نمونه‌های ژلاتین به دست آمده از پوست گوسفند

مجموع، با افزایش زمان، امکان تخریب ترکیبات زنجیره α و β و حتی ازبین رفتن کامل آنها بیشتر می‌شود. مشخص شد که دمای استخراج در وزن مولکولی تأثیر چشمگیری نداشت (Du, Khiari, Pietrasik, & Betti, 2013; Mad-Ali *et al.*, 2016a; Souissi, Bougatef, Triki-Ellouz, & Nasri, 2007). بنابراین غلظت آنزیم و زمان هیدرولیز بر ترکیبات ژلاتین تولید شده تأثیر دارد. از پروتئین نشانگر با وزن مولکولی مشخص بهمنزله استاندارد وزن مولکولی استفاده شد.

مشاهده شد. البته وجود برخی از مولکول‌های بزرگ ممکن است نتیجه تولید پروتئین‌های بزرگ موجود در مواد خام باشد که بر اثر هیدرولیز ناقص به وجود آمدند. به طور کلی، وزن مولکولی ژلاتین استخراج شده متأثر از فرایند هیدرولیز است که به تقسیم‌شدن باندهای پیتیدی و نیز پیوند عرضی درون مولکولی بین زنجیره‌های پیتیدی کمک می‌کند (Nalinanon, Benjakul, Visessanguan, & Kishimura, 2008; Xu *et al.*, 2017). با بالارفتن زمان هیدرولیز (مثلاً از ۶۰ به ۲۴۰ دقیقه)، فرایند شکست در باندها بیشتر اتفاق می‌افتد و ژلاتین با وزن مولکولی پایین حاصل می‌شود. در



شکل ۶ - پروفایل‌های SDS-PAGE ژلاتین استحصال شده از ضایعات پوست گوسفند با استفاده از غلظت‌های مختلف آنزیم در دماهای مختلف استخراج برای زمان‌های هیدرولیز مختلف؛ (M) نشانگر وزن مولکولی است و اعداد در هر ستون از بالا به پایین به ترتیب نشان‌دهنده دمای استخراج (درجه سانتی‌گراد)، زمان هیدرولیز (دقیقه) و غلظت آنزیم (درصد) می‌باشند.

و آنالیزهای انجام شده، دمای استخراج ۶۰ درجه سانتی‌گراد، ۰/۵ درصد غلظت آنزیم و ۱۶۶ دقیقه زمان هیدرولیز به عنوان نقطه بهینه اعلام شد که در آن، روند استخراج ژلاتین از پوست گوسفند در شرایط ایده‌آل بود و تقریباً تمام عوامل مورد بررسی، در شرایط مطلوب بودند.

تشکر و قدردانی

از همکاری آزمایشگاه‌های سورن‌تک‌توس، سرم‌سازی رازی و کارشناسان این واحدهای آزمایشگاهی و تمام عزیزانی که با همکاری‌های صمیمانه خود، انجام این پژوهش را ممکن و به ما یاری رساندند، تشکر و قدردانی می‌کنیم.

نتیجه‌گیری

این تحقیق نشان داد که می‌توان با روش بهینه‌سازی سطح پاسخ، فرایند استخراج آنزیمی از ضایعات پوست گوسفند را مدل‌سازی کرد و با توجه به مصرف گستردۀ ژلاتین در صنایع غذایی، که هر سال سبب افزایش واردات این محصول از سایر کشورها و خروج مقادیر زیادی ارز از کشور می‌شود، پیشنهاد می‌شود ضایعات پوست گوسفند در صنایع دباغی بهمنزلۀ منبع خوبی برای تولید ژلاتین در مقیاس نیمه‌صنعتی ارزیابی شود. در این پژوهش، استفاده از آنزیم و پیش‌عملیات در فرایند استخراج، بر خصوصیات و ویژگی‌های ژلاتین حاصل شده مؤثر بودند. با توجه به آزمون‌ها

منابع

- Ahmed, J., Ptaszek, P., & Basu, S. (2016). *Advances in food rheology and its applications*: Woodhead Publishing.
- AOAC. (2000). *Official Methods of Analysis*. 17th ed. In Association of official analytical chemists. Gaithersburg, Maryland, USA.
- British Standards Institution. (1975). *Methods for Sampling and Testing Gelatin (Physical and Chemical Methods)* (Vol. 757): BSI.

- Du, L., Khiari, Z., Pietrasik, Z., & Betti, M. (2013). Physicochemical and functional properties of gelatins extracted from turkey and chicken heads. *Poultry Science*, 92(9), 2463-2474. doi:<https://doi.org/10.3382/ps.2013-03161>
- Gbogouri, G., Linder, M., Fanni, J., & Parmentier, M. (2004). Influence of hydrolysis degree on the functional properties of salmon byproducts hydrolysates. *Journal of Food Science*, 69(8), C615-C622. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb09909.x>
- Giménez, B., Alemán, A., Montero, P., & Gómez-Guillén, M. (2009). Antioxidant and functional properties of gelatin hydrolysates obtained from skin of sole and squid. *Food Chemistry*, 114(3), 976-983. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.050>
- Hosseiniparvar, S. H., Keramat, J., Kadivar, M., Khanipour, E., & Milani, E. (2006). Optimization of Enzymic Extraction of Edible Gelatin from Cattle Bones Using Response Surface Methodology (RSM). *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 2(1), 1-14. (in Persian)
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (1994). *Specification for gelatin, "Food grad"*. (ISIRI Standard No. 3474). Retrieved from <http://standard.isiri.gov.ir/StandardFiles/3474.htm>. (in Persian)
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *nature*, 227(5259), 680-685. doi:<https://doi.org/10.1038/227680a010.1038/227680a0>
- Lassoued, I., Jridi, M., Nasri, R., Dammak, A., Hajji, M., Nasri, M., & Barkia, A. (2014). Characteristics and functional properties of gelatin from thornback ray skin obtained by pepsin-aided process in comparison with commercial halal bovine gelatin. *Food Hydrocolloids*, 41, 309-318. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.04.029>
- Mad-Ali, S., Benjakul, S., Prodpran, T., & Maqsood, S. (2016a). Characteristics and Gel Properties of Gelatin from Goat Skin as Influenced by Alkaline-pretreatment Conditions. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 29(6), 845-854. doi:<https://doi.org/10.5713/ajas.15.0784>
- Mad-Ali, S., Benjakul, S., Prodpran, T., & Maqsood, S. (2016b). Interfacial properties of gelatin from goat skin as influenced by drying methods. *LWT-Food Science and Technology*, 73, 102-107. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.05.048>
- Mad-Ali, S., Benjakul, S., Prodpran, T., & Maqsood, S. (2016c). Characteristics and gel properties of gelatin from goat skin as affected by pretreatments using sodium sulfate and hydrogen peroxide. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(6), 2193-2203. doi:<https://doi.org/10.1002/jsfa.7336>
- Mad-Ali, S., Benjakul, S., Prodpran, T., & Maqsood, S. (2017). Characteristics and Gel Properties of Gelatin from Goat Skin as Affected by Extraction Conditions. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(3), e12949. doi:<https://doi.org/10.1111/jfpp.12949>
- Mohammad, A. W., Kumar, A. G., & Basha, R. K. (2015). Optimization of enzymatic hydrolysis of tilapia (Oreochromis Spp.) scale gelatine. *International Aquatic Research*, 7(1), 27-39. doi:<https://doi.org/10.1007/s40071-014-0090-6>
- Mulyani, S., Setyabudi, F., Pranoto, Y., & Santoso, U. (2017). The effect of pretreatment using hydrochloric acid on the characteristics of buffalo hide gelatin. *Journal of Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 42(1), 14-22. doi:<https://doi.org/10.14710/jitaa.42.1.14-22>
- Nalinanon, S., Benjakul, S., Visessanguan, W., & Kishimura, H. (2008). Improvement of gelatin extraction from bigeye snapper skin using pepsin-aided process in combination with protease inhibitor. *Food Hydrocolloids*, 22(4), 615-622. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.01.012>
- Rafieian, F., Keramat, J., & Shahedi, M. (2015). Physicochemical properties of gelatin extracted from chicken deboner residue. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 1370-1375. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.04.050>
- Salwanee, S., Mustapha, W. A. W., Mamot, S., Maskat, M. Y., & Ibrahim, S. (2013). Effects of enzyme concentration, temperature, pH and time on the degree of hydrolysis of protein extract from viscera of tuna (*Euthynnus affinis*) by using alcalase. *Sains Malaysiana*, 42(3), 279-287.
- Sanaei, A., Mahmoodani, F., See, S., Yusop, S. M., & Babji, A. S. (2013). Optimization of gelatin extraction and physico-chemical properties of catfish (*Clarias gariepinus*) bone gelatin. *International Food Research Journal*, 20(1), 423.
- See, S., Hoo, L., & Babji, A. S. (2011). Optimization of enzymatic hydrolysis of Salmon (*Salmo salar*) skin by Alcalase. *International Food Research Journal*, 18(4).
- ShahiriTabarestani, H., Maghsoudlou, Y., Motamedzadegan, A., & Sadeghi Mahoonak, A. (2010). Optimization of physico-chemical properties of gelatin extracted from fish skin of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Bioresource Technology*, 101(15), 6207-6214. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.02.071>
- Souissi, N., Bougatef, A., Triki-Ellouz, Y., & Nasri, M. (2007). Biochemical and functional properties of sardinella (*Sardinella aurita*) by-product hydrolysates. *Food Technology and Biotechnology*, 45(2), 187-194.
- Talapphet, N., Prommajak, T., & Raviyan, P. (2017). Process Optimization and Properties of Crude Gelatin Extracted from Tannery Bovine Hide. *Food and Applying Bioscience Journal*, 5(3), 132-148. doi:<https://doi.org/10.14456/fabj.2017.11>
- Tehran Chamber of Commerce, Industries, Mines and Agriculture. (2017). Retrieved from <http://tccim.ir/news/FullStory.aspx?nid=49230> (in Persian)
- Xu, M., Wei, L., Xiao, Y., Bi, H., Yang, H., & Du, Y. (2017). Physicochemical and functional properties of gelatin extracted from Yak skin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 95, 1246-1253. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.11.020>

Optimization of Gelatin Extraction Process, from Sheep Skin Waste Using Alcalase Enzyme by Response Surface Method

Mahdi Zarei¹, Mostafa Mazaheri Tehrani^{2*}, Hasan Rashidi³, Mohsen Fathi Najafi⁴

1-Ph.D. Student, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

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

* Corresponding author (mmazaheri@um.ac.ir)

3-Assistant Professor, Department of Food Industries, Agricultural Research and Education Center, Khorasan Razavi, Agricultural Research and Training Organization, Mashhad, Iran

4-Assistant Professor of Razi Vaccine and Serum Research Center, Mashhad, Iran

Abstract:

This study determined the optimal conditions for enzyme-assisted gelatin extraction from sheep skin waste using the effects of three variables: enzyme concentration (0.5-2.5%), hydrolysis time (60-240 min), and extraction temperature (60-80 °C). The impact of these three variables was studied on extraction, yield, gel strength, viscosity, degree of hydrolysis, melting point and SDS-PAGE, and the results were analyzed by using the central composite design (CCD) and response surface methodology (RSM). Also the analysis of variance table showed that the lack of fit was not significant for all response surface models at 95%. The results showed that enzyme concentration 0.5%, hydrolysis time of 166 min, and extraction temperature 60 °C are the desirable condition for optimal extraction (11.03%) and optimal degree of hydrolysis (23.00%). In addition, the effects of these three variables on gel strength, viscosity and melting point were significant, and in optimal conditions, gel strength was measured as 175.33 g, viscosity as 3.26 Mpa/sec, and melting point as 25.39 °C.

Keywords: Enzymatic Extraction, Gelatin, Response Surface, Sheep Skin Waste

مدل سازی و بهینه‌یابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی، حسی و قابلیت زنده‌مانی باکتری لاكتوباسیلوس اسیدوفیلوس در پنیر فراپالوده سین‌بیوتیک حاوی آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی، محلول پودر آب‌پنیر و اینولین

فرشته ترابی^۱، حسین جوینده^{*۲}، محمد نوشاد^۳، حسن بروزگر^۴

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاٹانی، ایران

۲- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاٹانی، ایران

* نویسنده مسئول (hosjooy@asnrukh.ac.ir)

۳- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاٹانی، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۱۰

چکیده

واژه‌های کلیدی
آنزیم ترانس‌گلوتامیناز
اینولین
پنیر سین‌بیوتیک
روش سطح پاسخ
لاكتوباسیلوس/اسیدوفیلوس

تقاضای روزافزون مصرف کنندگان برای غذاهای سالم، انگیزه بالایی در پیشرفت محصولات غذایی جدید در سرتاسر جهان ایجاد نموده است. محصولات عملگرای بهویژه فراوردهای سین‌بیوتیک، از جمله این محصولات هستند. در این تحقیق، تأثیر غلظت آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی (۰-۱۶ درصد) و اینولین (۰-۲ درصد) بر خواص فیزیکوشیمیایی، آب‌پنیر املاح‌گیری شده (۰-۱۶ درصد) و اینولین (۰-۲ درصد) بر خواص فیزیکوشیمیایی، حسی و میکروبی پنیر سفید فراپالوده سین‌بیوتیک با استفاده از روش سطح پاسخ بررسی گردید. جهت تولید پنیر، از باکتری لاكتوباسیلوس/اسیدوفیلوس LA5 به عنوان باکتری پروبیوتیک و از اینولین و محلول پودر آب‌پنیر دمینراله به عنوان مواد پری‌بیوتیک استفاده گردید. نتایج نشان داد که تیمار آنزیمی ترانس‌گلوتامیناز سبب افزایش معنی‌دار رطوبت پنیر گردید ($P < 0.05$) اما تأثیری بر اسیدیته و سایر خواص فیزیکوشیمیایی و حسی نمونه‌ها نداشت. با افزایش جایگزینی محلول پودر آب‌پنیر با ناتراوه، مقادیر چربی و پروتئین ($P < 0.01$) و تمامی ویژگی‌های حسی پنیر کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) یافت اما اسیدیته تغییر چندانی نکرد. همچنین با افزایش اینولین، پارامترهای اسیدیته، رنگ و ظاهر، عطر و طعم ($P < 0.05$) افزایش و رطوبت ($P < 0.01$) کاهش یافت. با افزایش اینولین ($P < 0.05$) و محلول پودر آب‌پنیر ($P < 0.05$)، تعداد پروبیوتیک‌ها افزایش یافت در حالی که افزایش غلظت آنزیم اثر معکوسی داشت و سبب کاهش ($P < 0.05$) آن شد. نتایج بهینه‌سازی نشان داد که با بهکارگیری مقدار ۰/۴۳ واحد آنزیم بهازای هر گرم پروتئین، ۸/۲۴ درصد محلول پودر آب‌پنیر دمینراله و ۰/۷۱ درصد اینولین می‌توان پنیر سفید فراپالوده سین‌بیوتیک با ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی مناسب تولید نمود. در این شرایط، نمونه بهینه از پذیرش کلی قابل قبول (۷/۷۶) و شمارش بالای باکتری‌های پروبیوتیک (۶/۹۶ لگاریتم واحد کلی در گرم) برخوردار بود.

در ژاپن مطرح گشت. نکاتی نظری رابطه رژیم غذایی و
جلوگیری از ابتلاء به بیماری‌های سخت و مزمن سبب شد

مقدمه

اصطلاح غذاهای عملگرای برای اولین بار از اوایل سال ۱۹۸۰

پری‌بیوتیک/بیفیدوژنیک عمل می‌کند شامل ایمونوگلوبولین^۲، لاکتوفرین^۳ و گلیکوماکروپپتید^۴ می‌باشد (Alimoradi, Hojaji, Jooyandeh, Moghadam, & Moludi, 2016; Geiser, 2003) اصلی‌ترین ترکیبات آب‌پنیر است که به عنوان پری‌بیوتیک عمل می‌کند و همچنین باعث جذب آهن به پروتئین می‌شود (Geiser, 2003).

آنزیم ترانس‌گلوتامیناز یک آسیل ترانسفراز است که می‌تواند واکنش‌هایی مانند ایجاد اتصالات عرضی، انتقال آسیل و دامیداسیون^۵ را کاتالیز یا تسريع کند. اتصالات عرضی بین اسید‌آمینه‌های گلوتامین و لیزین موجب تغییر در ویژگی‌های رئولوژیکی دلمه و روند انعقاد دلمه، جلوگیری از درهم‌آمیختگی گلوبول‌های چربی، باقی‌ماندن مقدار بیشتری از پروتئین‌های آب‌پنیر در دلمه و تحت تأثیر قراردادن مراحل اولیه و ثانویه انعقاد در پنیر می‌شود (Bönisch, Tolkach, & Kulozik, 2006). براین‌ساس، به‌وسیله تیمار آنزیمی می‌توان بافت پنیر حاصله از تلفیق کسانتره پروتئینی آب‌پنیر را اصلاح نمود (Özer, Hayaloglu, Yaman, Gürsoy, & Şener, 2013) در حقیقت آنزیم ترانس‌گلوتامیناز با درهم‌تبدیل پروتئین‌های شیر منجر به اصلاحاتی در ویژگی‌های کارکردی پروتئین‌ها و تشکیل فراورده‌هایی با ویژگی‌های Ozer, Kirmaci, Oztekin, Hayaloglu, & Atamer, 2007 حسی و رئولوژیکی بهتر می‌شود (). تاکنون تحقیقات مختلفی درمورد تولید محصولات لبنی سین‌بیوتیک با استفاده از ترکیبات پری‌بیوتیک به‌ویژه اینولین انجام پذیرفته است. به عنوان مثال Araújo de Moraes, Furtado, Carvalho (۲۰۱۰) و de Moraes, Carvalho, Leandro, Furtado, (۲۰۱۷b) بیان کردند افزودن اینولین و باکتری‌های پروبیوتیک تاثیری بر ساختار فیزیکوشیمیایی پنیر کاتیج ندارد. همچنین، تأثیر به کارگیری آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و پروتئین‌های آب‌پنیر بر ویژگی‌های کیفی پنیر سفید ایرانی، توسط Jooyandeh, Danesh, Goudarzi (۲۰۱۷a) بررسی گردید و نتایج این محققین بیانگر قابلیت استفاده از پروتئین‌های آب‌پنیر به عنوان جایگزین چربی در پنیر و نقش مثبت آنزیم ترانس‌گلوتامیناز در بهبود

که از آن زمان تاکنون مواد غذایی عملگرا به سرعت گسترش یابند (Rivera-Espinoza & Gallardo, 2010). فراورده‌های غذایی پروبیوتیک در گروه غذاهای عملگرا قرار می‌گیرند و بخش عمده‌ای از آن را به خود اختصاص می‌دهند. در بسیاری از مطالعه‌ها نشان داده شده است که محصولات لبنی تخمیری بهترین ماده غذایی جهت تولید محصولات پروبیوتیک (Granato, Branco, Nazzaro, Cruz, & Faria, 2010) هستند. پروبیوتیک‌ها با فعالیت زیستی خود که عمدتاً از طریق حفظ و بهبود توازن فلور میکروبی میان میکروارگانیسم‌های سودمند و زیان‌بخش می‌باشد، موجب اثرات سلامتی‌بخش برای میزان خود هستند (Butel, 2014). این فرضیه وجود دارد که این سودمندی ممکن است نتیجه رشد و فعالیت پروبیوتیک‌ها در حین تولید غذا و یا نتیجه رشد و فعالیت سویه‌های خاصی از پروبیوتیک‌ها در محیط روده باشند؛ این خصوصیات مفید به‌طور مستقیم ناشی از برهم‌کنش سلول‌های زنده با میزان و به‌طور غیرمستقیم ناشی از تأثیرات بیولوژیک پروبیوتیک‌ها از طریق تولید متابولیت‌ها در حین فرایند تخمیر است (Tripathi & Giri, 2014). تحقیق‌ها نشان می‌دهد که اینولین از خواص پری‌بیوتیکی و بیفیدوژنیکی^۱ برخوردار است که منجر شده از آن به عنوان یک ماده فراسودمند نامبرده شود (Rao, 2001). مصرف رژیم‌های غذایی حاوی اینولین در بلندمدت، سبب افزایش تراکم استخوان‌ها و درنتیجه کاهش ریسک پوکی استخوان‌ها می‌شود (Maki et al., 2002). آب‌پنیر حاوی حدود ۵۰ درصد از کل مواد مغذی موجود در شیر بوده و به سبب دارا بودن پروتئین‌هایی با بالاترین کیفیت بیولوژیکی، دارای ارزش تغذیه‌ای بسیار بالایی است (Jovanović, Barać, & Maćej, 2005) آب‌پنیر به عنوان آنتی‌اکسیدان، عامل ضدفسارخون، ضدسرطان، کاهش چربی خون، ضدویروس و باکتری عمل می‌کند. مصرف آب‌پنیر باعث کاهش کلسترول و سرم خون گردیده و سبب افزایش جذب عناصر فلزی مانند منیزیم، آهن، کربالت و روی شده و در فرایند جذب کلسیم به‌وسیله ویتامین تأثیر مطلوبی دارد (Poppitt et al., 2011). همچنین پروتئین‌های آب‌پنیر به‌خاطر ارزش پری‌بیوتیکی و خواص بیفیدوژنیکی که دارند به کاربرده می‌شوند. ترکیبات آب‌پنیر که به عنوان

² Immunoglobulin

³ Lactoferrin

⁴ Glycomacropепtide

⁵ Deamination

¹ Bifidogenic

درصد پروتئین و $15/15 \pm 0/15$ درصد چربی) استفاده شد. برای تهیه محلول آب‌پنیر، پودر آب‌پنیر دمینراله تا حصول ماده خشک ۳۴ درصد با آب‌مقطر مخلوط و به مدت ۱ ساعت با همزن در دور پایین همگن شد. پس از اعمال فرایند حرارتی ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه)، جهت هیدردهشدن بهتر پروتئین یا جذب مناسب آب توسط پروتئین، محلول آماده شده به مدت یک شب در یخچال Sayadi, Madadlou, & Khosrowshahi, (2013)؛ در ادامه محلول پودر آب‌پنیر دمینراله در سطوح مختلف صفر تا ۱۶ درصد (حجمی/حجمی) جایگزین ناتراوه یا رترنیت^۵ گردید. پس از افزودن اینولین در سطوح صفر تا ۲ درصد، مخلوط در فشار ۷۰ بار با استفاده از دستگاه هموژنايزر (Ronghemachinery، مدل JHG-Q60-P60 ساخت چین) هموژن و در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه پاستوریزه شد. در ادامه استارتراپنیر و پروبیوتیک (هر کدام ۰/۰۵ گرم بهازای هر کیلوگرم ناتراوه) با مقدار کمی آب استریل با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد حل و به ناتراوه اضافه شد. تیمار آنزیمی ترانس‌گلوتامیناز در سطوح صفر تا ۱ درصد (بهازای هر کیلوگرم ناتراوه) همزمان با افزودن رنین (۰/۰۳ گرم بر کیلوگرم ناتراوه) انجام گرفت. پس از قرارگرفتن ناتراوه در ظروف پنیر ۲۰۰ گرمی، بسته‌ها وارد تونل انعقاد با دمای ۳۰-۳۱ درجه سانتی‌گراد شدند و پس از خروج از تونل و انعقاد پنیر، مقدار ۲ درصد نمک طعام (وزنی/وزنی) به آن افزوده شد. سپس روی سطح پنیر کاغذ مقاوم به چربی پارچمنت^۶ گذاشته شد و در بندی با فویل آلومینیوم انجام پذیرفت. در پایان بسته‌های پنیر وارد گرمخانه با دمای ۲۷-۲۵ درجه سانتی‌گراد شدند و پس از ۱۸-۲۴ ساعت که نمونه‌ها به زیر ۴/۸ رسید، به سردخانه با دمای ۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. تمامی آزمون‌های پنیر پس از ۲ ماه نگهداری نمونه‌ها در یخچال انجام شد.

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی

تمامی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی شیر و پنیر با استفاده از روش استاندارد AOAC (۲۰۰۰) اندازه‌گیری شدند. محتوای ماده خشک شیر و پنیر به وسیله آون تحت خلاً و تا رسیدن به وزن ثابت محاسبه گردید. چربی بهروش ژربر پروتئین توسط روش کلدار (حاصلضرب مقدار نیتروژن

بافت محصول بوده است. همچنین Jirsaraei و Pourahmad (۲۰۱۷)، تأثیر به کارگیری اینولین و لاکتولوز به عنوان ترکیبات پری‌بیوتیک در تولید پنیر سین‌بیوتیک فراپالوده، افزایش قابل توجهی تعداد باکتری‌های پروبیوتیک و کیفیت حسی بالاتر محصول سین‌بیوتیک را نسبت به نمونه شاهد (پنیر غیرپروبیوتیک) گزارش نمودند. بنابراین، با توجه به اینکه تاکنون مطالعه‌ای در زمینه بررسی تأثیر به کارگیری همزمان پودر آب‌پنیر، اینولین و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی پنیر سین‌بیوتیک انجام نگرفته است، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر این عوامل بر کیفیت پنیر فراپالوده سین‌بیوتیک با کمک نرمافزار Design Expert (نسخه ۱۰) انجام گردید.

مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده

تولید کلیه نمونه‌های پنیر فراپالایش در کارخانه لبني پگاه خوزستان انجام گرفت. جهت تهیه پنیر از شیر تازه کامل با کیفیت بالا استفاده گردید. آنزیم ترانس‌گلوتامیناز BDF Natural (EC ۱۳، ۲، ۳، ۲) از شرکت Ingredients میکروپی (اسپانیا) خریداری شد. مایه‌پنیر یا R-704 رنت با نام تجاری Chy Max، آغازگر مصرفی^۱ حاوی گونه‌های لاکتیس زیرگونه کرموریس^۲ و لاکتوکوکوس لاکتیس زیرگونه لاکتیس^۳ و آغازگر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس^۴ LA5 از نوع DVS (شرکت Chr. Hansen، دانمارک) مورد استفاده قرار گرفتند. پودر آب‌پنیر با املاح کاهش‌یافته/دمینرال (DWP)^۵ دارای ۱۸/۴ درصد ۶۸/۳ درصد لاکتوز، ۶/۲ درصد خاکستر و ۰/۶ درصد چربی (شرکت سهامی صنایع شیر ایران) و اینولین زنجیره‌بلند با توانایی حرارتی بالا (Orafti HPX، Beneo، آلمان) ساخت آلتان) استفاده شد.

تولید نمونه‌های پنیر

جهت تولید تمامی نمونه‌های پنیر فراپالوده، از ناتراوه تولیدی کارخانه (حاوی ۳۴±۰/۲۸ درصد ماده خشک، ۱۲±۰/۱۸

¹ *Lactococcus Lactis Ssp. Cremoris*

² *Lactococcus Lactis Ssp. Lactis*

³ *Lactobacillus Acidophilus*

⁴ Demineralized Whey Powder

⁵ Retentate

⁶ Parchment

طرح آزمون و آنالیز آماری

در این پژوهش طرح باکس بنکن با سه متغیر مستقل و ۵ تکرار در نقطه مرکزی طرح، جهت یافتن اثر متغیرهای مستقل (X_1 ، غلظت آنزیم ترانس گلوتامیناز؛ X_2 ، میزان جایگزینی با محلول ۳۴ درصد آب پنیر دمینزاله و X_3 ، غلظت اینولین) بر برحی ویژگی های فیزیکوشیمیایی، حسی و میکروبی پنیر فراپالوده سین بیوتیک مورد استفاده قرار گرفت. داده های به دست آمده در این طرح با استفاده از نرم افزار Design Expert نسخه ۱۰ مدل سازی شد و منحنی های سه بعدی سطح پاسخ جهت بررسی رابطه میان پاسخ ها و متغیرهای مستقل رسم شد. سطوح متغیرها به صورت واقعی و کدشده در جدول (۱) ارائه شده است. با کاربرد آنالیز رگرسیون، شاخص های اندازه گیری شده در قالب یک چندجمله ای درجه دوم طبق رابطه (۱) مدل سازی شدند و معنی داری ضرایب مدل با استفاده از آنالیز واریانس برای هر پاسخ تعیین شد.

$$\text{رابطه (۱)}$$

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3$$

در رابطه (۱)، y پاسخ های مختلف و β_0 ضرایب ثابت مدل هاست. $(\beta_1, \beta_2, \beta_3)$ و $(\beta_{11}, \beta_{22}, \beta_{33})$ و $(\beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{23})$ به ترتیب نشان دهنده اثر خطی، درجه دوم و برهم کنش مدل پیشنهادی به وسیله آنالیز چندگانه رگرسیون می باشد.

اندازه گیری شده در فاکتور (۶/۳۸) تعیین شد.

آزمون حسی

ویژگی های حسی نظیر رنگ و ظاهر، عطر و طعم، بافت و قوام و پذیرش کلی توسط ۱۰ نفر ارزیاب مورد بررسی قرار گرفت. نمونه ها از طریق یک آزمون هدوانیک ۹ نقطه ای با یکدیگر مقایسه شدند. قبل از ارزیابی، نمونه ها به مدت ۳۰ دقیقه از یخچال خارج و در دمای محیط نگهداری شدند تا بدین روش دمای تمامی نمونه ها در حین ارزیابی یکسان بوده و تأثیری بر نتایج حسی نگذارد (Katsiari, Voutsinas, Kondyli, & Alichanidis, 2002).

شمارش باکتری های پروبیوتیک

جهت ارزیابی زندمانی باکتری های پروبیوتیک، ۲۵ گرم پنیر به ۲۲۵ میلی لیتر آب پیتونه (Acumedia Manufacturers، ساخت آمریکا) جهت تهیه رقت ۰/۱ درصد (حجمی وزنی) افزوده شد و رقت های لازم از آن تهیه گردید. برای کشت لاکتو بیاسیلوس / اسیدوفیلوس از محیط کشت MRS آگار (Merck، ساخت آلمان) و ۰/۱۵ درصد نمک صfra (Merck، ساخت آلمان) استفاده شد. کشت به روش پور پلیت انجام شد و پلیت ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد برای مدت ۷۲ ساعت در شرایط هوایی انکوبه گذاری گردید (Mortazavian, Ehsani, Sohrabvandi, & Reinheimer, 2007).

جدول ۱- سطوح و کدهای هر یک از متغیرهای مستقل در طراحی سطح پاسخ

متغیر مستقل	نماد ریاضی	کد و سطح مربوطه		
		پایین (-)	میانی (۰)	بالا (+)
غلظت آنزیم ترانس گلوتامیناز	X_1	.	۰/۵	۱
میزان جایگزینی ناتراوه با محلول آب پنیر	X_2	.	۸	۱۶
غلظت اینولین	X_3	.	۱	۲

پودر آب پنیر تأثیر معنی داری بر اسیدیتۀ نمونه های پنیر ندارد اما افزودن اینولین سبب افزایش قابل توجه اسیدیتۀ می گردد ($P<0.05$). در مطابقت با نتایج این تحقیق، تفاوت معنی داری بین اسیدیتۀ نمونه تیمارشده با آنزیم ترانس گلوتامیناز و نمونه شاهد مشاهده نکردند. همانند نتایج به دست آمده در این پژوهش، Buriti, Cardarelli, Castro و Saad (2008) با افزودن اینولین، افزایش

نتایج و بحث خصوصیات فیزیکوشیمیایی اسیدیتۀ

همان طور که در جدول (۲) مشاهده می شود، در میان اثرات اصلی، درجه دوم و متقابل متغیرهای مورد آزمایش، تنها اثرات خطی و درجه دوم اینولین بر اسیدیتۀ نمونه ها معنی دار گردید. نتایج نشان داد افزودن آنزیم ترانس گلوتامیناز یا افزایش جایگزینی ناتراوه با محلول

واریانس، مدل نهایی توضیح‌دهنده تغییرات اسیدیته براساس اجزای فرمولاسیون (رابطه ۲) تعیین شد.

رابطه (۲)

$$Y = 76.29 + 26.97X_3 - 9.21X_3^2$$

در رابطه (۲)، Y اسیدیته و X₃ غلظت پودر اینولین می‌باشد.

اسیدیته را در پنیر سوئیسی گزارش نمودند. به‌نظر می‌رسد افزودن اینولین، فعالیت متابولیکی استارترها را تحریک کرده و موجب افزایش اسیدیته می‌شود. در تحقیق دیگری افزودن اینولین به ماست پروپیوتیک موجب افزایش تولید اسیدلاکتیک، کاهش زمان تخمیر و افزایش میزان اسیدسازی شد (Donkor, Nilmini, Stolic, & Vasiljevic, & Shah, 2007).

جدول ۲ - مقادیر معنی‌داری (شاخص P) خواص فیزیکوشیمیایی پنیر سفید ایرانی فراپالوده سین‌بیوتیک

منابع متغیر	اسیدیته	رطوبت	پروتئین	چربی
مدل	.۰۰۲۷۷*	.۰۰۰۱۶**	.۰۱۲۵*	.۰۰۰۴۷**
رگرسیون خطی				
X ₁	.۰۰۵۸۲ ns	.۰۰۰۶۹ **	.۰۱۳۲۹ ns	.۰۸۳۹۹ ns
X ₂	.۰۰۵۰۴ ns	.۰۵۴۹۱ ns	.۰۰۰۳۸ **	.۰۰۰۹**
X ₃	.۰۰۴۲۷*	.۰۰۲۸۴*	.۰۵۳۱۵ ns	.۰۲۵۵۸ ns
برهم‌کنش				
X ₁ X ₂	.۰۰۶۸۸ ns	.۰۷۹۰۰ ns	.۰۰۰۸۵ **	.۰۲۷۹۵ ns
X ₁ X ₃	.۰۴۳۴۷ ns	.۰۳۴۰۳ ns	.۰۸۰۲۵ ns	.۰۷۶۹۱ ns
X ₂ X ₃	.۰۲۵۸۹ ns	.۰۹۵۸۱ ns	.۰۰۰۰۰ ns	.۰۷۷۵۷ ns
درجه‌دوم				
X ₁ ²	.۰۳۹۷۷ ns	.۰۵۳۴۹ ns	.۰۳۲۱۹ ns	.۰۰۰۵۴ **
X ₂ ²	.۰۳۹۷۷ ns	.۰۴۳۲۱ ns	.۰۰۰۵۲ **	.۰۰۰۹۳ **
X ₃ ²	.۰۰۰۸۷ **	.۰۲۵۱۶ ns	.۰۰۲۶۸ *	.۰۰۱۱**
عدم برازش	.۰۱۰۶ ns	.۰۰۰۸۱۶ ns	.۰۱۱۲ ns	.۰۱۳۷ ns
R ²	.۰۹۲	.۰۸۹	.۰۹۶	.۰۹۸
R ² -adjust	.۰۸۸	.۰۸۱	.۰۹۳	.۰۹۳
ضریب پراکندگی	.۴۵۸	.۱۵۴	.۳۲۷	.۵۲۱

X₃ و X₂ به ترتیب نشان‌دهنده متغیرهای مستقل غلظت‌های آنزیم ترانس‌گلوتامیناز، محلول پودر آب‌پنیر و اینولین می‌باشند. ns، ** و * به ترتیب معنی‌داری در سطح ۵ درصد، ۱ درصد و عدم تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد.

روhm و Henle (2006) بیان کردند آنزیم ترانس‌گلوتامیناز با پلیمریزاسیون پروتئین‌های شیر موجب افزایش ظرفیت نگهداری آب می‌شود. در پژوهشی دیگر تیمار آنزیمی ترانس‌گلوتامیناز شیر می‌تواند سبب افزایش ظرفیت نگهداری آب در دلمه و جلوگیری از سینترزیس یا آباندازی دلمه شود.

همچنین افزودن اینولین سبب کاهش رطوبت پنیر گردید. در تطابق با نتایج این تحقیق، Alves و همکاران (2013) بیان کردند که با افزایش اینولین در نمونه‌های پنیر خامه‌ای سین‌بیوتیک، رطوبت پنیر کاهش یافت. این محققین دلیل کاهش رطوبت پنیر را به افزایش محتوای

روطوبت آنالیز واریانس بررسی ویژگی رطوبت نمونه‌های پنیر نشان داد که اثرات خطی آنزیم ترانس‌گلوتامیناز (P<0.05) و نیز اینولین (P<0.1) بر رطوبت نمونه‌های پنیر معنی‌دار شدند. براساس نتایج بدست‌آمده، افزودن آنزیم سبب افزایش رطوبت نمونه‌ها گردید. آنزیم ترانس‌گلوتامیناز با ایجاد اتصالات عرضی کووالانسی، شبکه کازئینی را پایدار می‌کند و با افزایش نگهداری آب‌پنیر در درون دلمه، میزان آب‌اندازی آن را کاهش می‌دهد. همچنین با ایجاد پیوندهای ایزوپیتیدی حجم آزاد درون ماتریکس پروتئینی را افزایش می‌دهد که منجره نگهداری آب‌پنیر می‌شود (Pierro et al., 2010).

در این میان، مقدار پروتئین نمونه‌های پنیر با افزایش مقادیر آنزیم و اینولین نیز کاهش یافت، اما این تغییرات معنی‌دار نگردید ($P>0.05$). همان‌طور که در شکل (۱) مشاهده می‌شود، در مقادیر پایین محلول پودر آب‌پنیر (۰ درصد)، با افزایش آنزیم ترانس‌گلوتامیناز مقدار پروتئین کاهش می‌یابد که دلیل آن احتمالاً بالاتربودن آب دلمه یا به عبارتی کاهش سینزیزیس در دلمه می‌باشد. در واقع آنزیم ترانس‌گلوتامیناز با ایجاد اتصالات عرضی بین پروتئین‌های شیر یک شبکه پایدار پروتئینی ایجاد می‌کند و با حفظ مقدار بیشتری از رطوبت، سهم پروتئین در دلمه را کاهش می‌دهد (Danesh *et al.*, 2017b). منطبق با این نتایج، Gomes Pintado, Madureira, Kaminarides و Pintado (۲۰۱۵) و Malcata (۲۰۱۱) گزارش نمودند که با افزودن ترکیبات آب‌پنیر (به صورت تغليظشده یا شيرين) به فرمولاسيون پنیر، مقدار پروتئین محصول کاهش می‌يابد. علت کاهش مقدار پروتئین پنیر درنتیجه افزایش جایگزینی محلول حاوی پودر آب‌پنیر دمینراله با ناتراوه می‌تواند به دلیل پایین‌تر بودن مقدار پروتئین بهویژه کازئین در محلول آب‌پنیر در مقایسه با ناتراوه و همچنین نقش کمتر آن در تشکیل شبکه کازئینی پنیر باشد. مطابق مطالعه‌ها (Minhas و Jooyandeh, 2009)، افزایش درصد جایگزینی FWPC پروتئین آب‌پنیر تخمیری تغليظ شده^۱ (FWPC) چه قبل از تشکیل لخته و چه بعد از تشکیل لخته منجر به کاهش مقادیر بازیافت پروتئین می‌شود. علت کاهش بازیافت پروتئین در پنیرهای سفید ایرانی هم‌گام با افزایش میزان FWPC می‌تواند به مقدار کمتر کازئین در نمونه‌های پنیر حاوی FWPC مربوط باشد. اگرچه FWPC دارای مقدار پروتئین بیشتری از شیر بود، کاهش متوالی بازیافت پروتئین در نمونه‌های FWPC ثابت کرد پروتئین‌های موجود در FWPC نمی‌توانند دقیقاً همان نقش کازئین را در تشکیل شبکه پروتئینی ایفا کنند. مقدار بالاتر پروتئین در سرم جداسده از نمونه‌های تولیدشده پنیر حاوی مقادیر بالای جایگزینی محلول آب‌پنیر با ناتراوه در این تحقیق می‌تواند مؤید این موضوع باشد. در تأیید این نتایج، Smith و Dybing (1998) نیز نشان دادند که افزودن محلول‌های تیمارشده پروتئین‌های آب‌پنیر سبب کاهش

مادة خشک کل در اثر استفاده از ترکیبات پری‌بیوتیکی نسبت دادند. نتایج مشابهی توسط Tokuşoğlu, Akalın, Cuthbert-Guggisberg و Aycan (2007) و Eberhard, Bütikofer, Piccinelli, Steven (2009) در ماست غنی‌شده با اینولین گزارش شده است. در مجموع، نمونه فاقد اینولین و حاوی ۱ درصد آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بيشترین میزان رطوبت را دارا بود. رابطه (۳)، مدل نهایی به دست آمده برای توضیح تغییرات رطوبت پنیر سین‌بیوتیک براساس اجزای فرمولاسیون را نشان می‌دهد.

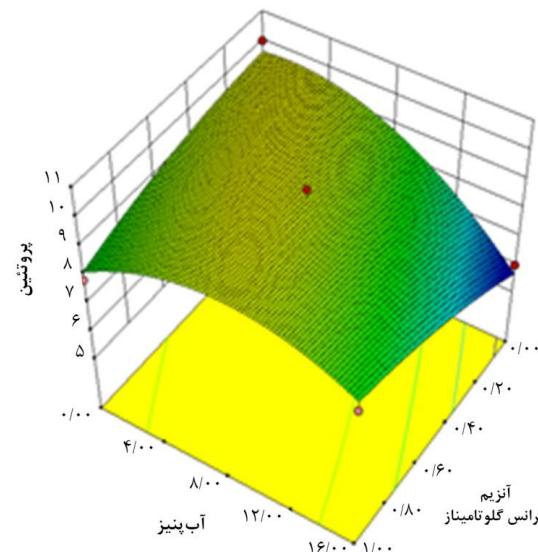
رابطه (۳)

$$Y=65.23+1.53X_1+0.33X_3$$

در رابطه (۳)، Y رطوبت، X_1 آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و X_3 اینولین می‌باشند.

پروتئین

نتایج بررسی ویژگی پروتئین نشان داد که اثر خطی محلول پودر آب‌پنیر (۰/۰۱)، اثر متقابل آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و محلول پودر آب‌پنیر (۰/۰۱) و نیز اثرات درجدهم آب‌پنیر (۰/۰۱) و اینولین (۰/۰۵) معنی‌دار شدند. نتایج نشان داد که در سطوح بالای جایگزینی با محلول آب‌پنیر دمینراله، مقدار پروتئین دلمه کاهش معنی‌داری یافت (جدول ۲ و شکل ۱).



شکل ۱- نمودار رویه سه‌بعدی برهم‌کنش سطوح مختلف آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و محلول پودر آب‌پنیر بر پروتئین پنیر فراپالوده سین‌بیوتیک

^۱ Fermented whey Protein Concentrate

خطی محلول پودر آب‌پنیر دمینرال و اینولین ($P<0.05$) معنی‌دار شد. نتایج نشان داد که با افزایش مقدار محلول پودر آب‌پنیر، کیفیت رنگ نمونه‌های پنیر کاهش یافت اما با افزایش مقدار اینولین، امتیاز رنگ افزایش یافت به‌طوری که بیشترین میزان امتیاز رنگ به صفر درصد آب‌پنیر و ۲ درصد اینولین اختصاص یافت. مدل نهایی به‌دست‌آمده برای رنگ و ظاهر در رابطه (۶) نشان داده شده است.

رابطه (۶)

$$Y=1.83-0.39 X_2+1.12 X_3$$

در رابطه (۶)، Y رنگ و ظاهر، X_2 میزان جایگزینی با محلول پودر آب‌پنیر دمینرال و X_3 اینولین می‌باشند.

عطر و طعم

عطر و طعم از مهم‌ترین ویژگی‌های محصول در بازار پسندی آن می‌باشد. مهم‌ترین ترکیبات ایجادکننده عطر و طعم پنیرها اسیدهای آمینه آزاد و اسیدهای چرب آزاد حاصل از فرایند پروتئولیز و لیپولیز می‌باشند (Buriti, Cardarelli, Filisetti, & Saad, 2007). آنالیز واریانس نتایج بررسی ویژگی طعم نشان داد که همانند رنگ و ظاهر پنیر، اثر خطی آب‌پنیر و اینولین معنی‌دار شد ($P<0.05$). همچنین، اثر درجه‌dوم آب‌پنیر نیز معنی‌دار گردید. به‌طور کلی، با افزایش مقدار محلول پودر آب‌پنیر و اینولین کیفیت عطر و طعم نمونه‌های پنیر کاهش یافت. در تطابق با نتایج این تحقیق، Kamarides (2015) و Pinto (2015) کاهش عطر و طعم را در پنیر پروسس حاوی آب‌پنیر گزارش کردند. برخلاف این نتایج، Staffolo, Martino, Bertola, Prajapati, Rathour, Solanky, Jana, Prajapati, Rathour, Solanky (2017) بهبود طعم را در نمونه‌های ماست حاوی اینولین گزارش نمودند. مدل نهایی به‌دست‌آمده برای عطر و طعم در رابطه (۷) نشان داده شده است.

رابطه (۷)

$$Y=24.13+0.76 X_2-0.38 X_2^2+2.14 X_3$$

در رابطه (۷)، Y عطر و طعم، X_2 میزان جایگزینی با محلول پودر آب‌پنیر دمینرال و X_3 اینولین می‌باشند.

مقدار بازیافت پروتئین می‌شود. مدل نهایی به‌دست‌آمده برای پروتئین در رابطه (۴) نشان داده شده است.

رابطه (۴)

$$Y=10.29+0.065 X_2+0.26 X_1 X_2-0.019 X_2^2+0.82 X_3^2$$

در رابطه (۴)، Y پروتئین، X_1 آنزیم ترانس‌گلوتامیناز، X_2 میزان جایگزینی با محلول پودر آب‌پنیر دمینرال و X_3 اینولین می‌باشند.

چربی

آنالیز واریانس نتایج بررسی ویژگی چربی نشان داد که اثر خطی محلول پودر آب‌پنیر ($P<0.01$) و نیز اثرات درجه‌dوم هر سه متغیر آنزیم، آب‌پنیر و اینولین ($P<0.01$) معنی‌دار شدند. در هر حال اثر متقابل معنی‌داری میان سه متغیر مورداً زیارت مشاهده نگردید ($P>0.05$). همانند پروتئین، با افزایش مقادیر هر سه متغیر، مقدار چربی نمونه‌ها کاهش یافت اما فقط با افزایش محلول پودر آب‌پنیر دمینرال مقدار چربی پنیر به شکل معنی‌داری کاهش یافت. منطبق با این نتایج Madureira و همکاران (2011) با بررسی ویژگی‌های پنیر پروبیوتیک حاوی آب‌پنیر شیرین، کاهش چربی را در نمونه‌های حاوی آب‌پنیر گزارش کردند. کاهش مقدار چربی در نمونه‌های حاوی محلول پودر آب‌پنیر می‌تواند به علت پایین ترودن میزان چربی محلول حاوی پودر آب‌پنیر در مقایسه با ناتراوه و نیز به‌دلیل عدم تشکیل شبکه سه‌بعدی مناسب کازئین در دلمه پنیر باشد (Jooyandeh, 2009). در تأیید این موضوع مشاهده شد که سرم جدادشده از نمونه‌های پنیر حاوی مقادیر بالای جایگزینی محلول پودر آب‌پنیر با ناتراوه از مقدار چربی بالاتری برخوردار بودند. رابطه ریاضی بین چربی و اجزای فرمولاسیون به صورت رابطه (۵) تعیین شد.

رابطه (۵)

$$Y=13.83-0.49 X_2+5.35 X_1^2+0.018 X_2^2+1.92 X_3^2$$

در رابطه (۵)، Y چربی، X_1 آنزیم ترانس‌گلوتامیناز، X_2 میزان جایگزینی با محلول پودر آب‌پنیر دمینرال و X_3 اینولین می‌باشند.

ارزیابی حسی

رنگ و ظاهر

آنالیز واریانس نتایج بررسی ویژگی رنگ نشان داد که اثر

جدول ۳ - مقادیر معنی‌داری (شاخص P) خواص حسی و میکروبی پنیر سفید ایرانی فراپالوده سین‌بیوتیک

منابع متغیر	رنگ و ظاهر	عطروطعم	بافت و قوام	پذیرش کلی	لاكتوباسیلوس اسیدوفیلوس
مدل	۰/۰۴۶۱*	۰/۰۲۷۵*	۰/۰۴۱۶*	۰/۰۲۲۳*	۰/۰۴۵۱*
رگرسیون خطی	۰/۹۴۶۲ns	۰/۲۲۲۵ns	۰/۰۲۴۸*	۰/۰۲۷۷۱ns	۰/۰۲۶۲*
X_1	۰/۰۳۶۱*	۰/۰۴۳۱*	۰/۰۲۳۷*	۰/۰۴۵۹*	۰/۰۴۵۹*
X_2	۰/۰۲۸۳*	۰/۰۳۱۸*	۰/۰۹۶۰ ns	۰/۰۸۸۴۵ns	۰/۳۱۱۸ns
X_3	۰/۰۹۴۳۱ns	۰/۷۲۳۶ns	۰/۰۷۹۰ ns	۰/۰۴۲۸ns	۰/۹۲۲۵ns
برهمکنش	۰/۰۶۵۲۱ns	۰/۰۹۰۲۷ns	۰/۰۳۴۰۰ns	۰/۰۲۵۱۲ns	۰/۵۶۲۱ns
X_1X_2	۰/۰۷۸۲۴ns	۰/۰۹۴۳۱ns	۰/۰۱۸۵۹ns	۰/۰۸۳۷۴ns	۰/۸۸۲۴ns
X_1X_3	۰/۰۷۸۲۴ns	۰/۰۸۹۰۴ns	۰/۰۶۱۵۷ns	۰/۰۳۶۲۹ns	۰/۰۸۵۱۲ns
X_2X_3	۰/۰۵۳۵۸ns	۰/۰۹۹۹۰ns	۰/۰۰۳۶*	۰/۰۲۳۴ns	۰/۰۳۵۵۸ns
درجه دوم	۰/۰۳۶۴	۰/۰۷۴	۰/۰۶۱۸	۰/۰۲۱۳ns	۰/۹۶۸۱ns
X_1^2	۰/۰۹۲	۰/۰۹۲	۰/۰۹۰	۰/۰۸۵۱۲ns	۰/۰۸۵۱۲ns
X_2^2	۰/۰۵۳۵۸ns	۰/۰۹۹۹۰ns	۰/۰۰۳۶*	۰/۰۲۳۴ns	۰/۰۳۵۵۸ns
X_3^2	۰/۰۳۶۴	۰/۰۷۴	۰/۰۶۱۸	۰/۰۲۱۳ns	۰/۹۶۸۱ns
عدم برازش	۰/۰۹۲	۰/۰۹۲	۰/۰۹۱	۰/۰۹۰	۰/۰۸۵۱۲ns
R^2	۰/۰۸۹	۰/۰۸۸	۰/۰۸۷	۰/۰۸۶	۰/۰۹۱
$R^2\text{-adjust}$	۰/۰۵۸	۰/۰۸۴	۰/۰۵۴	۰/۰۴۵	۰/۱۵.۸۳-۰.۶۹X_2-۰.۴۵X_1
ضریب پراکندگی	۰/۰۵۸	۰/۰۵۸	۰/۰۴۵	۰/۰۴۵	۰/۰۴۵۱*

X2 و X3 به ترتیب نشان‌دهنده متغیرهای مستقل غلظت‌های آنزیم ترانس‌گلوتامیناز، محلول پودر آب‌پنیر و اینولین می‌باشند.

ns، ** و **، به ترتیب معنی‌داری در سطح ۵ درصد، ۱ درصد و عدم تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد.

رابطه (۸)

$$Y=15.83-0.69 X_2-0.45 X_1$$

در رابطه (۸)، Y بافت و قوام، X₁ آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و X₂ میزان جایگزینی با محلول پودر آب‌پنیر دمینرال می‌باشند.

پذیرش کلی

آنالیز واریانس نتایج بررسی پذیرش کلی نشان داد که اثر خطی محلول پودر آب‌پنیر و اثر درجه‌دوم آب‌پنیر دمینرال (P<۰/۰۵) معنی‌دار شد. با افزایش جایگزینی محلول ۳۴ درصد آب‌پنیر با ناتراواه، امتیاز پذیرش کلی نمونه‌های پنیر کاهش یافت و این کاهش در مقادیر بالای اینولین مشهودتر بود. این نتایج، با توجه به اثر معنی‌دار و منفی آب‌پنیر بر رنگ، عطر و طعم و بافت قابل توجیه است. رابطه ریاضی بین پذیرش کلی و اجزای فرمولاسیون به صورت رابطه (۹) تعیین شد.

رابطه (۹)

$$Y=8.65-0.035X_2-0.65X_3^2$$

بافت و قوام

آنالیز واریانس نتایج بررسی ویژگی بافت و قوام نشان داد که فقط اثر خطی جایگزینی محلول پودر آب‌پنیر دمینرال و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز (P<۰/۰۵) معنی‌دار شد و اثرات درجه‌دوم و متقابل معنی‌دار نگردید. براساس نتایج به دست‌آمده، با افزایش غلظت آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و همچنین محلول پودر آب‌پنیر، امتیاز بافت و قوام به طور معنی‌داری کاهش یافت؛ به طوری که کمترین امتیاز بافت و قوام مربوط به نمونه حاوی ۱ درصد آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی و ۱۶ درصد جایگزینی با محلول حاوی پودر آب‌پنیر دمینرال بود. نتایج این تحقیق نشان داد هرچند استفاده از آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی سبب افزایش رطوبت پنیر گردید، در سطوح بالا و نزدیک به غلظت ۱ درصد باعث سفت‌ترشدن بافت پنیر شد. علت افزایش سفتی پنیر با وجود افزایش رطوبت نمونه‌ها احتمالاً به دلیل افزایش اتصالات بیش از حد درون و برون مولکولی شبکه کازئینی است (Imm, Lian, & Lee, 2000). رابطه ریاضی بین بافت و قوام و اجزای فرمولاسیون به صورت رابطه (۸) تعیین شد.

مطابق با استاندارد کدکس (Codex Alimentarius Commission, 2003) در نمونه بهینه پنیر فراپالوده در مطابقت با نتایج این پژوهش، Tonković, Radošević, Gregurek و Šušković (۲۰۰۷) نیز با بررسی زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در پنیر تازه حاوی آنزیم ترانس گلوتامیناز بیان کردند که تعداد سلول‌ها بعد از ۱۰ روز نگهداری در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد بالاتر از حداقل مقدار موردنیاز برای محصولات پروبیوتیک (5×10^9 لگاریتم واحد کلی در گرم) بوده است. مدل نهایی به دست‌آمده برای آزمون میکروبی در رابطه (۱۰) نشان داده شده است.

$$Y = +7.36454 - 1.22713X$$

بهینه‌یابی

شرایط عملیاتی بهینه برای فرمولاسیون پنیر فراپالوده سین‌بیوتیک با استفاده از متغیرهای مستقل غلظت آنزیم ترانس گلوتامیناز، غلظت محلول پودر آب‌پنیر و غلظت اینولین بر پارامترهای مورد اندازه‌گیری با استفاده از تکنیک بهینه‌یابی عددی نرمافزار Design Expert انجام شد. برای این‌منظور مقدار پروتئین، چربی و پذیرش کلی در بیشینه و مقدار رطوبت و اسیدیته در کمینه و همچنین متغیرهای مستقل در محدوده موردمطالعه انتخاب شدند. براساس نتایج به دست‌آمده، نمونه بهینه با استفاده از مقادیر $0/43$ واحد آنزیم بهازای هر گرم پروتئین، $8/24$ درصد محلول پودر آب‌پنیر دمینراله و $0/71$ درصد اینولین تعیین گردید. برای اعتبارسنجی مدل، آزمایش‌ها تحت شرایط بهینه انجام شد که نتایج آن در جدول (۴) ارائه شده است. نتایج حاصل از آزمایش‌های تجربی، بیانگر نزدیکی آنها با نتایج حاصل از پیش‌بینی مدل و نشان‌دهنده کارایی بالای مدل در پیش‌بینی نتایج پژوهش است.

در رابطه (۹)، Y پذیرش کلی، X_2 میزان جایگزینی با محلول پودر آب‌پنیر دمینرال و X_3 اینولین می‌باشد.

شمارش باکتری‌های پروبیوتیک

نتایج تجزیه واریانس بررسی ویژگی شمارش پروبیوتیک نشان داد که اثر خطی آنزیم ترانس گلوتامیناز و محلول پودر آب‌پنیر معنی‌دار شد ($P < 0.05$) اما اثر خطی اینولین و تمامی اثرات متقابل و درجه‌دوم متغیرها معنی‌دار نبودند. با افزایش غلظت آنزیم ترانس گلوتامیناز، میزان زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به شکل معنی‌داری کاهش یافت. در تأیید نتایج این تحقیق، بسیاری از محققین به کاهش فعالیت باکتری‌های آغازگر یا باکتری‌های پروبیوتیک در حضور آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی در محصولات لبنی نظیر پنیر (Dmytrów, Jasinska, & Dmytrów, 2010) Neve, Lorenzen, Mautner, Schlimme, & Heller, (2001) و کفیر (Temiz & Dağyıldız, 2017) اشاره نموده‌اند. برخلاف نتایج این تحقیق، Farnsworth و همکاران (۲۰۰۶) و Pavunc (۲۰۱۱) تفاوت معنی‌داری بین زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک نمونه تیمارشده با آنزیم ترانس گلوتامیناز و نمونه شاهد مشاهده نکردند. افزایش تعداد باکتری‌های پروبیوتیک درنتیجه افزودن محلول پودر آب‌پنیر نیز بیانگر اثر مثبت ترکیبات Lorenzen, (Neve, Mautner, & Schlimme, 2002) آب‌پنیر بر رشد باکتری‌های پروبیوتیک بود (Cardello و Antunes (۲۰۰۴) Cardello و Antunes (۲۰۰۴) و Supriadi و Kailasapathy (۱۹۹۸) به اثر پری‌بیوتیکی ترکیبات آب‌پنیر اشاره نموده‌اند.

با وجود اثر منفی آنزیم ترانس گلوتامیناز بر زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، نتایج این تحقیق بیانگر تعدد قابل توجه و قابل قبول باکتری‌های پروبیوتیک (بیش از 10^6 لگاریتم واحد کلی در گرم،

* اسیدیته بر حسب درجه دورنیک

جدول ۴ مقایسه نتایج حاصل از آزمایش و نتایج پیش‌بینی شده نمونه بهینه پنیر فراپالوده

پذیرش کلی	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	اسیدیته ($^{\circ}\text{D}^*$)	رطوبت (درصد)	چربی (درصد)	پروتئین (درصد)	نتایج پیش‌بینی	نتایج آزمایشی
۷/۷۶	۶/۹۶	۹۲/۵۵	۶۶/۲۹	۱۴/۱۰	۱۰/۲۱		
$۸/۲۰ \pm ۰/۷۹$	$۷/۱۲ \pm ۰/۱۹$	$۹۳/۶۰ \pm ۲/۳۴$	$۶۶/۸۶ \pm ۰/۷۲$	$۱۴/۴۳ \pm ۰/۳۳$	$۱۰/۰۰ \pm ۰/۴۶$		

جایگزینی محلول پودر آبپنیر دمینراله و ۰/۷۱ درصد اینولین، می‌توان محصولی سین‌بیوتیک با خواص تغذیه‌ای بالا و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی قابل قبول تولید کرد. در این شرایط رطوبت ۶۶/۲۹ درصد، پروتئین ۲۱/۱۰ درصد، چربی ۱۰/۱۴ درصد، اسیدیته ۵۵/۹۲ درجه دورنیک، پذیرش کلی ۷/۷۶ و شمارش لاکتوپاسیلوس/اسیدوفیلوس ۹/۶۶ لگاریتم واحد کلنی در گرم بود. شایان ذکر است اگرچه تیمار آنژیمی ترانس‌گلوتامیناز سبب کاهش تعداد پروبیوتیک لاکتوپاسیلوس/اسیدوفیلوس شد، اما تعداد این باکتری در نمونه پنیر بهینه‌شده پس از ۲ ماه نگهداری محصول در یخچال بیش از ۱۰° لگاریتم واحد کلنی در گرم تعیین گردید.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شده است و بدین‌وسیله نویسنده‌گان مراتب قدردانی خود را اعلام می‌دارند. همچنین از مسئولین محترم کارخانه پگاه خوزستان بهویژه آقای مهندس فرهنگ مدیریت واحد تحقیق و توسعه کارخانه به جهت تولید نمونه‌های پنیر قدردانی می‌گردد.

نتیجه‌گیری

تحقیق حاضر در ادامه تحقیق‌های سال‌های اخیر و با هدف ارزیابی نوعی محصول سین‌بیوتیک، با به‌کارگیری روش سطح پاسخ و تلفیق میزان بهینه‌ای از ترکیبات پری‌بیوتیک اینولین، محلول پودر آبپنیر و آنژیم ترانس‌گلوتامیناز طراحی و انجام گرفت. نتایج حاصل نشان داد که اینولین با افزایش ماده خشک، رطوبت پنیر سین‌بیوتیک را کاهش می‌دهد درحالی‌که آنژیم ترانس‌گلوتامیناز با ایجاد اتصالات عرضی کووالانسی موجب افزایش ظرفیت نگهداری آبپنیر می‌شود. با افزایش اینولین اسیدیته نمونه‌های پنیر افزایش یافت اما تیمار آنژیمی ترانس‌گلوتامیناز و جایگزینی محلول پودر آبپنیر دمینراله با ناتراواه تأثیر معنی‌داری نداشت. افزایش جایگزینی محلول پودر آبپنیر تا مقادیر ۸ درصد، امتیاز عطر و طعم را افزایش داد اما در مقادیر بالاتر جایگزینی به‌دلیل کاهش قابل توجه چربی و پروتئین پنیر، عطر و طعم و درنتیجه پذیرش کلی محصول کاهش یافت. همچنین، با افزایش اینولین امتیاز عطر و طعم افزایش یافت. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش، مشخص گردید که با استفاده از روش سطح پاسخ و به‌کارگیری مقادیر بهینه سه متغیر مورد بررسی شامل ۰/۴۳ واحد آنژیم ترانس‌گلوتامیناز به‌ازای هر گرم پروتئین، ۸/۲۴ درصد

منابع

- Akalın, A., Tokuşoğlu, Ö., Gönç, S., & Aycan, Ş. (2007). Occurrence of conjugated linoleic acid in probiotic yoghurts supplemented with fructooligosaccharide. *International Dairy Journal*, 17(9), 1089-1095.
- Alimoradi, F., Hojaji, E., Jooyandeh, H., Moghadam, S. A. H. Z., & Moludi, J. (2016). Whey Proteins: Healthbenefits And Food Applications. *Journal of International Research in Medical and Pharmaceutical Sciences*, 9(2), 63-73.
- Alves, L. L., Richards, N. S., Mattanna, P., Andrade, D. F., S Rezer, A. P., Milani, L. I., . . . Faria, J. A. (2013). Cream cheese as a symbiotic food carrier using *Bifidobacterium animalis* B b-12 and *Lactobacillus acidophilus* L a-5 and inulin. *International Journal of Dairy Technology*, 66(1), 63-69.
- Antunes, A., Antunes, A., & Cardello, H. (2004). Chemical, physical, microstructural and sensory properties of set fat-free yogurts stabilized with whey protein concentrate. *Milchwissenschaft*, 59(3-4), 161-165.
- AOAC. (2000). Official Methods of Analysis. 17th ed. In *Association of official analytical chemists*. Gaithersburg, Maryland, USA.
- Araújo, E. A., de Carvalho, A. F., Leandro, E. S., Furtado, M. M., & de Moraes, C. A. (2010). Development of a symbiotic cottage cheese added with *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20 and inulin. *Journal of Functional Foods*, 2(1), 85-89. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jff.2009.12.002>

- Bönisch, M. P., Tolkach, A., & Kulozik, U. (2006). Inactivation of an indigenous transglutaminase inhibitor in milk serum by means of UHT-treatment and membrane separation techniques. *International Dairy Journal*, 16(6), 669-678. doi:<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.08.014>
- Buriti, F. C., Cardarelli, H. R., Filisetti, T. M., & Saad, S. M. (2007). Synbiotic potential of fresh cream cheese supplemented with inulin and *Lactobacillus paracasei* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*. *Food chemistry*, 104(4), 1605-1610. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.001>
- Butel, M.-J. (2014). Probiotics, gut microbiota and health. *Médecine et maladies infectieuses*, 44(1), 1-8. doi:<https://doi.org/10.1016/j.medmal.2013.10.002>
- Cardarelli, H. R., Buriti, F. C. A., Castro, I. A., & Saad, S. M. I. (2008). Inulin and oligofructose improve sensory quality and increase the probiotic viable count in potentially synbiotic petit-suisse cheese. *LWT - Food Science and Technology*, 41(6), 1037-1046. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.07.001>
- Codex Alimentarius Commission. (2003). Codex standard for fermented milks. [Codex Standard No. 243-2003]. Retrieved from http://www.fao.org/input/download/standards/400/CXS_243e.pdf
- Danesh, E., Jooyandeh, H., & Goudarzi, M. (2017a). Improving the rheological properties of low-fat Iranian UF-Feta cheese by incorporation of whey protein concentrate and enzymatic treatment of transglutaminase. *Iranian Journal Food Science Technology*, 14(67), 285-298. (In Persian).
- Danesh, E., Jooyandeh, H., & Goudarzi, M. (2017b). The influence of transglutaminase treatment on physicochemical, rheological and organoleptical attributes of low-fat ultrafiltered cheese incorporated with whey proteins during shelf life. *Journal of Food Technology and Nutrition*, 14(4), 25-36. (In Persian).
- Dmytrów, I., Jasinska, M., & Dmytrów, K. (2010). Effect of microbiological transglutaminase on selected physicochemical properties of tvarog. *Italian Journal of Food Science*, 22(4), 449-460.
- Donkor, O. N., Nilmini, S., Stolic, P., Vasiljevic, T., & Shah, N. (2007). Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal*, 17(6), 657-665. doi:<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.08.006>
- Dybning, S., & Smith, D. (1998). The ability of phosphates or κ-carrageenan to coagulate whey proteins and the possible uses of such coagula in cheese manufacture. *Journal of dairy science*, 81(2), 309-317. doi:[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75579-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75579-1)
- Farnsworth, J., Li, J., Hendricks, G., & Guo, M. (2006). Effects of transglutaminase treatment on functional properties and probiotic culture survivability of goat milk yogurt. *Small Ruminant Research*, 65(1-2), 113-121. doi:<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.05.036>
- Geiser, M. (2003). The wonders of whey protein. *NSCA's Performance Training Journal*, 2(5), 13-15.
- Granato, D., Branco, G. F., Nazzaro, F., Cruz, A. G., & Faria, J. A. (2010). Functional foods and nondairy probiotic food development: trends, concepts, and products. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 9(3), 292-302. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00110.x>
- Guggisberg, D., Cuthbert-Steven, J., Piccinelli, P., Bütkofer, U., & Eberhard, P. (2009). Rheological, microstructural and sensory characterization of low-fat and whole milk set yoghurt as influenced by inulin addition. *International Dairy Journal*, 19(2), 107-115. doi:<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.07.009>
- Imm, J., Lian, P., & Lee, C. (2000). Gelation and water binding properties of transglutaminase-treated skim milk powder. *Journal of Food Science*, 65(2), 200-205. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb15979.x>
- Jaros, D., Partschefeld, C., Henle, T., & Rohm, H. (2006). Transglutaminase in dairy products: chemistry, physics, applications. *Journal of texture studies*, 37(2), 113-155. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2006.00042.x>
- Jirsaraei, B., Pourahmad, R., & Fadaei, N. V. (2017). The Effect of Inulin and Lactulose on survival of *Lactobacillus casei* and physicochemical and sensory characteristics of probiotic Ultrafiltrated Feta Cheese. *Journal of Food Technology and Nutrition*, 14(1), 35-46. (In Persian).
- Jooyandeh, H. (2009). Effect of fermented whey protein concentrate on texture of Iranian white cheese. *Journal of texture studies*, 40(5), 497-510. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2009.00194.x>

- Jooyandeh, H., & Minhas, K. S. (2009). Effect of addition of fermented whey protein concentrate on cheese yield and fat and protein recoveries of Feta cheese. *Journal of Food Science and Technology (Mysore)*, 46(3), 221-224.
- Jovanović, S., Barać, M., & Maćeđ, O. (2005). Whey proteins-properties and possibility of application. *Mlještarstvo: Časopis za Unaprjeđenje Proizvodnje I Prerade Mlijeka*, 55(3), 215-233.
- Kailasapathy, K., & Supriadi, D. (1998). Effect of partially replacing skim milk powder with whey protein concentrate on the sensory qualities of lactose hydrolysed acidophilus yogurt. *Milchwissenschaft*, 53(7), 385-389.
- Kaminarides, S. (2015). A modified form of Myzithra cheese produced by substituting the fresh cheese whey by dried whey protein concentrate and ovine milk and cream. *Small Ruminant Research*, 131, 118-122. doi:<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.07.020>
- Katsiari, M., Voutsinas, L., Kondyli, E., & Alichanidis, E. (2002). Flavour enhancement of low-fat Feta-type cheese using a commercial adjunct culture. *Food Chemistry*, 79(2), 193-198. doi:[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00131-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00131-0)
- Kuraishi, C., Yamazaki, K., & Susa, Y. (2001). Transglutaminase: its utilization in the food industry. *Food Reviews International*, 17(2), 221-246. doi:<https://doi.org/10.1081/FRI-100001258>
- Lorenzen, P. C., Neve, H., Mautner, A., & Schlimme, E. (2002). Effect of enzymatic cross-linking of milk proteins on functional properties of set-style yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 55(3), 152-157. doi:<https://doi.org/10.1046/j.1471-0307.2002.00065.x>
- Madureira, A. R., Pintado, A. I., Gomes, A. M., Pintado, M. E., & Malcata, F. X. (2011). Rheological, textural and microstructural features of probiotic whey cheeses. *LWT-Food Science and Technology*, 44(1), 75-81. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.06.030>
- Maki, K. C., Dicklin, M. R., Cyrowski, M., Umporowicz, D. M., Nagata, Y., Moon, G., . . . Davidson, M. H. (2002). Improved calcium absorption from a newly formulated beverage compared with a calcium carbonate tablet. *Nutrition Research*, 22(10), 1163-1176. doi:[https://doi.org/10.1016/S0271-5317\(02\)00418-9](https://doi.org/10.1016/S0271-5317(02)00418-9)
- Mortazavian, A., Ehsani, M., Sohrabvandi, S., & Reinheimer, J. (2007). MRS-bile agar: its suitability for the enumeration of mixed probiotic cultures in cultured dairy products. *Milchwissenschaft*, 62(3), 270-272.
- Neve, H., Lorenzen, P. C., Mautner, A., Schlimme, E., & Heller, K. (2001). Effects of transglutaminase treatment on the production of set skim milk yoghurt: microbiological aspects. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte*, 53(4), 347-361.
- Özer, B., Hayaloglu, A. A., Yaman, H., Gürsoy, A., & Şener, L. (2013). Simultaneous use of transglutaminase and rennet in white-brined cheese production. *International Dairy Journal*, 33(2), 129-134. doi:<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.02.001>
- Ozer, B., Kirmaci, H. A., Oztekin, S., Hayaloglu, A., & Atamer, M. (2007). Incorporation of microbial transglutaminase into non-fat yogurt production. *International Dairy Journal*, 17(3), 199-207. doi:<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.02.007>
- Pavunc, A. L., Begović, J., Kos, B., Buneta, A., Beluhan, S., & Šušković, J. (2011). Influence of microencapsulation and transglutaminase on viability of probiotic strain *Lactobacillus helveticus* M92 and consistency of set yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 64(2), 254-261. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00647.x>
- Pierro, P. D., Mariniello, L., Sorrentino, A., Giosafatto, C. V. L., Chianese, L., & Porta, R. (2010). Transglutaminase-induced chemical and rheological properties of cheese. *Food Biotechnology*, 24(2), 107-120. doi:<https://doi.org/10.1080/08905431003784465>
- Pinto, S., Rathour, A., Prajapati, J., Jana, A., & Solanky, M. (2007). Utilization of whey protein concentrate in processed cheese spread. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 6(5), 398-401.
- Poppitt, S. D., Proctor, J., McGill, A.-T., Wiessing, K. R., Falk, S., Xin, L., . . . Hall, R. S. (2011). Low-dose whey protein-enriched water beverages alter satiety in a study of overweight women. *Appetite*, 56(2), 456-464. doi:<https://doi.org/10.1016/j.appet.2011.01.015>

- Radošević, V., Tonković, K., Gregurek, L., Kos, B., & Šušković, J. (2007). Production of fresh probiotic cheese with addition of transglutaminase. *Mljarstvo: Časopis za Unaprjeđenje Proizvodnje I Prerade Mlijeka*, 57(1), 15-29.
- Rao, V. A. (2001). The prebiotic properties of oligofructose at low intake levels. *Nutrition Research*, 21(6), 843-848. doi:[https://doi.org/10.1016/S0271-5317\(01\)00284-6](https://doi.org/10.1016/S0271-5317(01)00284-6)
- Rivera-Espinoza, Y., & Gallardo-Navarro, Y. (2010). Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology*, 27(1), 1-11. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.06.008>
- Sayadi, A., Madadlou, A., & Khosrowshahi, A. (2013). Enzymatic cross-linking of whey proteins in low fat Iranian white cheese. *International Dairy Journal*, 29(2), 88-92. doi:<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2012.10.006>
- Staffolo, M. D., Bertola, N., Martino, M., & Bevilacqua, y. A. (2004). Influence of dietary fiber addition on sensory and rheological properties of yogurt. *International Dairy Journal*, 14(3), 263-268. doi:<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.08.004>
- Temiz, H., & Dağyıldız, K. (2017). Effects of Microbial Transglutaminase on Physicochemical, Microbial and Sensorial Properties of Kefir Produced by Using Mixture Cow's and Soymilk. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 37(4), 606-616. doi:<https://doi.org/10.5851/kosfa.2017.37.4.606>
- Tripathi, M. K., & Giri, S. K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 9, 225-241. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.030>

Modeling and Optimization of Physicochemical and Organoleptical Properties and *Lactobacillus acidophilus* Viability in Ultrafiltrated Synbiotic Cheese, Containing Microbial Transglutaminase Enzyme, Whey and Inulin

Fereshteh Torabi¹, Hossein Jooyandeh^{2*}, Mohammad Noshad³, Hassan Barzegar²

1- M.Sc., Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

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

* Corresponding author (hosjooy@asnrukh.ac.ir)

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

Abstract

The growing demand of consumers for healthy foods has created a great incentive for the advancement of new food products around the world. Functional foods, particularly symbiotic products, are one of these products. In this research, the effects of microbial transglutaminase enzyme (MTG, 0-1 units per gram of milk protein), demineralized whey powder (DWP) solution containing 34% DWP (0-16%) and inulin (0-2%) on the physicochemical, sensorial and microbial properties of Iranian white ultrafiltrated symbiotic cheese was investigated using the response surface method (RSM). For cheese production, *Lactobacillus acidophilus* LA5 was used as probiotic and inulin and DWP solution were used as prebiotics. The results showed that by increasing of MTG concentration, moisture content of cheeses increased significantly ($P<0.05$), but acidity and other physicochemical properties and sensory attributes did not change noticeably. By increasing DWP substitution with ultrafiltrate, fat and protein values ($P<0.01$) and all the sensory attributes ($P<0.05$) significantly decreased but acidity did not change remarkably. Furthermore, with increasing inulin, acidity, color and appearance, odor and flavor ($P<0.05$) increased and moisture content ($P<0.01$) decreased significantly. By increasing of MTG concentration, the number of probiotic bacteria reduced significantly but addition of DWP solution ($P<0.05$) and inulin ($P>0.05$) had adverse effect and enhanced it. The optimization results showed that by using 0.43 U/g protein of MTG, 8.24% DWP solution and 0.71% of inulin, an Iranian white symbiotic ultrafiltrated cheese with appropriate physicochemical and sensory properties could be produced. The optimized cheese had adequate total acceptability (7.76 score) and high probiotic count (6.96 logcfu/g).

Keywords: Inulin, *Lactobacillus acidophilus*, RSM, Synbiotic cheese, Transglutaminase enzyme

بررسی اثر آنتیاکسیدان و نگهدارنده‌ها بر ویژگی‌های اکسایشی و میکروبی کرده گردو طی زمان ماندگاری

مصطفی شهیدی نوقابی^{۱*}، راضیه نیازمند^۱، مژده صراف^۲، مهناز شهیدی نوقابی^۳

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

* نویسنده مسئول (m.shahidi@rifst.ac.ir)

۲- دانشجوی دکترای شیمی مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

۳- دانشآموخته کارشناسی ارشد مهندسی علوم و صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۱۳

چکیده

واژه‌های کلیدی
آنتماکسیدان
زمان ماندگاری
کرده گردو
نگهدارنده

گردو حاوی بسیاری از ترکیبات غذایی از جمله اسیدهای چرب امگا-۳، انواع ویتامین‌ها بخصوص ویتامین E و انواع مواد معدنی است. از این‌رو، گسترش محصولات غذایی بر پایه گردو و مطالعه روی آنها از جهات مختلف و از جمله پایداری شیمیایی و میکروبی طی نگهداری بسیار حائز اهمیت است. در این تحقیق به بررسی اثر غلظت‌های مختلف آنتیاکسیدان بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) در سه سطح (۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بر تغییرات عدد پراکسید و عدد اسیدی کرده گردو و همچنین اثر دو نوع نگهدارنده اسید بنزوئیک و اسید سوربیک در دو سطح (۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) به صورت جداگانه و مخلوط بر شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها و شمارش کپک و مخمر نمونه‌های کرده گردو، طی ۷۵ روز نگهداری در دمای محیط پرداخته شده است. نتایج این تحقیق نشان داد که با افزودن BHT در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، عدد پراکسید به میزان قابل توجهی نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت. عدد اسیدی کرده گردو پس از تولید ۳/۰ درصد بود که تا روز ۷۵ام نگهداری در نمونه‌های مختلف به ۰/۴-۰/۵ درصد رسید. همچنین نتایج نشان داد اسید بنزوئیک در مقایسه با اسید سوربیک کارایی بیشتری در کاهش شمارش کلی باکتری‌ها و شمارش کپک و مخمر طی دوره نگهداری دارد.

تا گلی‌داغ در جلگه و ساحل تا ارتفاع ۲۲۰۰ متر از سطح دریا انتشار دارد و به طور پراکنده یا کم‌وبیش انبوه در جنگل‌ها از جمله جنگل‌های غرب و در راه سنندج به مریوان به طور خودرو دیده می‌شوند (Sharafati, Chaleshtori, Sharafati Chaleshtori, & Rafieian, 2011). از لحاظ تغذیه‌ای مصرف مغز گردو موجب افزایش اسید چرب ضروری امگا-۳ در مصرف‌کننده می‌گردد. ۱۵ درصد از چربی‌های گردو از نوع چربی‌های غیراشبع و

مقدمه

گردو^۱ با نام علمی *Juglans regia* از خانواده Juglandaceae است. نام علمی این جنس از کلمه لاتین Jovis-Glans به معنی فندق ژوپیتر گرفته شده است. منشأ درخت گردو را آسیای غربی و نواحی هیمالیا می‌دانند. در ایران نیز گردو در جنگل‌های شمال از آستارا

^۱ Walnut

تندی اکسایشی مهم‌ترین نوع فساد چربی است. فساد اکسایشی چربی‌ها باعث توسعه عطر وطعم نامطلوب در فراورده شده و از طریق تولید ترکیبات سمی و فعال فیزیولوژیکی منجربه تخریب ویتابیمین‌ها، اسیدهای چرب ضروری، کلروفیل‌ها، کاروتون‌ها، آمینواسیدها، پروتئین‌ها یا آنزیم‌ها می‌گردد. هیدروپراکسیدها و محصولات حاصل از تجزیه آنها مواد فعال بالقوهای هستند که می‌توانند باعث تجزیه پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه شوند. از جمله ترکیبات جانبی که درنتیجه تجزیه هیدروپراکسیدهای حاصل از تندی اکسایشی لیپیدهای غیراشباع می‌توان به اسیدها، الكل‌ها، آبدیدها و کتون‌ها اشاره کرد (Gardner, 1979; St. Angelo & Ory, 1975). بیشترین میزان اکسایش لیپیدهای مغزها در صورت نگهداری در شرایط محیط رخ می‌دهد و با افزایش دمای نگهداری از ۱۰ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد عدد پراکسید که نشانه پیشرفت اکسایش است افزایش می‌یابد (Maskan & Karataş, 1998).

آجیل‌ها ممکن است تا بیش از ۲/۵ سال در شرایط بهینه نگهداری شوند اما تحت شرایط نامطلوب در عرض یک ماه، درنتیجه تنفس، کپکزدن، جذب طعم‌های خارجی، بی‌رنگ شدن و تندی غیرقابل خوردن خواهند شد. محتوای چربی به تنها ی نشانگر خوبی برای بررسی Pershern, (1995) پایداری در زمان نگهداری محصول نیست (Breene, & Lulai, 1995; Labuza & Dugan Jr, 1971; Löliger, 1990)، توکوفرول‌ها (Pershern *et al.*, 1995) و دما بتاکاروتون، محتوای رطوبت (Evranuz, 1993) و دما (Hasenhuettl & Wan, 1992; Reynhout, 1991) بر اکسایش اولیه لیپیدها و پایداری اکسایشی مواد غذایی با رطوبت متوسط در طی نگهداری تأثیر می‌گذارد (Bremner, Ford, Macfarlane, Ratcliff, & Russell, 1976; Maskan & Karataş, 1998). استفاده از آنتی‌اسیدان‌های طبیعی به طور گسترهای به‌وسیله چندین محقق موردمطالعه و بررسی قرار گرفته است (Abramović & Abram, 2006; Nahm, Juliani, & Rossignol- Villeneuve Judd, 2012) دریافتند که افزودن ۱۱ (Le Guillou و Castera ۲۰۰۳) درصد (وزنی/وزنی) لستین سویا، اکسایش روغن‌های حاصل از دانه‌های روغنی پالم، گندم و سویا را به تأخیر می‌اندازد. اکسایش روغن‌ها و چربی‌ها می‌تواند به‌وسیله

مفید برای سلامت قلب می‌باشد. این نوع چربی، پایین‌آورنده کلسترول بد^۱ و افزاینده کلسترول خوب^۲ است. همچنین لیپوپروتئین^۳ (ترکیب لیپیدی دیگری که لخته‌شدن خون را افزایش می‌دهد، که در واقع عامل خطرناکی برای تصلب شرایین^۴ است) را کاهش می‌دهد. اسید چرب امگا-۳ از ضربان نامنظم قلب، لخته‌شدن خون در شرایان‌ها (که تقریباً علت بیشتر حمله‌های قلبی است) جلوگیری کرده و برای سیستم قلب و عروق مفید است (Rajaram, Haddad, Mejia, & Sabaté, 2009) بهترین منبع منگنز و مس می‌باشد. در گردو، منیزیم و فسفر نیز وجود دارد. مقداری روی، آهن، کلسیم و سلنیوم نیز پیدا شده است. گردو مقدار کمی سدیم یا نمک دارد. همچنین این محصول حاوی مقادیر قابل توجهی از ویتابین‌های B1، B5 و B6 می‌باشد. در گردو ویتابین‌هایی نظیر E، B2 و B3 نیز وجود دارند (Kris-Etherton *et al.*, 1999). علاوه‌بر مواد مغذی که ذکر شد ریزمعذی‌هایی از قبیل رنگدانه‌ها و ترکیبات فنولی نیز در گردو وجود دارند که سبب بروز خواصی همچون خاصیت آنتی‌اسیدانی، محرك سیستم ایمنی، ضدسرطان و ضدغذونی در گردو می‌شوند (Jenab *et al.*, 2004). ترکیبات مهم و متعدد موجود در گردو حاکی از ارزشمندی‌بودن آن و نشان‌دهنده خواص و اثرات وسیع آن است. گردو نیز مانند سایر مغزها از کالری زیادی (حدود ۶۵۴ کالری در هر ۱۰۰ گرم) برخوردار است. کالری موجود در گردو به‌طور عمده به‌دلیل مقادیر بالای پروتئین و چربی موجود در گردو است.

کرۀ گردو محصول ترکیبی حاصل از گردو است که با استفاده از مغز گردی بوداده شده و آسیاب شده همراه شیرین‌کننده (شکر یا دیگر شیرین‌کننده‌ها) و کمی نمک به‌دست می‌آید. امروزه در صنایع غذایی از افزودنی‌هایی مثل امولسیون‌کننده‌ها، آنتی‌اسیدان‌ها، قوام‌دهنده‌ها و غیره جهت بهبود کیفیت و افزایش عمر ماندگاری غذایی به‌طور گسترهای استفاده می‌شود. البته باید توجه داشت تا مقادیر هریک از موارد ذکر شده باید در حد بهینه باشد. بنابراین بهینه‌سازی این ترکیبات نقش مهمی در بهبود کیفیت و ماندگاری آن خواهد داشت.

¹ Low Density Lipoprotein (LDL)

² High Density Lipoprotein (HDL)

³ Lipoprotein(a) (Lp a)

⁴ Atherosclerosis

میکروارگانیسم‌هاست. این ترکیبات از طریق اثر بازدارندگی بر آنزیم‌های سولفیدریل رشد میکروارگانیسم‌ها را متوقف می‌کند. همچنین مشخص شده است که اسید سوربیک اثر بازدارندگی بر آنزیم‌های فوماراز^۳، آسپارتاز^۴ و سوکسینیک دهیدروژناز^۵ میکروارگانیسم‌ها دارد (Shad, Zafar, Nawaz, & Anwar, 2012).

اسید بنزوئیک و نمک‌های آن (بنزووات‌ها) ممکن است به‌طور طبیعی در مواد غذایی یافت شوند اما استفاده از ویژگی‌های ضدмیکروبی آنها به‌عنوان نگهدارنده تاریخچه طولانی دارد. استفاده از این ترکیبات توسط کمیته تخصصی FAO/WHO برای افزودنی‌های غذایی^۶ محدود شده است. طبق استانداردهای اعلام شده توسط کمیته تخصصی مواد غذایی (JECFA) در سازمان بین‌المللی فائو میزان جذب روزانه قابل قبول برای اسید بنزوئیک و بنزولوت‌ها صفر تا ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن است. میزان سمیت اسید بنزوئیک به‌عنوان یک افزودنی پایین است اما به‌هرحال در افراد با حساسیت بالا، جذب اسید بنزوئیک در مقادیر کمتر از ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز نیز می‌تواند به واکنش‌های تماسی غیرایمنوژنیک (آلرژی کاذب) منجر شود (Lazarevic, Stojanovic, & Rancic, 2011).

در این تحقیق سعی شده است با استفاده از تشابه ترکیبی گردو با بادام‌زمینی، پسته و کنجد محصول مشابهی بر پایه گردو تولید گردد و با استفاده از آنتیاکسیدان‌ها و ترکیبات نگهدارنده و بهینه‌یابی مقدار آنها کیفیت محصول در طی مدت زمان نگهداری در حد مطلوب نگهدارنده شود.

مواد و روش‌ها

تهیه کرده گردو

جهت تهیه کرده، گردو واریته تویسرکان خریداری شد. گردوهای بوداده شده (بدین‌منظور گردوهای در معرض دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد) توسط یک آسیاب مکانیکی قوی (مدل آرمان خرد توس، ساخت ایران) خرد شد. شکر آسیاب شده به میزان ۲۰

افزودن آنتیاکسیدان‌ها، استفاده از فناوری‌های فراوری که حداقل افت توکوفرول و آنتیاکسیدان‌های طبیعی را داشته باشد، کنترل شود (Allen & Hamilton, 1994; Kaitaranta, 1992).

بوتیل هیدروکسی تولوئن^۱ (BHT) آنتیاکسیدان سنتزی است که از دهه ۱۹۵۰ در روغن‌ها و چربی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. BHT پایداری حرارتی مناسبی دارد، به‌طور مثال در فرایندهای حرارتی بالای ۱۷۵ درجه سانتی‌گراد، تنها ۲۵ تا ۳۰ درصد BHT غیرفعال می‌شود. BHT ممکن است زمانی که در حرارت‌های بالا (حرارت‌های سرخ کردن) به مدت طولانی مورد استفاده قرار گیرد، در مواد غذایی بوی خاصی تولید کنند (Law, 1984). گزارش‌ها حاکی از این مطلب است که مصرف بالای BHT در حیوانات آزمایشگاهی منجر به صدمات بافتی به ریه، قلب، کبد، دستگاه تولیدمثل، غدد فوق کلیوی و کلیه‌ها می‌گردد. همچنین اختلالاتی در مکانیسم Williams, McQueen, & Tong, 1990.

علاوه بر تندي اکسایشی، فساد میکروبی نیز ماندگاری محصولاتی مانند کره گردو را تهدید می‌کند. بدین‌منظور از ترکیبات نگهدارنده جهت جلوگیری از واکنش‌های میکروبی استفاده می‌شود. با توسعه فناوری‌های تولید، استفاده از نگهدارنده‌ها در صنایع غذایی افزایش یافته است. اما استفاده غیرمجاز از این ترکیبات شیمیایی در مواد غذایی ممکن است اثر سمی بر سلامت انسان به همراه داشته باشد. اسید سوربیک (۲،۴-هگزادی‌انوئیک اسید^۲) ترکیب آلی طبیعی است که به‌عنوان نگهدارنده استفاده می‌شود. اسید سوربیک و مشتقات آن (سوربات کلسیم، سوربات پتاسیم و سوربات سدیم) فعالیت ضدمیکروبی دارند و به‌همین دلیل، به‌عنوان نگهدارنده در بسیاری از مواد غذایی و نوشیدنی‌ها مانند فراورده‌های پنیر، ماهی، نوشیدنی‌های کربناته، مارگارین و بیویژه فراورده‌های گیاهی مورد استفاده قرار گیرند. سوربات‌ها به‌طور معمول در غلظت ۰/۰۲۵ تا ۰/۱ درصد مورد استفاده قرار می‌گیرند و pH بهینه برای فعالیت آنها زیر ۶/۵ است. اثر نگهدارندگی اسید سوربیک به‌دلیل اثر بازدارندگی آن بر فعالیت آنزیم‌های مسئول رشد

³ Foamarase

⁴ Aspartase

⁵ Succinic dehydrogenase

⁶ Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)

¹ Butylated Hydroxytoluene (BHT)

² 2,4-hexadienoic acid

قبل از اندازه‌گیری باید نمونه به دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد برسد. اما باید توجه داشت که نمونه بدون تبادل رطوبت با محیط باشد. سپس مقداری از نمونه در ظرف پلاستیکی مخصوص ریخته و داخل دستگاه قرار داده شد و درب دستگاه بسته شد تا در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به فشار بخار ثابت برسد. پس از طی مدت زمانی (این زمان در هر نمونه متفاوت بود)، میزان فشار بخار آب ثابت شده بر فشار بخار آب خالص یا به عبارتی فعالیت آبی نمونه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نمایش داده شده روی صفحه دستگاه خوانده شد (Institute of Standards and Industrial Research of Iran [ISIRI], 2006).

پایداری اکسایشی

جهت تعیین پایداری اکسایشی نمونه‌های کره گرد، عددی اسیدی و پراکسید آنها طی مدت نگهداری اندازه‌گیری شد. بدین‌منظور ابتدا روغن نمونه‌ها استخراج شد. برای استخراج مقدار مشخص از کره گرد (۵۰ گرم) با حلal هنگزان به نسبت ۱ به ۲ (وزنی-حجمی) مخلوط شده و به مدت ۴۵ دقیقه در دمای محیط هم‌زده شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه به صورت ثابت قرار گرفت تا محیط کاملاً دو فاز گردد و درنهایت مخلوط صاف شده و حلal آن تحت خالا و در دمای محیط تبخیر شد. آزمون‌های مربوطه روی روغن به دست آمده انجام شد.

اندازه‌گیری عدد پراکسید^۱

۱/۰ تا ۰/۰ گرم نمونه روغن در لوله‌های آزمایش ۱۵ میلی‌لیتر وزن شد و با ۹/۸ میلی‌لیتر حلal کلروفرم متابول^۲ (به نسبت ۳ به ۷) مخلوط و به مدت ۲ تا ۴ ثانیه هم‌زده شد. محلول تیوسیونات آمونیوم^۳ (محلول آبی ۳۰ درصد) به مقدار ۵۰ میکرولیتر اضافه شد و به مدت ۲ تا ۴ ثانیه هم‌زده شد سپس ۵۰ میکرولیتر محلول آهن II نیز اضافه و به مدت ۲ تا ۴ ثانیه محلول هم‌زده شد. پس از ۵ دقیقه گرمخانه‌گذاری در دمای اتاق، جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۰۰ نانومتر در برابر شاهد که حاوی

درصد، نمک به میزان ۵/۰ درصد و لستین به میزان ۵/۰ درصد به گردی خردشده اضافه شد. عمل هم‌زدن با استفاده از آسیاب نیمه‌صنعتی (توس‌شکن خراسان، ساخت ایران) تا تهیه مخلوط یکنواخت و همگن ادامه یافت. سپس مخلوط (که حالت خمیری داشت) وارد آسیاب شده و تا تبدیل شدن به یک کرم یکدست و یکنواخت آسیاب گردید (در دمای محیط به مدت ۶۰ دقیقه).

بررسی اثر نگهدارنده‌ها و آنتی‌اکسیدان بر ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی محصول طی زمان ماندگاری در این مرحله اثر آنتی‌اکسیدان و نگهدارنده بر ویژگی‌های نمونه‌های کره گرد طی ۷۵ روز نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بررسی شد. بدین‌منظور ۵۰±۵ گرم کره گرد تو زین شده و در ظرف‌های درب‌دار از جنس پلاستیک و به قطر ۵/۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۵ سانتی‌متر ریخته شد. درب ظرف‌ها کاملاً بسته شده و در داخل گرمخانه با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. برای هر نمونه ۳ ظرف (۳ تکرار) آماده شد و آزمون‌ها در فواصل زمانی ۱۵ روزه روی نمونه‌ها انجام شد.

اثر آنتی‌اکسیدان

به فرمول پایه کره گرد و آنتی‌اکسیدان BHT در مقدار صفر، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزوده شد. جهت بررسی روند اکسایش کره گرد در طول مدت نگهداری، آزمون‌های عدد پراکسید و عدد اسیدی روی نمونه‌ها انجام شد.

اثر نگهدارنده

در این مرحله فرمول پایه کره گرد تهیه شد و نگهدارنده در غلظت‌های متفاوت به آن افزوده شد. از دو نگهدارنده اسیدبنزوئیک و اسیدسوربیک در مقدار صفر، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و همچنین مخلوط اسیدبنزوئیک و اسیدسوربیک در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (به نسبت ۵۰:۵۰) استفاده شد. جهت بررسی روند پایداری میکروبی کره گرد در طول مدت نگهداری، شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها و شمارش کپک و مخمر نمونه‌ها انجام شد.

اندازه‌گیری فعالیت آبی^{a_w}

فعالیت آبی نمونه توسط دستگاه آبیمتر (مدل Lab

¹ Peroxide Value (PV)

² Chloroform

³ Methanol

⁴ Ammonium tiosianat

مناسب افزوده شد و کاملاً مخلوط گردید تا رقت ۰/۱ به دست آید. برای تهیه سایر رقت‌ها، به تعداد لازم لوله‌های حاوی ۹ میلی‌لیتر محلول رقیق‌کننده تهیه شد و سپس به کمک سپلر، ۱ میلی‌لیتر از رقت اولیه برداشته و به اولین لوله حاوی رقیق‌کننده افزوده شد و این عمل تا رسیدن به آخرین رقت موردنیاز ادامه یافت.

شمارش کلی پرگنه‌های میکروارگانیسم‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد مطابق استاندارد ملی ایران به شماره Institute of Standards and Industrial (۹۸۹۹) انجام شد. (Research of Iran [ISIRI], 2016a) بدین‌منظور از محیط کشت نوترینت‌آگار^۱ استفاده شد. محیط کشت یادشده مطابق دستورالعمل شرکت سازنده آماده شد. پس از آن رقت‌های لازم برای آزمایش آماده شدند. سپس به هر پلیت ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت ذوب شده با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد افزوده شد (زمان تهیه سوسپانسیون تا افزودن به پلیت نباید از ۱۵ دقیقه تجاوز نماید). پس از بستن محیط کشت، پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به صورت واژگون گرم‌خانه‌گذاری شدند. پس از ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری، برای شمارش پرگنه‌های هر پلیت از دستگاه پرگنه‌شمار^۲ (Biochemical Engineering ME 201) ساخت ایران استفاده گردید.

شمارش کپک و مخمر

این آزمون براساس استانداردهای ملی ایران به شماره Institute of Standards and (۹۸۹۹ و ۱۰۸۹۹/۱) انجام شد. رقت‌های موردنظر آماده شدند و از محیط کشت پویتیود-کستروز-آگار^۳ استفاده شد. پلیت‌ها به صورت وارونه و به مدت ۳ الی ۷ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و پس از طی این مدت با استفاده از دستگاه پرگنه‌شمار، شمارش شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

از طرح کاملاً تصادفی برای انجام آزمایش‌ها استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها براساس آنالیز واریانس در سطح

همه معرفها جزء نمونه بود با دستگاه اسپکتروفوتومتر (Hach, DR5000) ساخت آمریکا) خوانده شد. تمامی مراحل انجام آزمایش در نور ملایم و به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. در این روش از محلول آهن III (شامل ۱ تا ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) به عنوان استاندارد استفاده شد. منحنی استاندارد رسم و نتایج براساس میلی‌اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم گزارش شد. عدد پراکسید از رابطه (۱) محاسبه شد.

رابطه (۱)

$$PV = \frac{(As - Ab) \times m}{55.84 \times W \times 2}$$

در رابطه (۱)، As میزان جذب نمونه، Ab میزان جذب شاهد در طول موج ۵۰۰ نانومتر، m شیب به دست آمده از منحنی کالیبراسیون (۱۸/۷۶ با ضریب تبیین ۰/۹۱) و W وزن نمونه روغن می‌باشد (Shantha & Decker, 1994).

اندازه‌گیری عدد اسیدی

۱۰ گرم نمونه روغن داخل ارن تو زین شد و به آن ۵۰ میلی‌لیتر حلحل اتانول کلروفرم به نسبت مساوی اضافه گردید (حلحل باید خنثی باشد، در غیر این صورت باعث افزایش و یا کاهش خاصیت اسیدی می‌گردد). نمونه در مجاورت معرف فنل‌فتالئین با پetas ۱/۰ نرمال، تیتر شد. عدد اسیدی از رابطه (۲) محاسبه شد.

رابطه (۲)

$$\frac{N \times V \times 56/1}{W} = \text{عدد اسیدی}$$

در رابطه (۲)، N نرمالیتۀ پetas، V حجم پetas مصرفی و W وزن نمونه می‌باشد. عدد اسیدی بر حسب میلی‌گرم پetas مصرف شده به دست می‌آید (AOCS, 1993).

ارزیابی میکروبی

به منظور بررسی پایداری میکروبی نمونه‌های کره گردو در طول مدت نگهداری، شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها و شمارش کپک و مخمر روی نمونه‌ها انجام شد.

شمارش کلی

برای تهیه رقت‌های مختلف، ابتدا ۱۰ گرم از نمونه کره گردو به ارن حاوی ۹۰ میلی‌لیتر محلول رقیق‌کننده

¹ Nutrient Agar (NA)

² Colony counter

³ Potato Dextrose Agar (PDA)

آنتری اکسیدان BHT در مقایسه با شاهد (بدون آنتری اکسیدان) طی ۷۵ روز نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد در شکل (۱) نشان داده شده است. نتایج گویای این مطلب است که با افزایش زمان، PV نمونه های کرۂ گردو به طور معنی دار افزایش یافت ($P<0.05$) در حالی که در نمونه های حاوی غلظت های مختلف BHT و همچنین نمونه شاهد، شتاب افزایش PV متفاوت بود. بیشترین شتاب افزایش PV به نمونه کرۂ گردوی شاهد مربوط بود، به طوری که در فاصله روز ۱۱۵ تا ۱۴۵ام، PV آن از ۱/۷۱ به ۳/۹۱ میلی اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم رسید. پس از روز ۱۴۵ام، PV در نمونه شاهد روند نزولی را طی کرد که می تواند گواه شکستن فراورده های اولیه اکسایش (هیدروپراکسیدها) و تبدیل آنها به فراورده های ثانویه باشد.

Chien (۲۰۱۵) از آلفاتوکوفرول به عنوان آنتری اکسیدان در فرمولاسیون کرۂ دانه های گیاهی (دانه های آفتاب گردان، کدو و کنجد) استفاده کردند که نتایج آنها بیانگر عدم کارایی آلفاتوکوفرول در جلوگیری از اکسایش در دمای ۳۰ و ۵۰ درجه سانتی گراد بود و میزان اکسایش طی نگهداری به طور معنی داری افزایش یافت.

PV در نمونه های کرۂ گردو حاوی ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم از آنتری اکسیدان BHT تا پایان روز ۱۷۵ام روند افزایشی داشت اما شتاب افزایش در نمونه حاوی ۱۰۰ میلی اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم از BHT بیشتر از نمونه حاوی ۱۵۰ میلی اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم BHT بود. شیب سرعت افزایش PV در نمونه های کرۂ گردو حاوی ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم از BHT به ترتیب از روزهای ۱۶۰ام و ۱۴۵ام بسیار کند بود که آن را می توان به تعادل بین شکست هیدروپراکسیدها و تشکیل آنها در این بازه زمانی نسبت داد.

اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. برای آنالیز داده ها از نرم افزار Mini Tab نسخه ۱۶ و برای رسم نمودارها از نرم افزار Microsoft Excel نسخه ۲۰۱۰ استفاده شد.

نتایج و بحث

عدد پراکسید (PV^۱)

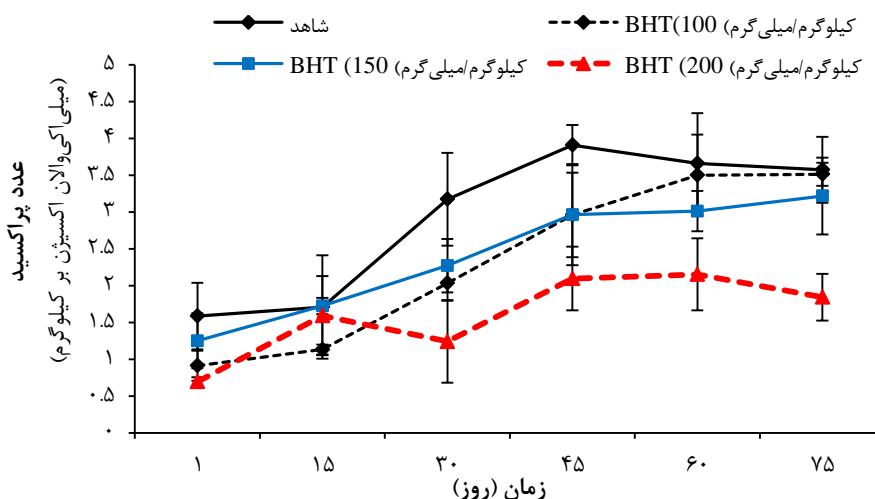
به طور کلی کرۂ دانه های روغنی به طور متوسط حاوی ۴۰ تا ۴۵ درصد روغن است که ۷۵ تا ۸۰ درصد آن از اسیدهای چرب غیر اشباع تشکیل شده است. اما بر اساس نتایج Dutta, Savage و McNeil (۱۹۹۹) کل روغن موجود در ۱۳ واریته مختلف گردوی پرورش یافته در باگ تحقیقاتی دانشگاه لینکلن آمریکا بین ۶۴/۲ تا ۶۸/۹ درصد بود که میزان اسید اولئیک آن ۲۰/۴ تا ۱۲/۷ درصد، اسید لینولئیک ۵۷ تا ۶۲/۵ درصد و اسید لینولنیک ۱۰/۷ تا ۱۶/۲ درصد بود.

در مرور گردوی ایران نیز گلزاری و همکاران در سال ۱۳۹۲ پروتئین، روغن و اسیدهای چرب ارقام برتر گردو شامل: چندر، هارتلی، پدره، Z60، Z30 و Z63 بررسی قرار دادند. نتایج این محققین نشان داد که اسیدهای چرب غیر اشباع در روغن گردو غالب می باشد که شامل اسید لینولئیک (۴۴/۸۴-۶۸/۴۴ درصد) و سایر اسیدهای چرب موجود لینولنیک (۱۵/۳۱-۲۳/۹۲ درصد)، اسید اولئیک (۸/۰۲-۳۱/۶۲ درصد)، اسید پالمیتیک (۱/۶۵-۲/۴۲-۶/۴۴ درصد) و اسید استئاریک (۲/۴۲-۲/۴۸ درصد) بود. همچنین آنها اظهار داشتند که مقدار روغن گردو در ارقام مختلف ۶۰-۷۵ درصد و میزان پروتئین مغز در این ارقام ۱۴/۶۷-۲۰/۳۸ درصد بود (Rahemi, Hassani, Vahdati, & Mohammadi, 2013).

پایین بودن اسیدهای چرب اشباع و بالابودن اسیدهای چرب چند غیر اشباع در روغن گردو منجر به افزایش اکسایش پذیری و تندشدن آنها شده و نیاز به نگهداری در شرایط کنترل شده و افزودن آنتری اکسیدان را تشديید می کند.

نتایج تجزیه واریانس حاکی از تأثیر معنی دار افزودن BHT بر PV نمونه های کرۂ گردو بود ($P<0.05$). تغییرات PV نمونه های کرۂ گردو حاوی غلظت های مختلف

^۱ Peroxide value



شکل ۱- تغییرات PV نمونه‌های کره گردو حاوی غلظت‌های مختلف (میلی‌گرم در کیلوگرم) آنتیاکسیدان BHT در مقایسه با شاهد طی ۷۵ روز نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد

کمتر از اسپرد آن بود. به طور کلی نتایج این محققین گواه قابل قبول بودن PV همه نمونه‌ها پس از ۲۵ روز نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود که نشانگر این مهم بود که فراورده‌های پسته دچار اکسایش شدید نشدند.

یکی از عوامل مهم در پیشرفت اکسایش، دما می‌باشد. Mureşan و همکاران (۲۰۱۵)، PV ارده آفتاب‌گردان را طی نگهداری در دمای ۴، ۴۰ درجه سانتی‌گراد و دمای اتاق به مدت ۳ ماه بررسی کردند. نتایج آنها حاکی از افزایش PV معنی‌دار PV در همه نمونه‌های روغن بود به طوری که آن از ۲۵/۱۷ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم در زمان ۴ تولید به ۳۶/۲۹، ۵۰/۱۸ و ۱۰/۱۲ به ترتیب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، دمای اتاق و دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد رسید.

Komeili Mazloomi Azar Haghani Haghghi (۲۰۰۸) ماندگاری کره پسته را در دو دمای ۲۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد طی ۱۲۰ روز مورد پایش قرار دادند. نتایج آنها گویای پایداری خوب روغن کره پسته طی ماندگاری بود به طوری که در پایان ۱۲۰ روز نگهداری، PV کره پسته در دمای ۲۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد از ۱/۱۰ به ترتیب به ۲ و ۲/۵ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم رسید. درصد بالاتر روغن چندگیر اشباع در سویا می‌تواند علت حساسیت بالاتر آن به اکسایش نسبت به کره بادام‌زمینی باشد.

باتوجه به نتایج محققین فوق یکی از علل سرعت پایین اکسایش در نمونه‌های کره گردوی موردمطالعه در این پژوهش می‌تواند نگهداری آنها در دمای نسبتاً پایین یعنی دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد باشد.

PV نمونه‌های کره گردوی حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از BHT به طور معنی‌داری کمتر از سایر نمونه‌ها طی دوره ماندگاری بود به طوری که در پایان روز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم از BHT وجود نداشت اما PV نمونه‌های کره گردوی حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از BHT به طور معنی‌دار و چشمگیری پایین‌تر (۴۸ درصد) از سایر نمونه‌ها بود ($P < 0.05$).

PV (۲۰۰۲) Al-Malah, Abu-Jdayil و Asoud نمونه‌های کره سویا (کره آرد سویا، کره سویای پخته شده، کره سویای جوانه‌زده و کره سویای سرخ‌شده) را طی ۵ ماه نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری نموده و با کره بادام‌زمینی تجاری مقایسه کردند. نتایج آنها بیانگر پایین‌بودن PV کره بادام‌زمینی نسبت به همه نمونه‌های کره سویا در کل مدت نگهداری بود به طوری که در پایان مدت ۵ ماه PV کره بادام‌زمینی ۱۰/۴ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم بود. در حالی که PV کره‌های آرد، سرخ‌شده، پخته و جوانه‌زده سویا به ترتیب ۳، ۲، ۱/۳ و ۱/۱ برابر بیشتر از کره بادام‌زمینی بود.

(۲۰۱۵) Chin, Ghazali, Karim, Shakerardekani PV خمیر و اسپرد پسته را طی ۲۵ روز در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها حاکی از پایین‌تر خمیر پسته نسبت به اسپرد آن پس از ۲۵ روز نگهداری بود که علت آن را به پایداری بیشتر روغن در خمیر پسته نسبت به مخلوط روغن پالم، پسته و شکر در اسپرد نسبت دادند. همچنین مقدار روغن در خمیر پسته

برای حلواهای گردوبی ۰/۱ درصد است.

بارمیکروبی

شمارش کلی باکتری‌ها

اسیدهای چرب غیراشباع که دارای یک پیوند دوگانه در موقعیت آلفا هستند به عنوان عامل ضدقارچ در مواد غذایی و مواد بسته‌بندی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در این رابطه اسیدسوربیک ($\text{CH}_3\text{-CH=CH-COOH}$) نقش بر جسته‌ای دارد. به طور کلی اثر ضدمیکروبی اسیدسوربیک بیشتر روی کپک‌ها و مخمرها بوده و در مورد باکتری‌ها کمتر است. اثر ضدقارچی این اسید ناشی از عدم متabolیزه شدن سیستم پیستامین پیوند دوگانه مزدوج (در موقعیت آلفا) موجود در زنجیره آن توسط قارچ‌هاست.

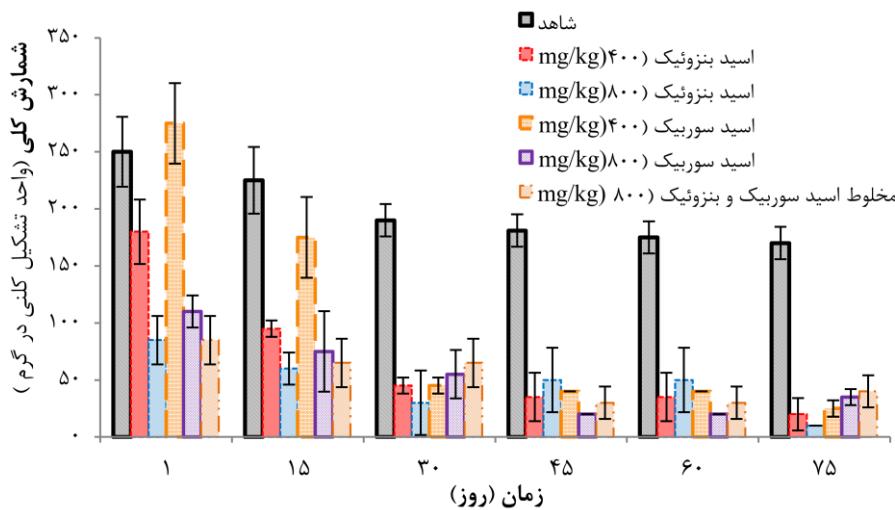
اسیدبنزوئیک به عنوان یک ماده ضدمیکروبی در حد وسیعی جهت حفاظت مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. اثر ضدمیکروبی آن روی دیواره سلولی، آنزیم‌های سیکل کربس و همچنین روی آنزیم‌هایی که در فسفوریلاسیون اسیداتیو^۱ دخالت دارند ظاهر می‌شود و با آزاد کردن پروتون منجر به اختلال در کار تبادل مواد از دیواره سلولی می‌گردد. اثر نابودکنندگی اسیدبنزوئیک بیشتر روی مخمرها و باکتری‌های است و در مورد کپک‌ها بسیار کمتر است (Fatemi, 2016).

نتایج شمارش کلی باکتری‌ها در نمونه‌های کره گردوبی حاوی نگهدارنده‌های مختلف در مقایسه با شاهد (بدون نگهدارنده) در شکل (۲) و (۳) آورده شده است.

براساس استاندارد ملی ایران به شماره ۵۶۹۰ و ۵۶۹۱ (Institute of Standards and Industrial Research of Iran [ISIRI], 2001, 2016b) بیشینه مجاز PV برای کره بادام زمینی، کره پسته به ترتیب ۱۲ و ۵ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم است. همچنین براساس استاندارد Codex Alimentarius Commission مجاز PV در کره‌های گیاهی ۱۰ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم است که نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر گویای کمتر بودن PV تمام نمونه‌های مورد مطالعه زیر حدمجاز تعیین شده براساس هریک از استانداردهای یاد شده در طول ۷۵ روز نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. اما براساس نتایج به دست آمده، با توجه به پیشرفت اکسایش، در صورتی که هدف نگهداری طولانی مدت کره گردوبی در شرایط دمایی 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد باشد، نیاز به استفاده از آنتی‌اکسیدان در فرمولاسیون آن می‌باشد.

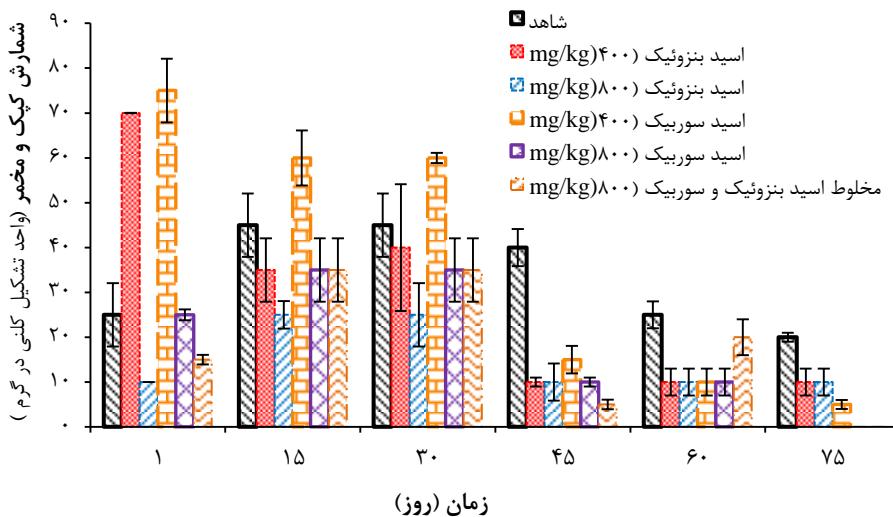
عدد اسیدی

نتایج تجزیه و تحلیل آماری حاکی از عدم وجود تغییرات معنی‌دار عدد اسیدی نمونه‌های کره گردوبی حاوی غلظت‌های مختلف BHT در مقایسه با شاهد در طول مدت نگهداری بود ($P > 0.05$). عدد اسیدی کره گردوبی پس از تولید $0/3$ درصد بود که تا روز ۷۵ آم نگهداری در نمونه‌های مختلف به $4/0$ تا $5/0$ درصد رسید. براساس استاندارد ملی ایران به شماره ۵۶۹۰ و ۵۶۹۱ (ISIRI, 2001, 2016b) بیشینه مجاز اسیدیتیه برای کره بادام زمینی و کره پسته ۲/۵ درصد و



شکل ۲- نتایج شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌های کره گردوبی حاوی نگهدارنده‌های مختلف در مقایسه با شاهد (بدون نگهدارنده) طی ۷۵ روز نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد

^۱ Oxidative phosphorylation



شکل ۳- نتایج شمارش کپک و مخمرها در نمونه‌های حاوی نگهدارنده‌های مختلف در مقایسه با شاهد (بدون نگهدارنده) طی روز نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد

به‌طور کلی به نظر می‌رسد بنزووات در جلوگیری از رشد باکتری‌ها در کره گردو بهتر از سوربات عمل می‌کند. با توجه به ماهیت روغنی و فعالیت آبی پایین نمونه‌های کره گردو، نتایج به دست آمده دور از انتظار نبود. شایان ذکر است حداقل فعالیت آبی موردنیاز برای رشد باکتری‌ها ۰/۶ می‌باشد.

نتایج Chien (۲۰۱۵) نشان داد که استفاده از غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد عصاره انگور در کره دانه‌های گیاهی منجر به کاهش رشد سالمونلا انتریکا^۱ و لیستریا/اینوكوا^۲ طی ۹ روز نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد شد. نتایج این محققین نیز نشان داد که بیشترین شبیه کاهش پس از گذشت یک روز از تولید مشاهده شد و پس از آن روند تقریباً ثابت بود. این نتیجه در مورد نمونه شاهد نیز صادق بود. غلظت ۱۵ درصد عصاره انگور بیشترین اثر را در جلوگیری از رشد هر دو باکتری موردمطالعه این محققین داشت. آنها همچنین گزارش کردند که رشد لیستریا/اینوكوا در نمونه شاهد نسبت به نمونه‌های حاوی غلظت‌های مختلف سینامالدئید^۳ (۰/۱، ۱/۵ و ۱/۵ درصد) کمتر بود.

براساس استاندارد ملی ایران به شماره ۵۶۹۰ (ISIRI, 2016b) بیشینه مجاز شمارش کلی میکرووارگانیسم‌ها در کره بادام‌زمینی ۱۰۰۰ واحد تشکیل کلنی در گرم است.

به‌طور کلی نتایج مقایسه میانگین نشان داد که اختلاف بین شمارش کلی باکتری‌ها در نمونه‌های کره گردوی حاوی انواع نگهدارنده تنها تا روز ۱۵ ام معنی‌دار بود ($P < 0.05$). پس از گذشت این مدت تعداد باکتری‌ها در نمونه‌های کره گردو تا پایان مدت نگهداری اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند ($P > 0.05$).

اختلاف معنی‌دار مشاهده شده در تعداد باکتری‌ها در نمونه‌های کره گردو در روز اول تولید، می‌تواند به آلودگی اولیه مواد مورد استفاده یا شرایط تولید مربوط باشد. نمونه‌های کره گردوی حاوی اسیدهای سوربیک و بنزوئیک در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و مخلوط آنها در همان روز اول نگهداری، کمترین میزان شمارش کلی باکتری‌ها را به نمایش گذاشتند و این روند با تغییرات جزئی به‌طور تقریبی تا انتهای زمان نگهداری ادامه داشت.

نتایج نشان داد که شمارش کلی باکتری‌ها در نمونه کره گردوی نمونه شاهد (بدون نگهدارنده) در روز اول بالا بود که طی نگهداری میزان آن کاهش یافت. روند کاهشی از روز ۳۰ تا پایان مدت نگهداری با شبیه کندر و غیرمعنی‌دار ادامه داشت. احتمالاً ترکیبات فلزی موجود در پوسته رویی مغز گردو اثر ضدمیکروبی داشته و مخلوط شدن آن با مغز گردو سبب کاهش بار میکروبی در طی مدت زمان نگهداری شده است. البته این کاهش چندان زیاد نیست و به همین دلیل نیاز به استفاده از نگهدارنده وجود دارد.

¹ *S. enterica*

² *L. innocua*

³ Cinnamaldehyde

سانتی گراد، Abu-Jdayil و همکاران (۲۰۰۲) بیان کردند که بیشترین میزان میکروارگانیسم‌ها در کره آرد سویا مشاهده شد که علت آن را به محتوای بالاتر آب در آن نسبت دادند که با فعالیت آبی همبستگی داشته و به رشد میکروارگانیسم‌ها کمک کرده و زمان ماندگاری را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در کره سویایی پخته شده به دلیل تیمار حرارتی و غیرفعال شدن میکروارگانیسم‌ها و آنزیم‌ها، زمان ماندگاری بهبود یافت.

براساس استاندارد ملی ایران به شماره ۵۶۹۰ (ISIRI, 2016b) بیشینه مجاز کپک و مخمر در کره بادامزمینی به ترتیب ۱۰۰ و ۱۰۰۰ واحد تشکیل کلنی در گرم است. از این‌رو، شایان ذکر است که در همه نمونه‌ها از روز اول تا پایان دوره نگهداری، میزان کپک و مخمر و باکتری‌ها کمتر از محدوده مجاز در استاندارد ملی ایران بود.

نتیجه‌گیری

نتایج پایش اکسایشی کره گردو طی ۷۵ روز نگهداری نشانگر افزایش عدد پراکسید از روز اول تا روز ۷۵ م با شیب تند در نمونه شاهد بود. حضور آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در غاظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سرعت افزایش عدد پراکسید را به میزان قابل توجهی کاهش داد درحالی که روی عدد اسیدی نمونه‌های کره گردو تأثیر معنی‌داری نداشت. اسیدبنزوئیک در مقایسه با اسیدسوربیک کارایی بیشتری را در کاهش شمارش کلی باکتری‌ها و شمارش کپک و مخمر طی دوره نگهداری به نمایش گذاشت.

تقدیر و تشکر

مؤلفین از صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور بابت حمایت مالی برای انجام این طرح کمال تشکر را دارند.

براساس این استاندارد شمارش کلی تمام نمونه‌های کره گردو در طول ۷۵ روز نگهداری زیر حد مجاز بود.

شمارش کپک و مخمر

نتایج شمارش کپک و مخمر نمونه‌های کره گردو، طی دوره نگهداری در شکل (۳) نشان داده شده است. نتایج مقایسه میانگین حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار در تعداد کپک و مخمر نمونه‌های کره گردوی تولیدی در روز اول بود ($P < 0.05$) که به نظر می‌رسد این اختلاف ناشی از بار میکروبی اولیه مواد مصرفی و شرایط ضمن تولید باشد. در همه نمونه‌ها به استثنای نمونه‌های حاوی ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسیدسوربیک و اسیدبنزوئیک از روز اول تا روز ۱۵، تعداد کپک و مخمر افزایش یافت اما پس از آن روند ثابت یا نزولی را طی نمود.

نتایج حاکی از این مطلب است که عامل نگهدارنده بنزوات در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در جلوگیری از رشد کپک‌ها و مخمرها در کره گردو نسبت به سوربات کارآمدتر عمل کرد.

به طور کلی در اکثر نمونه‌ها بعد از روز ۳۰ تا ۷۵ م نگهداری، تعداد کپک و مخمرها در کره گردو بسیار کاهش نشان داد. این روند کاهشی در نمونه شاهد از روز ۴۵ آغاز شد.

براساس نتایج فوق، بار میکروبی کره گردو طی دوره نگهداری ارتباط مستقیم با بار میکروبی اولیه آن دارد اما طی نگهداری به دلیل فعالیت آبی پایین و دمای مناسب، امکان رشد کپک و مخمرها کاهش می‌یابد شتاب این کاهش در نمونه‌های حاوی نگهدارنده بیش از نمونه شاهد بود.

در بررسی بار میکروبی نمونه‌های کره سویا (کره آرد سویا، کره سویای پخته شده، کره سویای جوانه‌زده و کره سویای سرخ شده) طی ۵ ماه نگهداری در دمای ۲۵ درجه

منابع

- Abramovič, H., & Abram, V. (2006). Effect of added rosemary extract on oxidative stability of *Camelina sativa* oil. *Acta Agriculturae Slovenica*, 87(2), 255-261.
- Abu-Jdayil, B., Al-Malah, K., & Asoud, H. (2002). Rheological characterization of milled sesame (tehineh). *Food Hydrocolloids*, 16(1), 55-61. doi:[https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(01\)00040-6](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00040-6)
- Allen, J., & Hamilton, R. (1994). *Rancidity in foods*. Blackie Academic & Professional Publ. Co. Inc., New York.

- AOCS. (1993). *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society*. 4th ed. Method Aa 6-38. The Society: Champaign, IL.
- Bremner, H., Ford, A., Macfarlane, J., Ratcliff, D., & Russell, N. (1976). Meat with high linoleic acid content: Oxidative changes during frozen storage. *Journal of Food Science*, 41(4), 757-761. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1976.tb00718_41_4.x
- Chien, Y.-h. (2015). *Shelf life extension of seed butter made with sesame, sunflower and pumpkin seeds*. (Electronic Thesis), The Ohio State University, Retrieved from <https://etd.ohiolink.edu/>
- Codex Alimentarius Commission. (1993). Proposed draft standard for named vegetable oils. *CX 1993/16, issued by the Joint FAO/WHO Food Standards Program, via delle Terme di Caracalla 00100*. In.
- Evranuz, E. Ö. (1993). The effects of temperature and moisture content on lipid peroxidation during storage of unblanched salted roasted peanuts: shelf life studies for unblanched salted roasted peanuts. *International Journal of Food Science & Technology*, 28(2), 193-199. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb01264.x>
- Fatemi, H. (2016). *Food Chemistry*: Enteshar Publication Company. (in Persian)
- Gardner, H. (1979). Lipid hydroperoxide reactivity with proteins and amino acids: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 27(2), 220-229. doi:<https://doi.org/10.1021/jf60222a034>
- Golzari, M., Rahemi , M., Hassani, D., Vahdati, K., & Mohammadi, N. (2013). Protein Content, Fat And Fatty Acids Of Kernel In Some Persian Walnut (*Juglans Regia L.*) Cultivars Affected By Kind Of Pollen. *Iranian Journal of Food Science And Technology*, 10(38), 21-31 (in Persian).
- Haghani Haghghi, H., Azar, M., Mazloomi, M., & Komeili, F. (2008). Survey of Formulation, Production and Sensory Evaluation of Pistachio Butter. *Food Science and Technology*, 5(18), 19-26. (in Persian).
- Hasenhuettl, G. L., & Wan, P. J. (1992). Temperature effects on the determination of oxidative stability with the Metrohm Rancimat. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 69(6), 525-527. doi:<https://doi.org/10.1007/BF02636102>
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2001). Pistachio butter - Specification and test methods. (ISIRI Standard No. 5691). Retrieved from <http://standard.isiri.gov.ir/StandardFiles/5691.htm> (in Persian)
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2006). Cake –Specification and test methods. (ISIRI Standard No. 2553). 3th.revision. Retrieved from <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=11869> (in Persian)
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2008). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds -Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0.95. (ISIRI Standard No. 10899.1). Retrieved from <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=12277> (in Persian)
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2016a). Microbiology of food and animal feed stuffs- General requirements and guidance for microbiological examinations. (ISIRI Standard No. 9899). 1st. Edition. Retrieved from <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=43546> (in Persian)
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2016b). Peanut butter-Specifications and test methods. (ISIRI Standard No. 5690). Retrieved from <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=46509> (in Persian)
- Jenab, M., Ferrari, P., Slimani, N., Norat, T., Casagrande, C., Overad, K., . . . Boutron-Ruault, M.-C. (2004). Association of nut and seed intake with colorectal cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 13(10), 1595-1603.
- Judde, A., Villeneuve, P., Rossignol-Castera, A., & Le Guillou, A. (2003). Antioxidant effect of soy lecithins on vegetable oil stability and their synergism with tocopherols. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80(12), 1209-1215. doi:<https://doi.org/10.1007/s11746-003-0844-4>

- Kaitaranta, J. K. (1992). Control of lipid oxidation in fish oil with various antioxidative compounds. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 69(8), 810-813. doi:<https://doi.org/10.1007/BF02635921>
- Kris-Etherton, P. M., Yu-Poth, S., Sabaté, J., Ratcliffe, H. E., Zhao, G., & Etherton, T. D. (1999). Nuts and their bioactive constituents: effects on serum lipids and other factors that affect disease risk. *The American journal of clinical nutrition*, 70(3), 504s-511s. doi:<https://doi.org/10.1093/ajcn/70.3.504s>
- Labuza, T. P., & Dugan Jr, L. (1971). Kinetics of lipid oxidation in foods. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 2(3), 355-405. doi:<https://doi.org/10.1080/10408397109527127>
- Law, K. S. (1984). A review on the use of citric acid in the processing of oils and fats. *Oleagineux*, 39(2), 89-98.
- Lazarevic, K., Stojanovic, D., & Rancic, N. (2011). Estimated daily intake of benzoic acid through food additives in adult population of south east Serbia. *Central European Journal of Public Health*, 19(4), 228. doi:<https://doi.org/10.21101/cejph.a3655>
- Lölicher, J. (1990). Headspace gas analysis of volatile hydrocarbons as a tool for the determination of the state of oxidation of foods stored in sealed containers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 52(1), 119-128. doi:<https://doi.org/10.1002/jsfa.2740520113>
- Maskan, M., & Karataş, Ş. (1998). Fatty acid oxidation of pistachio nuts stored under various atmospheric conditions and different temperatures. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77(3), 334-340. doi:[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199807\)77:3<334::AID-JSFA42>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199807)77:3<334::AID-JSFA42>3.0.CO;2-A)
- Mureşan, V., Danthine, S., Bolboacă, S. D., Racolta, E., Muste, S., Socaciuc, C., & Blecker, C. (2015). Roasted sunflower kernel paste (tahini) stability: Storage conditions and particle size influence. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92(5), 669-683. doi:<https://doi.org/10.1007/s11746-015-2622-7>
- Nahm, H. S., Juliani, H. R., & Simon, J. E. (2012). Effects of selected synthetic and natural antioxidants on the oxidative stability of shea butter (*Vitellaria paradoxa* subsp. *paradoxa*). *Journal of Medicinally Active Plants*, 1(2), 69-75. doi:<https://doi.org/10.7275/R5BR8Q4R>
- Pershern, A. S., Breene, W. M., & Lulai, E. C. (1995). Analysis of factors influencing lipid oxidation in hazelnuts (*corylus* spp. 1). *Journal of Food Processing and Preservation*, 19(1), 9-26. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.1995.tb00274.x>
- Rajaram, S., Haddad, E. H., Mejia, A., & Sabaté, J. (2009). Walnuts and fatty fish influence different serum lipid fractions in normal to mildly hyperlipidemic individuals: a randomized controlled study. *The American journal of clinical nutrition*, 89(5), 1657S-1663S. doi:<https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.26736S>
- Reynhout, G. (1991). The effect of temperature on the induction time of a stabilized oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 68(12), 983-984. doi:<https://doi.org/10.1007/BF02657549>
- Savage, G., Dutta, P., & McNeil, D. (1999). Fatty acid and tocopherol contents and oxidative stability of walnut oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76(9), 1059-1063. doi:<https://doi.org/10.1007/s11746-999-0204-2>
- Shad, M. A., Zafar, Z. I., Nawaz, H., & Anwar, F. (2012). Effect of sorbic acid and some other food preservatives on human serum cholinesterase activity. *African Journal of Biotechnology*, 11(51), 11280-11286. doi:<http://dx.doi.org/10.5897/AJB11.4037>
- Shakerardekani, A., Karim, R., Ghazali, H. M., & Chin, N. L. (2015). Oxidative Stability of Pistachio (*Pistacia vera* L.) Paste and Spreads. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92(7), 1015-1021. doi:<https://doi.org/10.1007/s11746-015-2668-6>
- Shantha, N. C., & Decker, E. A. (1994). Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxylide values of food lipids. *Journal of AOAC International*, 77(2), 421-424.
- Sharafati Chaleshtori, R., Sharafati Chaleshtori, F., & Rafieian, M. (2011). Biological characterization of Iranian walnut (*Juglans regia*) leaves. *Turkish Journal of Biology*, 35(5), 635-639. doi:<https://doi.org/10.3906/biy-1005-1>

St. Angelo, A. J., & Ory, R. L. (1975). Effects of lipoperoxides on proteins in raw and processed peanuts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 23(2), 141-146. doi:<https://doi.org/10.1021/jf60198a028>

Williams, G. M., McQueen, C. A., & Tong, C. (1990). Toxicity studies of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. I. Genetic and cellular effects. *Food and Chemical Toxicology*, 28(12), 793-798. doi:[https://doi.org/10.1016/0278-6915\(90\)90051-N](https://doi.org/10.1016/0278-6915(90)90051-N)

Investigating the Effect of Preservatives and Antioxidant on the Oxidative and Microbial Properties of Walnut Butter during the Shelf-life

Mostafa Shahidi Noghabi^{1*}, Razieh Niazmand¹, Mozhdeh Sarraf²,
Mahnaz Shahidi Noghabi³

- 1- Associate Professor, Department of Food Chemistry, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran
* Corresponding author (m.shahidi@rifst.ac.ir)
2- Ph.D. Student, Department of Food Chemistry, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran
3- M.Sc. Student, Department of Food Science and Technology, Quechan Branch, Islamic Azad University, Quechan, Iran

Abstract

Walnuts contain many nutritional compounds, including omega-3, various vitamins, especially vitamin E and types of minerals. Therefore, the development of foods based on walnut and studies on chemical and microbial stability during storage, is very important. In this research, the effects of various concentrations of BHT (three levels 100, 150 and 200 mg/L) on changes in peroxide value and acid value of walnut butter, as well as the effect of two types of preservatives of benzoic acid and sorbic acid, each in two levels (400 and 800 mg/kg) were separately and mixed, on the total count of microorganisms and the count of mold and yeast of walnut samples during 75 days of storage at ambient temperature is investigated. The results of this study showed that by adding BHT at 200 mg/L, the peroxide value decreased significantly compared to the control sample. After production, acidic value was 0.3% and it rose to 0.4-0.5% after 75 days of storage. Also, benzoic acid was more effective in reducing total bacterial count and counting mold as well as yeast during storage in comparison with sulfuric acid.

Keywords: Antioxidants, Preservatives, Shelf life, Walnut Butter

اثر نسبت امولسیون حاوی قندهای الکلی و اندازه ذرات بر مقاومت حرارتی و برخی ویژگی‌های فیزیکی و حسی شکلات

عبدالعلی اسماعلی^۱، نارمل آصفی^{۲*}، سمیرا یگانه‌زاد^۳

۱- کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

* نویسنده مسئول (n.asefi@iaut.ac.ir)

۳- استادیار، گروه فرآوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۶/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۹/۰۵

واژه‌های کلیدی

اندازه ذرات

ایزومالت

شکلات

مالتیتول

نقطه ذوب

در این مطالعه، اثر نسبت امولسیون حاوی قندهای الکلی و اندازه ذرات در افزایش نقطه ذوب شکلات در شرایط نیمه‌صنعتی بررسی گردید. به شکلات مرکب تهیه شده با اندازه ذرات ۲۰ و ۳۰ میکرون، فرمولاسیونی حاوی امولسیفایر PGPR، کره کاکائو، آب، ایزومالت و مالتیتول اضافه شده و ازنظر بافت، تغییرات نقطه ذوب و خواص حسی (رنگ، بو، طعم، احساس دهانی و پذیرش کلی)، اندازه رطوبت و میزان آب فعل مورد بررسی قرار گرفت و با شکلات شاهد مقایسه شد. نتایج نشان داد که استفاده از مالتیتول و ایزومالت به طور معنی‌داری سبب افزایش میزان رطوبت و فعالیت آبی نمونه‌ها شد ($P<0.05$). ازنظر سختی بافت، تفاوت معنی‌دار در بین تیمارها مشاهده گردید که بیان‌کننده کاهش میزان سختی با افزایش امولسیون قندهای الکلی بود. بررسی ویژگی‌های حسی نشان داد که مالتیتول ازنظر عطر و طعم مشابه نمونه کنترل می‌باشد و امتیاز بالاتری ازنظر رفتار ذوب دهانی در مقایسه با ایزومالت در تمامی غلظت‌های مشابه کسب نمود. ازنظر رنگ تمامی نمونه‌های تیمار شده روشن‌تر از نمونه‌های کنترل بوده و ازنظر پذیرش کلی تفاوت معنی‌داری در میان کل نمونه‌ها وجود نداشت ($P>0.05$). به طور کلی با توجه به اثر غیرمعنی‌دار این امولسیون فرموله شده در پذیرش کلی خواص حسی و اثر معنی‌دار آن در افزایش نقطه ذوب، می‌توان از این مواد در تولید شکلات مقاوم به حرارت، در نواحی گرمسیری استفاده نمود.

چکیده

شکلات پس از مخلوط شدن و با کاهش اندازه ذرات^۱ به محصولی با اندازه ذرات ۲۰ میکرون یا کمتر که شکلات نرم و صاف خوانده می‌شود یا محصولی با اندازه ۲۵ میکرون، شکلات با زبری متوسط و بالاتر از ۳۰ میکرون، شکلات زبر تبدیل می‌گردد (Beckett, 1999, 2000). جهت دستیابی به رئولوژی مناسب مرحله ورزیدن^۲ و بهمنظور تشکیل

مقدمه

شکلات سیستم کلوئیدی است که در آن فاز مایع را کره کاکائو و فاز پراکنده را ذرات پودر کاکائو و شکر تشکیل می‌دهند (Maghsoudi, 2009). کره کاکائوی موجود در شکلات هنگامی که در فرم پایدار حضور دارد در دمای دهان ذوب می‌شود (DeMan, 1999).

¹ Refining

² Conching

- Frippiat, De Soete, (۲۰۰۰). را به مدت ۶ ساعت تحمل می‌کنند (Smits, & Keme, ۲۰۰۰).
- Zenlea و Russell (۱۹۴۸) با افروzen آب گرم (۶۵/۶) درجه سانتی گراد) به مقدار ۱۷-۲۳ درصد به خمیر شکلاتی با اندازه ذرات کاهش یافته با دمای (۴۳/۳-۵۴/۴ درجه سانتی گراد) با محتوای چربی ۲۳-۲۸ گرم و درنهایت خشک کردن خمیر شکلاتی شکلات مقاوم به گرما تولید نمودند.
- Simbürger (۲۰۰۹)، ۱/۸ تا ۷ درصد آب را به شکلات معمولی به شکل مستقیم، امولسیون آب/روغن و امولسیون روغن آب اضافه کرد و ۳۰ تا ۷۵ درد ترکیب هیدروفیلی (نطیر سارکاریدها) به امولسیون آب/روغن اضافه کرد. شکلات‌ها بعد از قالب‌گیری توسط مایکروبوی خشک شدند و شکلات مقاوم به گرما تولید شد.
- Dove و Giddey (۱۹۸۴) شکلات مقاوم در برابر حرارت را با اضافه کردن ۲-۱۰ درصد امولسیون آب در روغن به مخلوط تولید نمودند. Tsurumi, Takemori, Ito و Takagi (۱۹۹۳) با تشکیل امولسیون روغن در آب (۲۰-۷۰ درصد آب، ۳۰-۸۰ درصد چربی و ۱-۲۰ درصد امولسیفایر) شکلات مقاوم به حرارت تولید نمود. Walter و Cornillon (۲۰۰۱) نشان دادند که امولسیفایر باعث تسهیل حرکت در فاز پیوسته چربی می‌شود و باعث توزیع ذرات شده و از تشکیل آگلومرها جلوگیری می‌کند و این می‌تواند روی نقطه ذوب شکلات مؤثر باشد. توزیع اندازه ذرات نیز یک شاخص کلیدی در ویژگی‌های رئولوژیکی شکلات است که به طور مستقیم بر پذیرش حسی شکلات و نقطه ذوب مؤثر است. ذرات درشت به دلیل شنی بودن در احساس دهانی بسیار مؤثرند اما ذرات ریز به دلیل تأثیر بر ویژگی‌های جریانی شکلات مهم‌تر هستند (Bitaraf, Abbasi, & Hamidi, ۲۰۱۳).
- Vieira و Paterson (۲۰۰۸) نشان دادند که توزیع اندازه ذرات مستقل از اثر تغییر چربی و لستین بر برخی پارامترهای ذوبی شکلات، مؤثر باشد. باوجود تحقیق‌های متعدد درخصوص استفاده از قندهای الکلی و نیز نقش اندازه ذرات بر مقاومت حرارتی شکلات و تحقیق‌های محدود درخصوص استفاده از آب در فرمولاسیون شکلات، تاکنون گزارشی درخصوص تأثیر هم‌زمان استفاده از امولسیون حاوی این ترکیبات و تغییر اندازه ذرات بر خواص شکلات منتشر نشده است لذا هدف اصلی از این تحقیق، بررسی تأثیر امولسیون حاوی دو قدر

کریستال‌های مقاوم کرۂ کاکائو، مشروط کردن^۱ شکلات انجام شده و محصول به شکل قالبی یا پوششی درمی‌آید. تحقیق‌های زیاد و سرمایه‌گذاری‌های گسترده‌ای درمورد افزایش نقطه ذوب شکلات انجام شده است. تحقیق‌های پیشین نشان می‌دهد با اصلاح ریزساختار شبکه چربی، استفاده از پلیمرهای متصل‌شونده به روغن/چربی و افزایش نقطه ذوب فاز چربی می‌توان شکلات مقاوم به حرارت تولید نمود (Wan Aidah, Abdul Azis, Roselina, & Sabariah, ۲۰۱۴). محققان معتقدند زمانی که پلی‌ال‌های^۲ مایع به شکلات اضافه می‌شوند با چربی موجود در شکلات واکنش می‌دهد که باعث افزایش ویسکوزیتۀ محصول می‌گردد. امروزه پلی‌ال‌ها به طور وسیع در شکلات استفاده می‌شوند که از آن جمله می‌توان به استفاده از ایزومالت^۳، زایلیتول^۴ و مالتیتول^۵ (Sokmen & Gunes, ۲۰۰۶)، مالتیتول با یا بدون پلی‌دکستروز و اینولین (Rapaille & Gonze, ۱۹۹۵) اشاره کرد. امروزه استفاده از سایر کربوهیدرات‌های با قابلیت هضم کم، که علاوه‌بر تأمین شیرینی و کاهش کالری شکلات، اثرات مفید تغذیه‌ای دیگری نیز داشته و باعث بهبود رئولوژی، بافت، افزایش نقطه ذوب و پذیرش کلی می‌شوند، Shourideh, Taslimi, Azizi, (Mohammadifar, & Mashayekh, ۲۰۱۰).

تحقیق‌های متعددی درخصوص روش‌های مختلف افزایش مقاومت حرارتی در شکلات صورت گرفته است. Asefi, Aliakbari و Yeganezad (۲۰۱۸) اثر نشاسته ذرت و ژلاتین را در فرمولاسیون شکلات شیری مورد استفاده قرار دادند. نتایج نشان داد که بیشترین دمای شروع ذوب شکلات حاوی ژلاتین و نشاسته ذرت ۱۰ درصد به ترتیب ۳۸/۵ و ۳۵/۹ درجه سانتی گراد بود و این غلظت دمای ذوب شدن را به طور قابل توجهی در مقایسه با شکلات کنترل افزایش داده است. در حالی که تفاوت معنی‌داری در ویژگی‌های حسی نمونه‌های تیمارشده مشاهده نگردید. در پژوهشی ژل اینولین به مقدار ۵ درصد به شکلات شیری معمولی مشروط شده اضافه شد. در این روش، افزایش مقاومت حرارتی مشاهده نگردید. درصورتی که در پژوهش دیگری شکلات‌های حاوی ۴-۱۸ درصد ژل اینولین با میانگین رطوبت ۲/۵-۸ درصد و دمای ۴۰ درجه سانتی گراد

¹ Tempering² Polyols³ Isomalt⁴ Xylitol⁵ Maltitol

انجام آزمایش‌ها در یخچال نگهداری شدند. نمونه‌های شاهد همان مخلوط‌های A و B بدون افزودن امولسیون بودند Kiumarsi, Yeganehzad, Shahidi, Pahlevanloo, & (Khoshkish, 2017).

بررسی تغییر میزان رطوبت

رطوبت نمونه‌ها با استفاده از روش استاندارد ملی ایران به شماره ۲۷۰۵ (Institute of Standards and Industrial Research of Iran [ISIRI], 2011) اندازه‌گیری شد.

فعالیت آبی

برای سنجش فعالیت آبی نمونه از دستگاه سنجش فعالیت آبی (Novasina) ساخت سوئیس استفاده گردید. نمونه‌ها خرد شدند و به صورت یکنواخت درآمدند سپس نمونه یکنواخت شده را داخل ظروف نمونه پلاستیکی ریخته به طوری که تا دو سوم ارتفاع ظرف از نمونه‌ها پر شد. سپس ظروف درون دستگاه قرارداده شده و درجه حرارت در ۲۵ درجه سلسیوس ثابت نگهداشته شد. نمونه را به حال خود گذاشته تا به فشار بخار ثابت رسید. سپس میزان فشار بخار ثابت شده به فشار بخار آب خالص در ۲۵ درجه سانتی‌گراد تقسیم گردید. حاصل تقسیم فعالیت آبی در ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود (Afoakwa, 2010).

آنالیز بافت

جهت آنالیز پروفیل بافت و اندازه‌گیری ویژگی‌های بافتی نمونه‌های تولیدی، از دستگاه آنالیز بافت TA.XT plus، Stable Micro System، ساخت انگلستان استفاده گردید. قطعه‌های شکلات با ابعاد $100 \times 20 \times 10$ میلی‌متر آماده شد و سپس در انکوباتر یخچال دار (مدل 1001 Rumed-type، ساخت آلمان) در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت نگهداری شدند. در این آزمون از پروب شماره ۱/۶، سرعت نفوذ $1/5$ میلی‌متر بر ثانیه و عمق نفوذ ۶ میلی‌متر استفاده گردید و حداقل نیروی اندازه‌گیری شده به عنوان شاخص سختی گزارش گردید.

بررسی پروفیل ذوب شکلات

برای بررسی پروفیل ذوب نمونه‌های شکلات از کالریمتر روبشی افتراقی (DSC-100، Spico Company، ساخت چین) که مجهز به پایگاه آنالیز حرارتی است، استفاده شد. از قسمت داخلی مرکز شکلات برای آنالیز استفاده شد و با

الکلی مالتیتول و ایزومالت و اندازه ذرات مخلوط شکلات بر مقاومت حرارتی شکلات و مطالعه ویژگی‌های فیزیکی و حسی آن با حفظ کیفیت اولیه و مطلوبیت محصول از نظر مصرف‌کننده، در جهت افزایش کاربرد چنین شکلاتی در مناطق گرمسیری کشور و یا فصول گرم سال بود.

مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده در این پژوهش پودر کاکائو (شرکت شکیناک، ساخت آلمان)، مالتیتول و ایزومالت (شرکت فودکم، ساخت چین)، لسیتین (شرکت کارگیل، ساخت هلند)، پلی‌گلیسرول پلی‌رسینولئات^۱ (PGPR) و کره کاکائو (شرکت کارگیل، ساخت هلند) و شکر (شرکت کارونف ساخت ایران) بود. ابتدا جهت تولید شکلات مرکب به مقدار یک کیلوگرم، مواد لازم در نسبت‌های زیر تهیه شد:

۰/۵ درصد پودر کاکائو، ۲۸ درصد کرمه کاکائو، ۰/۵ درصد لسیتین و ۰/۲ درصد پلی‌گلیسرول پلی‌رسینولئات، ۴۰ درصد شکر. در دستگاه بالمیل (شرکت آرمان خرد، ساخت ایران) حاوی ساقمهٔ ضدنگ و ضدسایش به قطر ۸ میلی‌متر جهت آسیاب و مخلوط‌شدن ریخته شد. در مرحله اول خروج محصول از دستگاه بالمیل بعد از گذشت ۷۰ دقیقه برای حصول ذراتی با اندازه (۳۰ میکرون) که مخلوط (A) نامیده شد و سپس بعد از سپری‌شدن ۱۰۰ دقیقه حصول ذرات با اندازه (۲۰ میکرون) که مخلوط (B) نامیده شد، انجام گرفت. در مرحله دوم به مخلوط (A) و (B) ایزومالت و مالتیتول به شکل ترکیب زیر اضافه گردید.

الف- امولسیفار PGPR ۵ درصد + ۵۰ کاکائو + ۲۰ درصد آب + ۲۵ درصد ایزومالت. ب- امولسیفار PGPR ۵ درصد + ۵۰ درصد کرمه کاکائو + ۲۰ درصد آب + ۲۵ درصد مالتیتول که موارد (الف، ب) با دستگاه توراکس T25 digital ULTRA-TURAX- IKA (مدل ۱۰۰۰، آلمان) هموزن گردید و امولسیون آب در روغن تهیه شد.

برای تهیه فرمولاسیون نهایی، از دو نوع فرمولاسیون تهیه شده «الف» و «ب» به نسبت‌های صفر، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درصد به مخلوط‌های (A) و (B) که تا دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خنکشده بود، اضافه گردید. بعد از مشروط کردن دستی، نمونه‌ها به قالب منتقل و در دمای سردخانه به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شدند. نمونه‌ها پس از خروج از قالب در ورقه‌های آلومینیومی بسته‌بندی شده و تا

^۱ Poly Glycerol Poly Ricinoleate

از فاکتورها، اثر متقابل آنها و آنالیز واریانس یک طرفه محاسبه و برای مقایسه میانگین تیمارها به منظور بررسی معنی دار بودن نتایج حاصله، از روش دانکن و سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده گردید. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel نسخه ۲۰ استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج میزان فعالیت آبی

همان طور که در شکل (۱-الف) و (۱-ب) مشاهده می گردد با افزایش میزان امولسیون تا غلظت ۳۰ درصد میزان فعالیت آبی محصول افزایش یافت. به گونه ای که تمامی نمونه ها دارای اختلاف معنی دار با نمونه شاهد بودند ($P<0.05$). ولی بین تیمار ۳۰ و ۴۰ درصد تفاوت معنی داری وجود ندارد. اثر مستقل غلظت های امولسیون در افزایش میزان فعالیت آبی، بسیار بیشتر از تغییرات اندازه ذرات در هر دو فرمولاسیون می باشد.

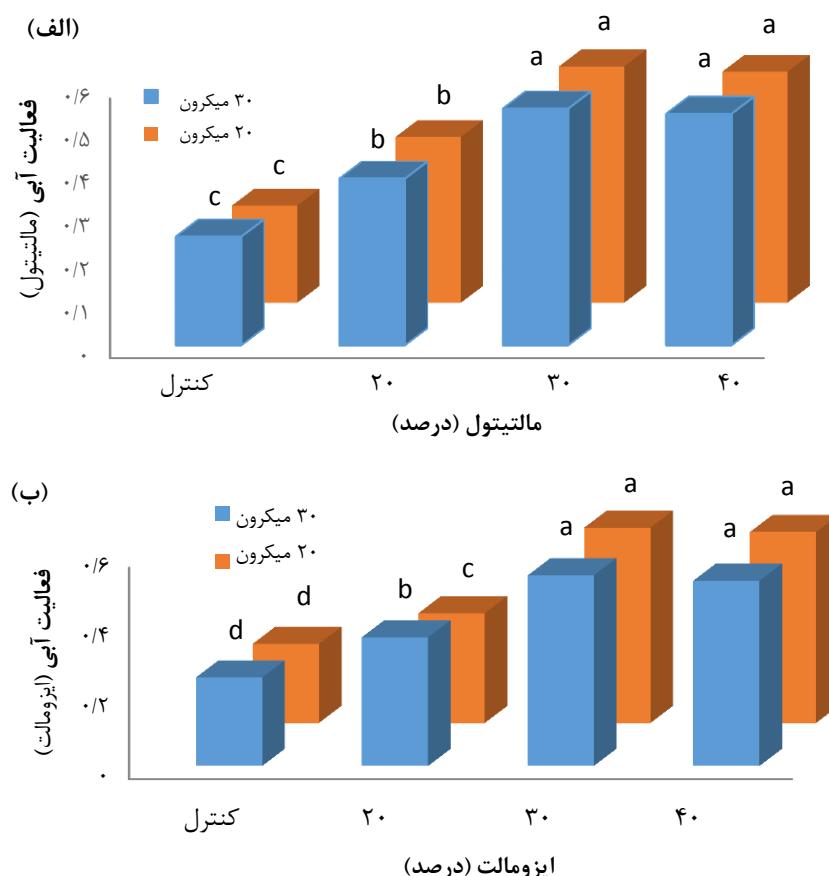
سرعت حرارتی ۵ درجه سانتی گراد بر دقيقه از دمای ۵ تا ۵۰ درجه سانتی گراد حرارت داده شد.

ارزیابی حسی

ارزیابی حسی نمونه ها بر اساس تجزیه و تحلیل یک سری از ویژگی های مواد غذایی صورت گرفت. ارزیابی حسی نمونه ها توسط ۱۰ نفر ارزیاب حسی که آموزش اولیه را دیده بودند و با استفاده از آزمون هدونیک ۵ نقطه صورت گرفت. شاخص های مورد ارزیابی شامل رنگ، عطر و طعم، بافت، رفتار ذوب دهانی، و پذیرش کلی بودند که امتیازدهی مابین ۱ الی ۵ بود، به طوری که امتیاز ۱ ضعیف ترین و ۵ بالاترین بود (Mahdavian Mehr & Mazaheri Tehrani, 2014).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل نتایج در قالب طرح تصادفی فاکتوریل با دو فاکتور اندازه ذرات و نسبت امولسیون به همراه نمونه شاهد انجام شد. تمامی آزمون ها در ۳ تکرار انجام شد. تأثیر هر یک



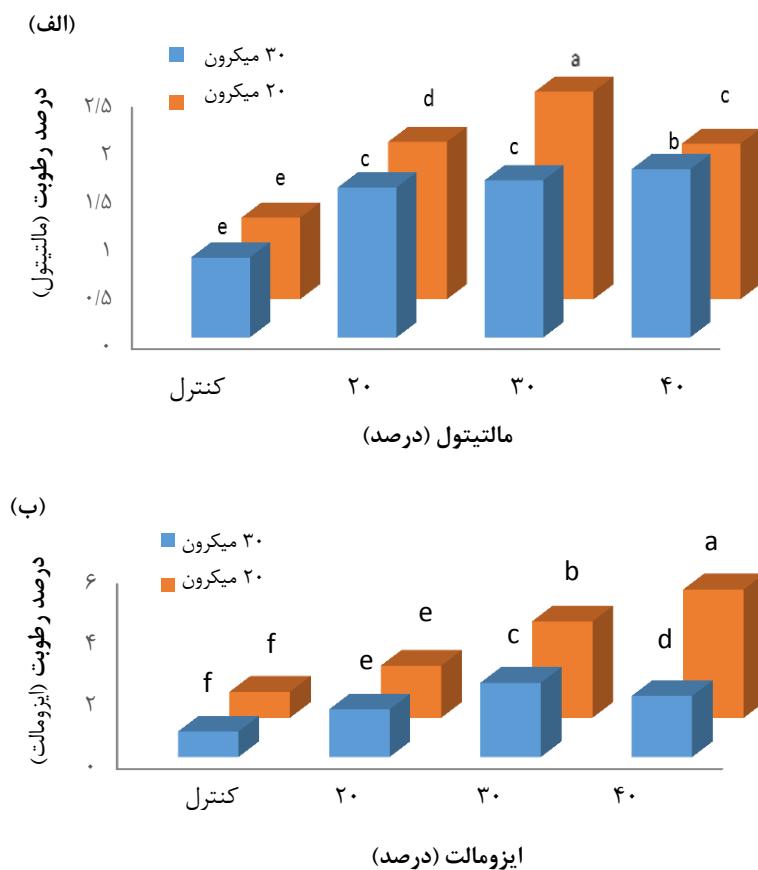
شکل ۱ - مقایسه میانگین فعالیت آبی در شکلات حاوی غلظت های مختلف مالتیتول و ایزو مالت
حرروف مشابه در هر ستون بیانگر اختلاف غیر معنی دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد می باشد.

بزرگ‌تر روند افزایش کنبدوده و تفاوت معنی‌دار در بین نمونه‌های تیمارشده وجود ندارد ولی اختلاف معنی‌دار با نمونه شاهد دیده می‌شود ($P < 0.05$). بیشترین رطوبت در اندازه ذرات کوچک‌تر مربوط به امولسیون مالتیتول ۳۰ درصد و در اندازه بزرگ‌تر مربوط به امولسیون مالتیتول ۴۰ درصد می‌باشد و در هر دو اندازه کمترین میزان رطوبت مربوط به نمونه‌های شاهد است. در بررسی اثر امولسیون ایزومالت در خصوص افزایش رطوبت در شکل (۲-ب)، مشاهده می‌گردد که با افزایش درصد ایزومالت در هر دو اندازه ذرات رطوبت نمونه‌ها افزایش می‌یابد. بیشترین مقدار رطوبت در اندازه ذرات کوچک مربوط به امولسیون ایزومالت ۴۰ درصد و در ذرات بزرگ‌تر مربوط به ایزومالت با مقدار ۳۰ درصد می‌باشد.

باتوجه به اینکه در مواد غذایی افزایش پلی‌ال‌ها در جهت کاهش فعالیت آبی می‌باشد. در این پژوهش در فرمولاسیون الف و ب مقدار ۲۰ درصد آب موجود است علت افزایش میزان فعالیت آبی در نمونه‌ها تا ۳۰ درصد به علت وجود آب موجود در فرمولاسیون می‌باشد. به‌نظرمی‌رسد که بعد از اتمام پیوندهای هیدروژنی بین عامل‌های هیدروکسیل قندهای الکلی با آب اثر افزایش غلظت آشکارشده و میزان فعالیت آبی در غلظت ۴۰ درصد در هر دو تیمار مالتیتول و ایزومالت کاهش یافته است.

نتایج میزان رطوبت

نتایج بررسی رطوبت در شکل (۲-الف) نشان می‌دهد که با افزایش میزان مالتیتول در تیمارهایی با اندازه ذرات



شکل ۲- مقایسه میانگین درصد رطوبت در شکلات‌های حاوی غلظت‌های مختلف مالتیتول و ایزو مالت حروف مشابه در هر ستون بیانگر اختلاف غیرمعنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد می‌باشد.

مالتیتول و ایزومالت مصرفی نسبت به ساکاراز رطوبت بیشتری دارند و بهدلیل حفظ رطوبت در مدت ورزیدن^۱

بیشترین میزان رطوبت در نمونه‌های دارای نسبت بالاتر قندها دیده شد. علت این موضوع را می‌توان به وجود گروههای آب‌دوسست، حلالیت بالای قندهای الکلی در آب و خاصیت حفظ‌کنندگی رطوبت نسبت داد. همچنین،

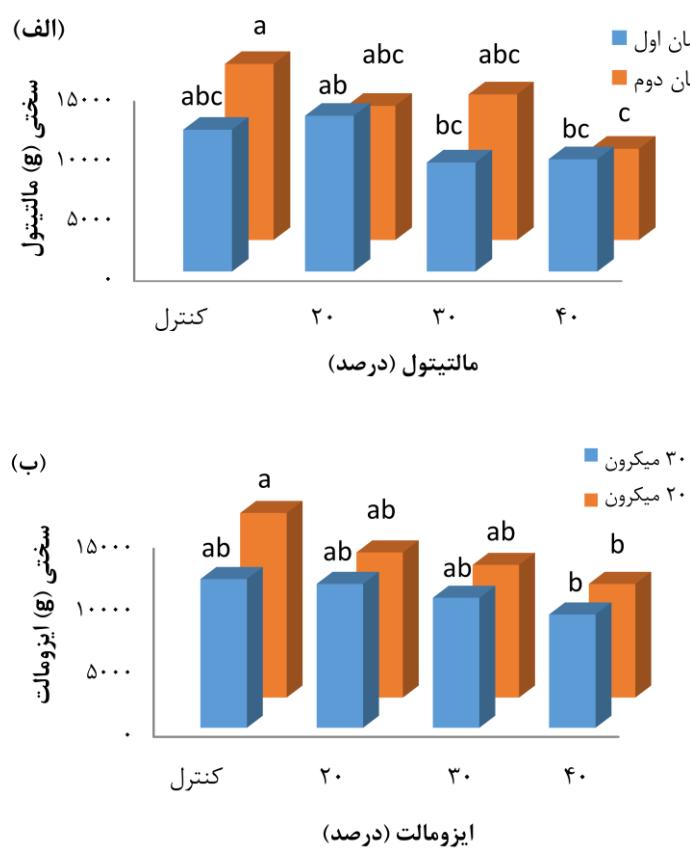
^۱ Knead

نمونه‌ها رطوبت بیشتری از نمونه شاهد داشتند.

آنالیز بافت

در شکلات تولید شده با افزایش میزان امولسیون قند الکلی، میزان سختی تیمارها کاهش پیدا کرد بهطوری که کمترین میزان سختی را در هر دو اندازه ذرات، نمونه حاوی ۴۰ درصد امولسیون مالتیتول و ایزومالت داشت. درحالی که بیشترین میزان سختی در نمونه شاهد مشاهده گردید (شکل ۳).

مقدار کمتری رطوبت ازدست می‌دهند. در مقایسه ایزومالت با مالتیتول دیده می‌شود که ایزومالت در نسبت بالا ظرفیت نگهداری رطوبت بیشتری را دارد. که این ویژگی مربوط به نوع و میزان ساکاریدهایی با وزن مولکولی بالاست. بهطورکلی با کاهش اندازه ذرات میزان کارایی و جذب رطوبت بهعلت افزایش سطح به حجم افزایش پیدا می‌کند. نتایج حاصل درخصوص رطوبت با پژوهش Bitaraf و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت دارد. آنها به بررسی تولید شکلات تلخ کم کالری پری‌بیوتیک با استفاده از اینولین، پلی‌دکستروز و مالتودکسترین پرداختند. تمام



شکل ۳- نتایج مقایسه میانگین تأثیر سطوح مختلف مالتیتول و ایزومالت بر سختی نمونه‌های شکلات حروف مشابه در هر ستون بیانگر اختلاف غیرمعنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد می‌باشد.

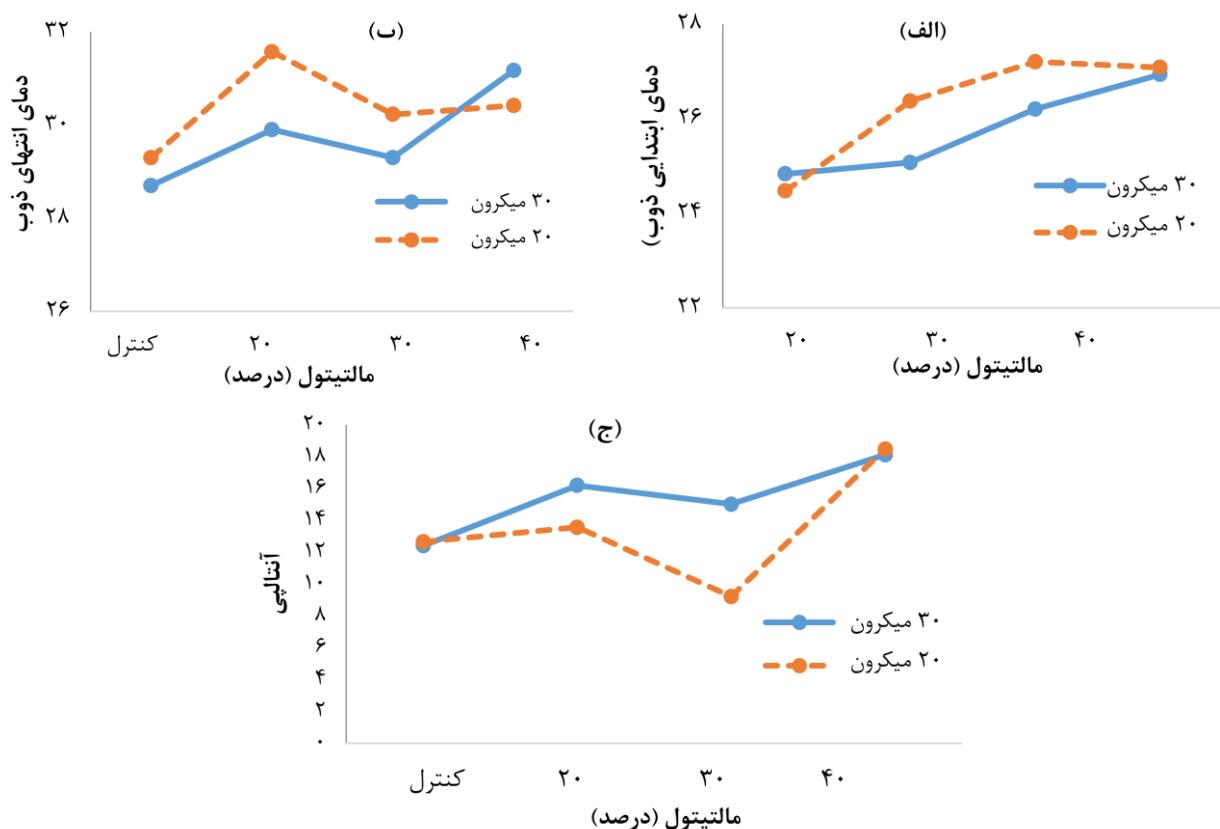
رطوبت، باعث کاهش سختی (تردی) محصولات می‌شود در پژوهش حاضر به علت عدم معنی‌داری بین دو اندازه ذرات در نگهداری رطوبت بهنظر می‌رسد معنی‌دارنبودن سفتی بافت در ارتباط با اندازه ذرات نیز بههمین علت خواهد بود. درهمین ارتباط Afoakwa و همکاران (۲۰۰۸) بیان کردند که عوامل مختلفی مثل ساختار شرایط تولید

علت این کاهش را می‌توان به حفظ رطوبت بالای پلی‌ال‌ها نسبت داد (Devereux, Jones, McCormack, & Hunter, 2003). ضمناً پژوهش‌های متعدد نشان داده است که افزودن امولسیفایر (PGPR) میزان سختی را کاهش می‌دهد. Franck (۲۰۰۲) در پژوهشی بیان نمود که افزودن ترکیبات جاذب رطوبت به علت خاصیت جذب و حفظ

پروفیل ذوب

همان‌طور که در شکل (۳) مشاهده می‌گردد با افزودن امولسیون مالتیتول به تیمارها در هر دو زمان، میزان دمای ابتدایی ذوب تمام نمونه‌ها افزایش یافته است. این روند افزایش در اندازه ذرات ۲۰ میکرونی تا میزان ۳۰ درصد امولسیون مالتیتول دارای روند افزایشی بوده و در غلظت ۴۰ درصد تقریباً حالت خطی به خود گرفته است. دلیل این امر را می‌توان با توجه به شکل (۴) مشاهده نمود که بیشترین دمای ابتدایی ذوب در کل زمان‌های آزمایش متعلق به تیمار مالتیتول با غلظت ۳۰ درصد در اندازه ذرات کوچک‌تر با دمای $27/2$ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. در حالی که کمترین دما نیز متعلق به میان اندازه ذرات در تیمار کنترل می‌باشد. همچنین در بررسی دمای انتهایی ذوب مشاهده می‌گردد که با افزایش درصد امولسیون مالتیتول میزان دمای انتهایی ذوب نمونه‌ها نسبت به نمونه شاهد افزایش یافته است. همچنین با توجه به نمودار تغییرات آنتالپی مشاهده می‌گردد که با افزایش میزان امولسیون در هر دو اندازه ذرات میزان آنتالپی روند صعودی به خود گرفته و بیشترین میزان آن در نمونه‌های حاوی ۴۰ درصد امولسیون مالتیتول می‌باشد.

و مشروط کردن و پلی‌مورفیسم بلورهای چربی نیز سفتی شکلات را تحت تأثیر قرار می‌دهند بنابراین شاید بتوان تغییر سفتی نمونه‌ها را به شرایط تهیه و تولید نسبت داد (Franck, 2002) تأثیر جایگزینی ساکاراز با شیرین‌کننده تاگاتوز^۱ و فیبر رژیمی اینولین را مورد بررسی قرار دادند و بیان کردند که نمونه حاوی ۱۰۰ درصد اینولین میزان سختی کمتری نسبت به نمونه شاهد داشت. علاوه‌بر این، محققین مختلف در تهیه کیک اسفنجی نتایج مشابهی در بررسی آنالیز بافت مشاهده نمودند (Lee, Wang, Raoufi, & Lin, 2008) درخصوص کاهش سختی بافت، Farhoosh, Golmohammazadeh, Tehrani (2012) اثر افزودن آب و امولسیفایر PGPR را روی خواص بافتی و حسی شکلات‌های شیری مورد بررسی قرار دادند. آنها بیان داشتند که با افزایش هم‌زمان میزان رطوبت و امولسیفایر میزان سختی به طور چشمگیری کاهش یافته است. اثر افزایش محتوای آب و امولسیفایر در نرم شدن شکلات بسیار بیشتر از اثر افزایش امولسیفایر به تنها بیایی است.

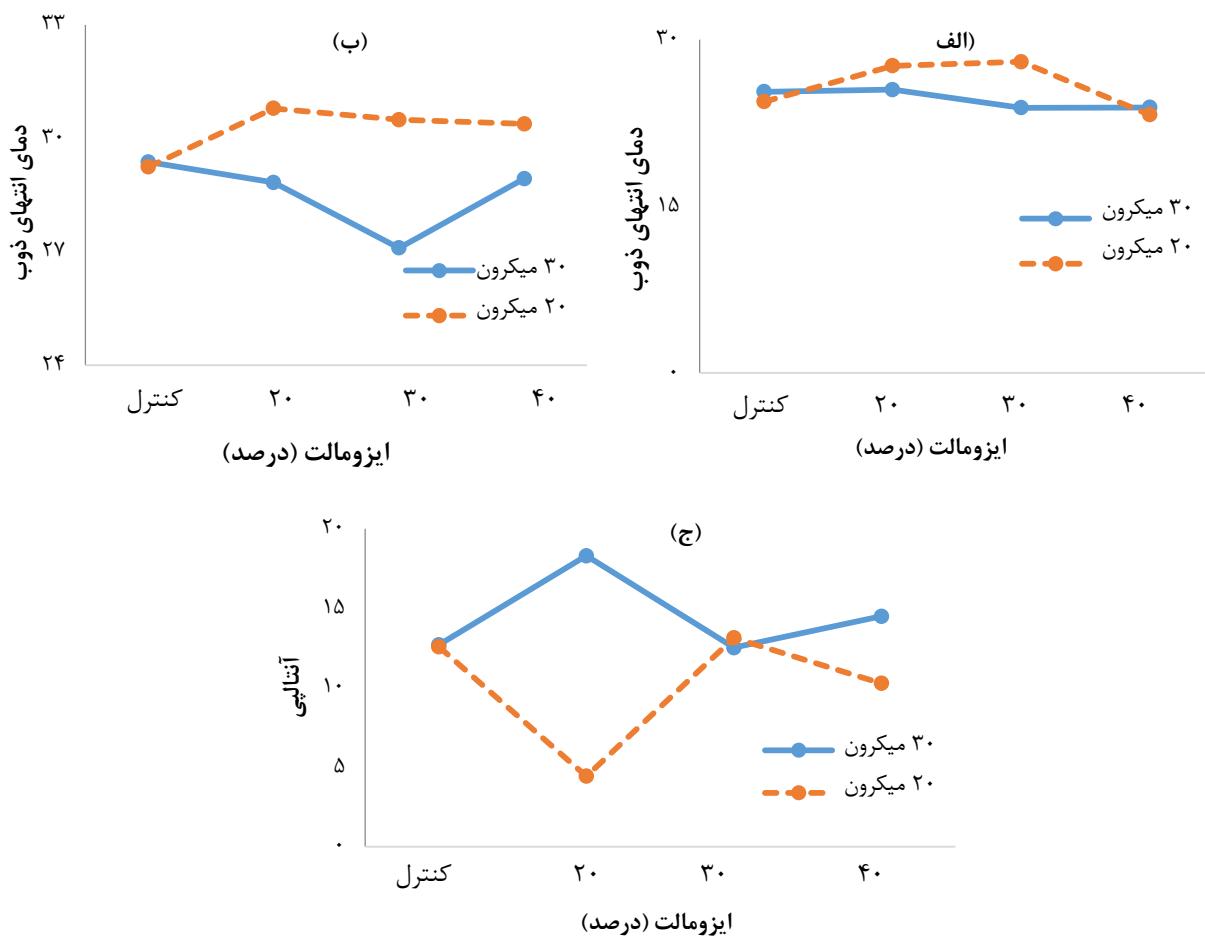


شکل ۳- روند خصوصیات ذوب شکلات حاوی مالتیتول

^۱ Tagatose

ویسکوزیته مسئول توانایی حفظ شکلات در دمای بالا باشد. احتمالاً پلیمرهای ذکر شده می‌توانند چربی را هم بهدام بیاندازد و درنتیجه از نشت چربی نیز در دمای بالا جلوگیری کنند و یا اینکه امولسیفایر باعث تسهیل حرکت در فاز پیوسته چربی می‌شود و باعث توزیع ذرات شده و از تشکیل آگلومرها جلوگیری می‌کند و این می‌تواند روی نقطه ذوب شکلات مؤثر باشد. یافته‌های حاصل از این پژوهش درخصوص شیرین‌کننده مالتیتول در هر دو اندازه و ایزومالت در اندازه ذرات کوچک‌تر مشابه نتایج دیگر پژوهشگران بود (Kempf, 1958). ضمناً چنین بهنظر می‌رسد که آب توسط ذرات خشک جذب و ذرات در حد کم متورم شده و پیوندهای درون‌ساختاری باعث ایجاد مقاومت در برابر نقطه ذوب بالای کره کاکائو می‌شود.

همان‌طور که در شکل (۴) مشاهده می‌گردد در اندازه ذرات بزرگ‌تر با افزایش میزان امولسیون ایزومالت تا ۳۰ درصد دمای ابتدای ذوب روند کاهشی داشته است. در حالی که در اندازه ذرات کوچک‌تر با افزایش امولسیون ایزومالت تا ۳۰ درصد این دما افزایش یافته است. در غلظت ۴۰ درصد این روند معکوس شده و هر دو تقریباً به یک دما رسیده است. همچنین با مقایسه دما انتهای ذوب در اندازه ذرات بزرگ‌تر مشاهده گردید که با افزایش غلظت میزان دمای انتهای ذوب با کاهش روبه‌رو است. این کاهش در تیماری با ۳۰ درصد امولسیون ایزومالت محسوس‌تر از سایرین می‌باشد. علاوه‌بر این در مقایسه آنتالپی در میان تمامی نمونه‌ها بیشترین و کمترین میزان آنتالپی متعلق به نمونه ۱ در اندازه ذرات کوچک‌تر می‌باشد. ساختار موجود در این شیرین‌کننده باعث افزایش ویسکوزیته شکلات می‌گردد و ممکن است این افزایش



شکل ۴- روند خصوصیات ذوب شدنی پروفیل ذوب شکلات حاوی ایزومالت در دو اندازه مختلف ذرات

واکنش‌های قهقهه‌ای شدن غیرآنژیمی شرکت نمی‌کنند و رنگ روشن‌تری را نسبت به نمونه‌های کنترل دارا می‌باشند. در بررسی خواص عطر و طعم مشاهده شد که امتیازهای کسب شده در نمونه‌های حاوی مالتیتول از نظر عطر و طعم مشابه نمونه‌های کنترل بود. بررسی منابع نشان می‌دهد که مالتیتول شیرین‌کننده‌ای طبیعی با خواص ارگانولپتیک منحصر به فرد است. مالتیتول از نظر طعم مشابه ساکارز بوده و حلالیت خوبی دارد، بنابراین مزیت‌های آن بیش از شیرین‌کننده‌های مصنوعی است و به طور کلی بر طعم غذا اثر ناخوشایندی ایجاد نمی‌کند (Dehkhana, Khodaiyan & Movahed, 2015). ویژگی رفتار ذوب دهانی به علت افزایش نقطه ذوب با افزودن پلی‌ال‌ها امتیاز کمتری نسبت به نمونه‌های کنترل داشت و مقایسه مالتیتول با ایزومالت مطلوب بودن این ویژگی را در مالتیتول در تمامی غلظتها نسبت به ایزومالت نشان می‌دهد.

نتایج آنالیز حسی

جدول (۱) نتایج آنالیز واریانس تأثیر مالتیتول و ایزومالت را در ویژگی‌های حسی در مقایسه با نمونه کنترل نشان می‌دهد، هرچند که پذیرش کلی نمونه‌های شکلات تولید شده با استفاده از شیرین‌کننده‌های مالتیتول و ایزومالت با افزایش غلظت شیرین‌کننده‌ها تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد ($P > 0.05$). بررسی ویژگی‌های حسی به تنها یکی نشان داد که رنگ نمونه‌های تیمار شده با پلی‌ال‌ها روشن‌تر از نمونه کنترل می‌باشد بیشترین امتیاز به نمونه کنترل با رنگ تیره‌تر نسبت داده شد و در مقایسه غلظت‌های مالتیتول با غلظت مشابه آن در ایزومالت مشاهده می‌شود که نمونه‌های حاوی مالتیتول امتیاز بیشتری کسب نمودند به نظر می‌رسد میزان رطوبت بالای ایزومالت در کاهش رنگ مؤثر بوده است. ضمن اینکه پلی‌ال‌ها به دلیل اینکه فاقد گروههای عامل هستند در

جدول ۱- مقایسه میانگین‌ها بررسی تأثیر متغیرها بر ویژگی حسی شکلات

تیمار	رنگ	عطر و طعم	رفتار ذوب دهانی	پذیرش کلی
مالتیتول	۴/۲۷±۰/۰۴ ^a	۴/۱۵±۰/۰۴ ^a	۴/۸۴±۰/۰۵ ^a	۴/۲۹±۰/۰۳ ^a
	۴/۱۱±۰/۰۱ ^b	۴/۰۷±۰/۰۲ ^a	۴/۲۵±۰/۰۴ ^b	۴/۱۷±۰/۰۳ ^a
	۴/۰۳±/۰۶ ^c	۴/۰۵±۰/۰۹ ^a	۳/۸۴±۰/۰۶ ^c	۴/۱۳±۰/۰۳ ^a
	۳/۷۷±۰/۰۵ ^d	۴/۰۱±۰/۰۱ ^a	۳/۴۴±/۰۵ ^d	۴/۲۲±۰/۰۳ ^a
ایزومالت	۴/۲۷±۰/۰۳۷ ^a	۴/۱۵±۰/۰۴ ^a	۴/۸۴±۰/۰۵ ^a	۴/۲۹±۰/۰۳ ^a
	۳/۴۵±۰/۰۵۵ ^b	۳/۵۰±/۰۶ ^b	۳/۸۰±/۰۳ ^b	۴/۱۷±۰/۰۳ ^a
	۳/۲۰±/۰۲۵ ^c	۳/۱۸±۰/۰۳ ^c	۳/۴۳±۰/۰۶ ^c	۴/۱۰±۰/۰۳ ^a
	۳/۰۷±۰/۰۵ ^d	۳/۰۳±۰/۰۲ ^d	۳/۰۰±۰/۰۲ ^d	۴/۰۸±۰/۰۴ ^a

حروف مشابه در هر سوتون بیانگر اختلاف غیرمعنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد می‌باشد.

در حالی که بیشترین میزان سختی در نمونه شاهد مشاهده گردید. در تیمارهایی با اندازه ذرات ۲۰ میکرون اختلاف سختی بافت محصول حاوی ۴۰ درصد قند الکلی با نمونه شاهد در هر دو نوع فرمولاسیون قدمی تفاوت معنی‌دار داشت ($P < 0.05$). ولی در تیمارهایی با اندازه ۳۰ میکرون این اختلاف معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). می‌توان بیان داشت که ترکیبات جاذب رطوبت به علت خاصیت جذب و حفظ رطوبت باعث کاهش سختی (تردی) محصولات می‌گردد. به طور کلی ذرات کوچک‌تر نسبت به ذرات بزرگ‌تر باعث نرم شدن بیشتر محصول می‌گردد. استفاده از مالتیتول و ایزومالت در فرمولاسیون شکلات، موجب افزایش دمای

نتیجه‌گیری

افزودن امولسیون (ایزومالت و مالتیتول) به فرمولاسیون شکلات، سبب افزایش میزان درصد رطوبت در تمامی نمونه‌ها شد که این امر را می‌توان به خاصیت جذب رطوبت و وجود گروههای هیدرووفیل آنها نسبت داد. هر دو نوع شیرین‌کننده در مقایسه با ساکارز در مدت ورزدادرن قابلیت حفظ رطوبت بالاتری دارند و ایزومالت دارای ظرفیت نگهداری رطوبت بیشتری می‌باشد. استفاده از امولسیون سبب گردید که میزان سختی بافت کاهش یابد. به طوری که کمترین میزان سختی را در هر دو آزمایش، نمونه حاوی ۴۰ درصد مالتیتول و ایزومالت داشت.

حاوی مالتیتول و نمونه‌های کنترل بود و از نظر رنگ نمونه‌های تیمارشده روشن‌تر از نمونه‌های کنترل بودند. به طور کلی با توجه به اثر پلی‌ال‌ها در تولید شکلات مقاوم به حرارت بررسی خواص رئولوژیکی نمونه‌های تولیدی، تغییرات دمای فرایندهای تمپرینگ بر خواص فیزیکی و شیمیایی شکلات مقاوم به حرارت در پژوهش‌های آتی ضروری به نظر می‌رسد.

ذوب می‌شود که جذب رطوبت، مهم‌ترین دلیل برای این مقاومت به دمای ذوب بوده است. مقایسه میانگین ویژگی‌های حسی در نمونه‌های شکلات تولیدشده با استفاده از شیرین‌کننده‌های مالتیتول و ایزومالت نشان داد که وجود شیرین‌کننده‌ها و افزایش غلظت شیرین‌کننده‌ها در پذیرش کلی مصرف کننده تأثیر معنی‌داری نداشت. علیرغم عدم معنی‌داربودن پذیرش کلی در نمونه‌های تیمارشده از نظر عطر و طعم بیشترین امتیاز متعلق به نمونه

منابع

- Afoakwa, E. O. (2010). *Chocolate Science and Technology* (Vol. 1sd edition): Oxford, Wiley-Blackwell.
- Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M., & Vieira, J. (2008). Characterization of melting properties in dark chocolates from varying particle size distribution and composition using differential scanning calorimetry. *Food Research International*, 41(7), 751-757. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.05.009>
- Aliakbari, F., Asefi, N., & Yeganehzad, S. (2018). Effect of Gelatin and Corn Starch on Hheat Resistance and Sensory Properties of Milk Chocolate. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 13(2), 99-106. (in Persian) .
- Beckett, S. T. (1999). *Industrial Chocolate Manufacture and Use* (Vol. 3rd ed): Oxford ; Malden, MA: Blackwell Science.
- Beckett, S. T. (2000). *The Science of Chocolate* (Older Edition ed.): The Royal Society of Chemistry.
- Bitaraf, S., Abbasi, S., & Hamidi, Z. (2013). Production of low-energy prebiotic dark chocolate using inulin, polydextrose, and maltodextrin. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 8(1), 49-62. (in Persian) .
- Dehkhoda, M., Khodaiyan email, F., & Movahed, S. (2015). Effect of isomalt and maltitol on quality and sensory properties of sponge cake. *Iranian Journal of Biosystems Engineering*, 46(2), 147-155. (in Persian)
- DeMan, J. M. (1999). *Principles of food chemistry* (Vol. 3rd). Gaithersburg (Ma.): Aspen Publishers.
- Devereux, H., Jones, G., McCormack, L., & Hunter, W. (2003). Consumer acceptability of low fat foods containing inulin and oligofructose. *Journal of Food Science*, 68(5), 1850-1854. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb12341.x>
- Franck, A. (2002). Technological functionality of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 87(S2), S287-S291. doi:<https://doi.org/10.1079/BJN/2002550>
- Fripiat, A., De Soete, J., Smits, G., & Keme, T. (2000). U.S. Patent No. 6,010,735. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Giddey, C., & Dove, G. (1984). U.S. Patent No. 4,446,166. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2011). Cereal and cereal products-Determination of moisture measure Cintent-Reference method. [ISIRI Standard No, 2705]. Retrieved from <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=46619>
- Kempf, N. W. (1958). U.S. Patent No. 2,863,772. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Kiumarsi, M., Yeganehzad, S., Shahidi, M., Pahlevanloo, A., & Khoshkish, M. (2017). Optimization of formulation of dark chocolate using mixture of inulin, isomalt and maltitol. *Innovation in Food Science and Technology*, 9(3), 73-86. (in Persian) .

- Lee, C. C., Wang, H. F., & Lin, S. D. (2008). Effect of isomaltoligosaccharide syrup on quality characteristics of sponge cake. *Cereal Chemistry*, 85(4), 515-521. doi:<https://doi.org/10.1094/CCHEM-85-4-0515>
- Maghsoodi, S. (2009). *Confectionery Industry: Production technology of candy, Production technology of chocolate. first edition* (Vol. 1st edition): Agriculture Science of Iran. (in Persian)
- Mahdavian Mehr, M., & Mazaheri Tehrani, M. . (2014). The Effect of Replacing the Cocoa Powder with Coffee Silver Skin on Physical, Textural and Sensory Properties of Dark Chocolate. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 10(2), 99-106. (in Persian). doi:<https://doi.org/10.22067/ifstrj.v10i2.37969>
- Raoufi, N ,Tehrani, M. M., Farhoosh, R., & Golmohammadzadeh, S. (2012). The effects of adding water and polyglycerol polyricinoleate on the texture, appearance, and sensory qualities of compound milk chocolate. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114(12), 1390-1399. doi:<https://doi.org/10.1002/ejlt.201100408>
- Rapaille, A., & Gonze, M. (1995). Formulating sugar-free chocolate products with maltitol. *Food Technology* .
- Russell, B. H., & Zenlea, B. J. (1948). U.S. Patent No. 2,457,110. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Shourideh, M ,Taslimi, A., Azizi, M., Mohammadifar, M., & Mashayekh, M. (2010). Effects of D-Tagatose , inulin and stevia as sugar substitutes on the physical, chemical, rheological and sensory properties of dark chocolate. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 5(3), 29-38. (in Persian) .
- Simbürger, S. (2009). U.S. Patent No. 7,579,031. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Sokmen, A., & Gunes, G. (2006). Influence of some bulk sweeteners on rheological properties of chocolate. *LWT-Food Science and Technology*, 39(10), 1053-1058 .doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.03.002>
- Takemori, T., Tsurumi, T., Takagi, M., & Ito, M. (1993). U.S. Patent No. 5,232,734. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Walter, P., & Cornillon, P. (2001). Influence of thermal conditions and presence of additives on fat bloom in chocolate .*Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78(9), 927-932. doi:<https://doi.org/10.1007/s11746-001-0365-1>
- Wan Aidah, W., Abdul Azis, A., Roselina, K., & Sabariah, S. (2014). Development and characterisation of thermo-resistant milk chocolate containing cocoa butter emulsion. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 21(6), 968-974 .

Effect the Ratio of an Emulsion Containing Sugar Alcohols and Particle Size on Thermal Resistance and Some Physical and Sensory Characteristics of Chocolate

Abdolali Esmali¹, Narmella Asefi^{2*}, Samira Yeganehzad³

- 1- M.Sc. Student, Department of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
2- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
* Corresponding author (n.asefi@iaut.ac.ir)
3- Assistant Professor, Department of Food Processing, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran

Abstract

In this study, the effect of emulsion containing sugar alcohols and particle size on increasing the melting point of the chocolate in semi-industrial conditions was investigated. Formulation containing PGPR emulsion, cocoa butter, water, isomalt and maltitol was added to a chocolate with a particle size of 20 and 30 μ . Texture, melting point and sensory properties (color, odor, taste, oral sensation and overall acceptance), moisture content and water activity were analyzed for chocolate formulated with PGPR emulsion, cocoa butter, water, isomalt and maltitol. The chocolate was compared with the control chocolate. The results showed that the use of maltitol and isomalt significantly increased the moisture content and water activity of the samples ($P<0.05$). Significant differences were observed between the treatments in terms of hardness of the tissues, which indicated a decrease in hardness by increasing the emulsion of sugar alcohols ($P<0.05$). Sensory properties showed that maltitol was similar to the control sample in terms of flavor and had a higher rate of oral melting compared to isomalt in all concentrations in color, all treated samples were brighter than control samples. There was no significant difference in the overall acceptance of the samples ($P>0.05$). In general, due to the insignificant effect of this emulsion formulated in the overall acceptance of sensory properties and its significant effect on increasing the melting point, these materials can be used in the production of heat-resistant chocolate in tropical areas.

Keywords: Chocolate, Isomalt, Maltitol, Melting Point, Particle Size

کاربرد شبکه عصبی مصنوعی و آزمون غیرمخرب سی‌تی اسکن در تخمین مقدار کوفتگی گلابی در اثر اعمال بارهای خارجی

محسن آزادبخت^{۱*}، محمد واحدی ترشیزی^۲

۱- دانشیار، گروه مکانیک بیوسیستم، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

* نویسنده مسئول (azadbakht@gau.ac.ir)

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴/۰۵/۹۷

تاریخ پذیرش: ۲۸/۰۹/۹۷

چکیده

آسیب‌های گلابی یکی از علت‌های اصلی ازدستدادن کیفیت میوه است. کبودی در هنگام بارگذاری دینامیکی و شبه استاتیک رخ می‌دهد که باعث تخریب بافت سالم میوه می‌گردد. در این پژوهش ابتدا گلابی‌ها تحت بارگذاری شبه استاتیکی (لبه پهن و لبه نازک) و بارگذاری دینامیکی قرار گرفتند. سپس در دوره‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ روزه انبارداری شده و بعد از هر دوره انبارداری با استفاده از تکنیک غیرمخرب سی‌تی اسکن (CT-Scan) برای تخمین درصد پوسیدگی مورد بررسی قرار گرفتند. شبکه عصبی مصنوعی پرسپترون چندلایه (MLP) با دولایه پنهان و تعداد ۳، ۵، ۷ و ۹ نرون در هر لایه برای مدل‌سازی نیروی بارگذاری و دوره انبارداری میوه گلابی جهت پیشگویی میزان پوسیدگی انتخاب گردید. بیشترین مقادیر R^2 آموزش و آزمون برای بارگذاری شبکه استاتیکی لبه نازک و لبه پهن در شبکه‌ای با ۹ نرون به ترتیب $=0.91$ لبه نازک آموزش، $=0.99$ لبه نازک آزمون و $=0.95$ لبه پهن آموزش و $=0.96$ لبه پهن آزمون بوده است و برای بارگذاری دینامیکی شبکه‌ای با ۳ نرون در لایه مخفی $=0.98$ آموزش، $=0.99$ آزمون بیشترین مقدار را به خود اختصاص داده است. همچنین بهترین شبکه برای یادگیری (۹ نرون) بارگذاری شبکه استاتیکی لبه نازک، (۷ نرون) بارگذاری شبکه استاتیکی لبه پهن و بارگذاری دینامیکی (۷ نرون) بود. با توجه به نتایج به دست آمده برای R^2 و سیکل یادگیری می‌توان گفت شبکه عصبی توانایی پیش‌بینی میزان درصد پوسیدگی را در حد قابل قبولی برای گلابی داشته است.

فرایندهای متابولیک و همچنین رشد میکروارگانیسم‌ها می‌شود که منجر به خسارات کیفی و کمی می‌شود. علاوه بر این، این تولیدها بهویژه در معرض آسیب‌های ناشی از ضربه و خراش قرار دارند. بنابراین، توسعه روش‌هایی که اطلاعات پیرامون ویژگی‌های کیفی در مراحل اولیه فرایند پس از برداشت به شیوه‌ای غیرمخرب را به ارمغان می‌آورد، یک چالش بزرگ برای بخش کشاورزی است (Hernández-Sánchez, Moreda, Herre-ro-Langreo, & Melado-Charles, 2016). از این‌رو ارزیابی کیفی غیرمخرب

مقدمه

محصولات کشاورزی خصوصیات منحصر به‌فردی دارند که آنها را از مواد مهندسی مجزا می‌کنند. این خصوصیات کیفی میوه‌ها و مقداری عددی که به آنها داده می‌شود باعث کنترل Chakespari, Rajabipour, & Mobli, 2010 راحت‌تر محصولات کشاورزی می‌گردد. از طرفی یک جنبه حیاتی که میوه‌ها را از محصولات دیگر تمایز می‌دهد، ازین‌رختن سریع آنهاست. محتوای آب و کربوهیدرات بسیار زیاد، باعث

کاربرد شبکه عصبی در میزان پیش‌بینی میزان کبودی میوه گزارش کردند:

Zarifneshat و همکاران (۲۰۱۲) روی پیش‌بینی میزان کبودی سیب با استفاده از شبکه عصبی آزمایشی را انجام دادند. در این آزمایش عملکرد الگوریتم آموزش پایه^۳ با الگوریتم یادگیری میزان فاکتور^۴ (FRL) مقایسه شد. مشخص شد که FRL دارای عملکرد بهتر برای پیش‌بینی حجم کبودی سیب است. درنهایت به این نتیجه رسیدند که ANN نشان‌دهنده یک ابزار امیدوارکننده برای پیش‌بینی میزان کبودی سیب در مقایسه با مدل رگرسیون است.

Rostampour و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی میزان کبودی در آسیب سیب با استفاده از تکنیک شبکه عصبی مصنوعی برای پیش‌بینی میزان کبودی آزمایشی انجام دادند که نتیجه آزمایش نشان داد که مدل با دستورالعمل ۱-۷-۵، تابع انتقال سیگموئیدی در لایه پنهان و تابع انتقال خطی در لایه خروجی با ۴۰۰۰۰ دوره، بهترین رابطه بین مقادیر پیش‌بینی شده و واقعی را نشان می‌دهد. Zhai, Hu و Wang (۲۰۱۸) روی کاربرد دو شبکه عصبی کانولوشن عمیق^۵، یعنی شبکه ResNet (ResNet) و نسخه بهبودیافته آن به نام ResNeXt برای پیش‌بینی آسیب‌های درونی زغال‌اخته^۶ مورد استفاده قرار گرفت که نتایج این مطالعه نشان داد پتانسیل کاربرد CNN Deep در تحلیل آسیب مکانیکی داخلی میوه مناسب بوده است. هدف از انجام این تحقیق بررسی داده‌های آزمایشی با داده‌های شبکه است و همچنین بررسی میزان حساسیت گلابی تحت بارگذاری شبه استاتیکی و دینامیکی نسبت به پارامترهای ورودی نیرو و دوره انبارداری می‌باشد و نیز یافتن بهترین شبکه برای تحلیل داده‌های درصد پوسیدگی است تا بتوان با استفاده از کمترین زمان داده‌های آزمایشی را با داده‌های شبکه مقایسه کرد و بهترین نتیجه را گرفت.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه

گلابی‌های رقم اسپادانا از بازار گرگان تهیه شدند و

محصولات کشاورزی به یک بخش مهم برای صنعت کشاورزی تبدیل شده است (Kotwaliwale *et al.*, 2014). در دهه‌های اخیر مطالعه‌های متعددی برای انجام روش دقیق ارزیابی محصولات غذایی انجام شده است و دلیل این امر افزایش تقاضای مصرف کنندگان و توجه ویژه آنها به کیفیت داخلی میوه، از جمله طراوت، شیرینی و محتوای تغذیه‌ای است (Liu & Ying, 2007; Massah, Hajiheydari, & Haddad, 2017). همچنین خصوصیات ظاهری میوه‌ها ارزش آنها را در بازار تحت تأثیر قرار می‌دهد از این‌رو، مهم است که پس از برداشت، میوه‌ها را به خوبی کنترل کرد (Ganiron, 2014). گلابی^۱ میوه‌ای بالارزش بهدلیل داشتن عطر و طعم خاص و شیرین بوده و بیشتر انواع گلابی‌ها به صورت تازه خورده می‌شوند و در برخی موارد از آنها در اشکال مختلف فراوری شده همچون Kolniak, Ostek, Pérez-Jiménez & Saura-Calixto, 2016; Pérez-Jiménez & Saura-Calixto, 2015 استفاده می‌دهد که اغلب شبکه عصبی مصنوعی^۲ (ANN) از سه لایه است که شامل لایه ورودی، پنهان و خروجی نشان داده شده است. نتیجه خروجی به وزن استفاده شده در داده‌های ارتباط خروجی و لایه‌های پنهان مตکی است. در طول آموزش و یادگیری یک شبکه، وزن‌ها هستند که ارزش کار ANN را برای رسیدن به یک نتیجه بسیار زندیک به خروجی واقعی رقم می‌زنند (Aibinu, Mustafah, & Isiaka.B.S, 2014). شبکه‌های عصبی مصنوعی (ANNs) تکنیک‌های مدل‌سازی قدرتمند هستند که به طور خلاصه با آرایه‌هایی از نرون‌ها در حافظه و یادگیری بیولوژیک کار می‌کنند. ANN‌ها مزایای متعددی نسبت به تکنیک‌های مدل‌سازی معمولی ارائه می‌دهند زیرا می‌توانند براساس هیچ فرضیه‌ای درباره ماهیت مکانیزم‌های پدیده‌شناسی و درک زمینه‌های ریاضی مشکل اصلی فرایند و توانایی یادگیری روابط خطی و غیرخطی بین متغیرها به طور مستقیم از مجموعه‌ای از نمونه‌ها، مدل ارائه دهند (Fathi, Mohebbi, & Razavi, 2011). در دهه‌های اخیر، اکثر محققان در مهندسی کشاورزی از الگوریتم‌های یادگیری ماشین‌های مرسوم Pan *et al.*, 2016 استفاده کرده‌اند. همچنین محققین زیادی تحقیق‌هایی را درباره

³ Back-Propagation

⁴ Factor Rate Learning

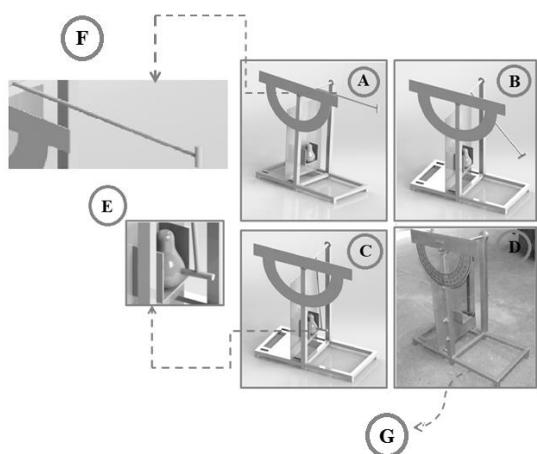
⁵ Convolutional Deep neural network

⁶ blueberriesc

¹ *Pyrus communis* L.

² Artificial neural network

گرگان ساخته شد (شکل ۲). سپس نمونه‌ها در محل موردنظر قرار داده شد و بازوی دستگاه تا زاویه موردنظر ۹۰ درجه سانتی‌گراد (بالا برد) شد و در حالت کنترل شده بازو رها و به گلابی برخورد کرد. دستگاه آونگ دارای بازوی ۲۰۰ گرمی و سه وزنه متصل مختلف ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ گرم برای ضربه‌زدن بود. لازم به ذکر است از مقاومت هوا و اصطکاک صرف‌نظر شده است.



شکل ۲- شماتیک دستگاه ضربه

A: پاندول در زاویه ۹۰ درجه سانتی‌گراد، B: پاندول در حال طی‌کردن مسیر، C: برخورد پاندول به گلابی، D: نمای اصلی دستگاه، E: محل قرارگیری گلابی، F: پاندول ضربه‌زن و G: بدنه دستگاه

تصویربرداری با روش سی‌تی اسکن آماده‌سازی گلابی

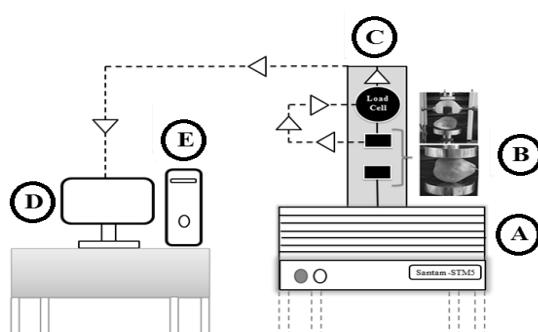
در این آزمایش تعداد ۱۲۰ عدد گلابی برای آزمایش انتخاب گردید و از این گلابی‌ها با استفاده از روش غیرمخرب سی‌تی اسکن تصویربرداری گردید و تعداد ۸۱ گلابی که هیچ کبودی در درون خود نداشتند انتخاب شد. سپس گلابی‌ها پس از بارگذاری‌های شبه استاتیکی و دینامیکی در سه دوره ۵، ۱۰ و ۱۵ روز در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انبار شد. شرایط محیطی انبار به صورتی انتخاب شد که مشابه مراکز فروش باشد تا بتوان میوه‌ها را در حین نگهداری تا مصرف موردن بررسی قرار داد. دمای هوای محیط برای نگهداری گلابی‌ها ۱۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۶ درصد بود.

تصویربرداری
برای انجام تصویربرداری، گلابی‌ها به محل آزمایش برده

نمونه‌ها به آزمایشگاه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان آورده و پس از شستشو برای اندازه‌گیری رطوبت در درون آونگ قرار گرفت و سپس رطوبت آنها در این آزمایش براساس استانداردها اندازه‌گیری شد (Azadbakht, Aghili, Ziaratban, & Torshizi, 2017) میزان رطوبت اندازه‌گیری شده برای گلابی ۷۷/۹۲ درصد بود.

آزمون شبه استاتیکی

برای انجام آزمون مکانیکی فشار لبه پهن و لبه نازک از دستگاه نیرو-تغییرشکل با نام تجاری اینسٹرۇن سنتام (Santam-STM5) ساخت ایران) با لودسل ۵۰۰ نیوتونی استفاده شد. برای تست فشاری از دو صفحه دایره‌ای شکل استفاده شد. این آزمون در سرعت ۵ میلی‌متر بر دقیقه با سه نیروی ۷۰، ۱۰۰ و ۱۳۰ نیوتون با سه تکرار انجام شد (شکل ۱). برای این آزمایش گلابی به صورت افقی در بین دو صفحه قرار گرفته و فشار داده شد و مدت زمان اندازه‌گیری این فرایند ثبت گردید. همچنین برای انجام تست فشار لبه نازک دو فک طراحی شد که از جنس پلاستیک با سطح مقطع مستطیلی به ابعاد $1/5 \times 0/3$ سانتی‌متری در سرعت ۵ میلی‌متر بر دقیقه با سه نیروی ۱۵، ۲۰ و ۲۵ نیوتونی در سه تکرار استفاده شد. با حرکت دادن فک متحرک، عملیات فشار تا جایی انجام شد که نیرو به حد موردنظر از کامپیوتر قرائت شد.

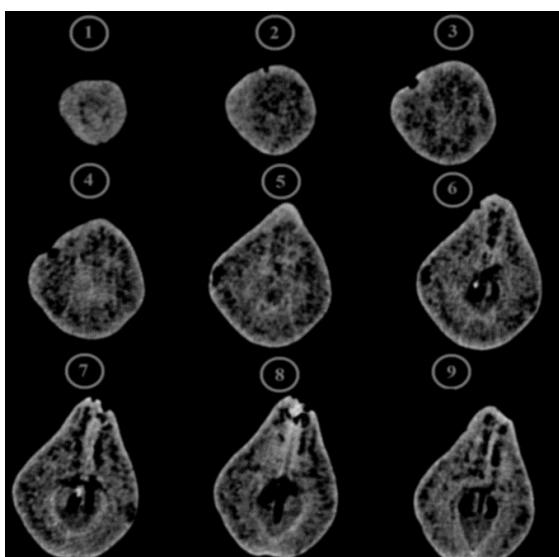


شکل ۱- دیاگرام بارگذاری‌های شبه استاتیکی گلابی
A: دستگاه اینسٹرۇن B: فک‌های لبه نازک و لبه پهن C: نیروسنگ D: کامپیوتر E: اطلاعات خارج شده

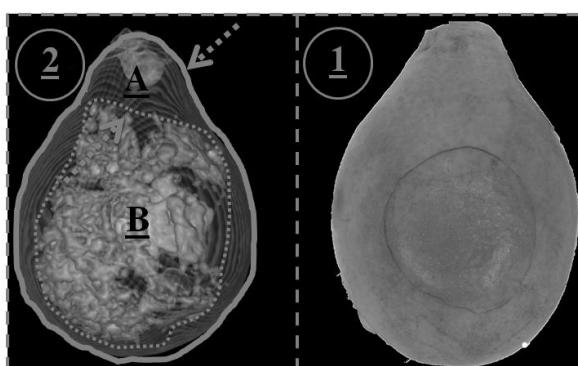
آزمون ضربه

ابتدا دستگاه پاندول و وزنهای موردنیاز در کارگاه گروه مکانیک بیوسیستم دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی

سی‌تی‌اسکن محاسبه شد و با زمان بارگذاری در نرم‌افزار Microsoft Excel نسخه ۲۰۱۰ ثبت شد. در شکل (۳) دستگاه مورد استفاده در این آزمایش و محل قرارگیری گلابی برای بررسی نشان داده شده است. همچین طی تصویربرداری هر گلابی به طور میانگین از ۷۰ تا ۱۰۰ تصویر برای رسیدن به شکل کامل گلابی برای بازسازی سه‌بعدی تصویربرداری شد. مراحل تکمیل هر تصویر تا رسیدن به تصویر نهایی در شکل (۴) نشان داده شده است. همچنین تصویر بازسازی شده دو بعدی گلابی نیز در شکل (۵) نشان داده شده است که می‌توان این تصویر را به دو قسمت بافت سالم و بافت پوسیده تقسیم‌بندی کرد. در شکل (۵) شماره ۱ محل کوفتگی در گلابی و شماره ۲ تصویر ایجاد شده توسط سی‌تی‌اسکن است.



شکل ۴- مراحل ساخت تصویر سی‌تی‌اسکن



شکل ۵ - نمای دو بعدی گلابی قبل و بعد از پردازش تصویر
۱- کبودی در تصویر واقعی ۲ - کبودی در تصویر پردازش شده (A: بخش پوسیده گلابی B: بخش سالم گلابی)

شد این آزمایش در ۵، ۱۰ و ۱۵ روز پس از بارگذاری شبه استاتیکی و دینامیکی هر گلابی، با دستگاه سی‌تی‌اسکن (مدل Somatom emotion 16 slice CT نسل سوم شد (شکل ۳). این دستگاه از دستگاه‌های Tube و Detector روبه‌روی یکدیگر قرار داشته که به صورت متواالی گردش کرده تا تصویر ایجاد شود. همچنین پیج دستگاه برای آزمایش، ۱ پیج بود ثبت تصاویر نیز در ولتاژ ۸۰ کیلوولت و جریان ۱۲۰ میلی‌آمپر انجام شد و برای ایجاد تصاویر کامل از برش‌های ۱ میلی‌متری استفاده شد. تصاویر ایجاد شده به وسیله نرم‌افزار ایجاد کننده تصویر Syngo CT 2012 ثبت شده و تصاویر دو بعدی و سیاه‌سفید تهیه و استخراج گردید. همچنین میزان وضوح تصاویر با هسته کانولوشن^۱ بیان می‌شود که از نوع B31Smooth B31Smooth بوده و تصاویر به وسیله ماتریس‌های ۵۱۲×۵۱۲ تشکیل گردیده است.



شکل ۳- دستگاه سی‌تی‌اسکن استفاده شده در تحقیق

هدف از فاصله زمانی‌های بین کبودی و تصویربرداری به‌این دلیل بود که به کبودی اجازه تثبیت بهتر روی میوه را بدهد و رطوبت کبودی کاهش پیدا کند. این تفاوت رطوبت می‌تواند جذب اشعه ایکس بین بافت کبود و سالم را افزایش دهد. سپس با استفاده از دیتاها دستگاه میزان حجم کل میوه، میزان حجم کبودی هر میوه و همچنین تصاویر دو بعدی رنگی برای هر کبودی روی میوه اندازه‌گیری و ثبت گردید (Diels *et al.*, 2017). نسبت حجم کبودی به حجم کل هر گلابی به دست آمده با

^۱ Convolution kernel

و ۱۰ درصد (۳ داده برای هر بارگذاری) از دیتاهای برای آزمون شبکه^۷ مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۱). نیروی بارگذاری و دوره انبارداری به عنوان ورودی‌های شبکه و درصد پوسیدگی گلابی در حالت‌های بارگذاری شبه استاتیکی (لبه پهن و لبه نازک) و دینامیکی (ضربه) خروجی‌های شبکه موردنظر بودند. تعداد ۵ تکرار برای شبیه‌سازی داده‌های شبکه عصبی مصنوعی جهت رسیدن به حداقل میزان خطأ و حداقل پایداری شبکه به صورت میانگین برابر ۱۰۰۰ سیکل یادگیری^۸ جهت شبیه‌سازی داده‌ها توسط شبکه عصبی منظور گردید و الگوریتم برآورده خطأ در شبکه‌های تشکیل شده با استفاده از الگوریتم پس‌انتشار خطأ^۹ صورت گرفت. برای ارزیابی شبکه دو معیار ضریب تبیین (R^2) و ریشه میانگین مربعات خطأ^{۱۰} استفاده گردید. ضریب تبیین میزان همبستگی بین داده‌های خروجی شبکه عصبی و داده‌های مشاهده شده را تعیین می‌کند و از رابطه (۲) محاسبه می‌شود که مقدار ایده آن برابر ۱ می‌باشد. میانگین مربعات خطأ اختلاف بین داده‌های پیش‌بینی شده و داده‌های واقعی را تعیین می‌کند (رابطه^{۱۱} ۴) و ریشه آن از رابطه (۵) محاسبه می‌شود. هدف یک شبکه خوب این است که میزان این خطأ را به کمترین مقدار برساند و مقدار ایده‌آل آن برابر صفر است. پارامترهای آماری شامل میانگین مربعات خطأ^{۱۱}، ریشه میانگین مربعات خطأ، ضریب تبیین و میانگین خطای مطلق^{۱۲} برای ورودی‌ها محاسبه شد و روابط با استفاده از فرمول‌های جدول (۲) محاسبه گردید.

درصد کاهش حجم

حجم گلابی‌ها قبل و بعد از بارگذاری با استفاده سی‌تی اسکن اندازه‌گیری شد. سپس حجم بعد از بارگذاری از حجم قبل از بارگذاری کم گردید و میزان اختلاف یا کاهش حجم به دست آمد. با تقسیم اختلاف حجم بر حجم قبل از بارگذاری گلابی درصد کاهش حجم گلابی در طی انبارداری محاسبه شد.

مدل‌سازی شبکه عصبی مصنوعی

در این پژوهش شبکه عصبی مصنوعی پرسپترون چندلایه^۱ (MLP) برای مدل‌سازی نیروی بارگذاری و دوره انبارداری میوه گلابی جهت پیشگویی میزان پوسیدگی انتخاب گردید. شبکه عصبی پرسپترون چندلایه یک شبکه پیش‌خور^۲ با یک ورودی، یک یا چند لایه پنهان و یک لایه خروجی است. این شبکه توسط ۲ لایه پنهان برای آزمایش انتخاب شد که در هر لایه به ترتیب تعداد ۳، ۵، ۷ و ۹ نرون قرار داده شد که برای هریک از تعداد نرون‌ها شبکه به صورت جداگانه شبیه‌سازی گردید و این شبیه‌سازی با استفاده از نرمافزار نروسوولوشن^۳ نسخه ۵ انجام شد. همچنین از توابع فعال‌سازی^۴، TanhAxon در لایه پنهان، ورودی و خروجی استفاده گردید. در این تحقیق روش بهینه‌سازی لونبرگ‌مارکوت^۵ به منظور یادگیری شبکه مورد استفاده قرار گرفت. همچنین ۷۰ درصد (۱۹ داده برای هر بارگذاری) از دیتاهای برای آموزش، ۲۰ درصد (۵ داده برای هر بارگذاری) برای ارزیابی شبکه^۶

جدول ۱- مقادیر تشکیل شبکه عصبی مصنوعی برای پارامترهای آموزش، آزمون، ارزشیابی، تعداد نرون، تابع فعال سازی، تابع آموزش و لایه مخفی

تعداد لایه‌های مخفی	تابع آموزش	نوع تابع فعال‌سازی	تعداد نرون‌ها در هر لایه مخفی	آزمون داده‌ها	ارزشیابی داده‌ها	آموزش داده‌ها (درصد)
۲			۳	۱۰	۲۰	۷۵
۲	Levenberg Marquardt	Hyperbolic tangent	۵	۱۰	۲۰	۷۵
۲			۷	۱۰	۲۰	۷۵
۲			۹	۱۰	۲۰	۷۵

⁷ Testing data

⁸ Epoch

⁹ Back propagation error

¹⁰ Root mean squared error (RMSE)

¹¹ Mean Square Error (MSE)

¹² Mean Absolute Error (MAE)

¹ Multi-layer perceptron

² Feed-Forward

³ NeuroSolution

⁴ Activation function

⁵ Levenberg–Marquardt (LM)

⁶ Validating data

جدول ۲- رابطه‌های شبکه عصبی

فرمول	شماره فرمول	رفرانس
$\text{Tanh} = \frac{e^x - e^{-x}}{e^x + e^{-x}}$	۱	(Khoshnevisan, Rafiee, Omid, & Yousefi, 2013)
$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (P_i - O_i)^2}{(P_i - O)^2}$	۲	(Azadbakht et al., 2017)
$R = \sqrt{1 - \frac{\sum_{i=1}^n (P_i - O_i)^2}{(P_i - O)^2}}$	۳	(Khoshnevisan et al., 2013)
$MSE = \sum_{i=1}^n \frac{(P_i - O_i)^2}{n}$	۴	Azadbakht, Torshizi, Ziaratban, & Ghajarjazi, (2016)
$RMSE = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(P_i - O_i)^2}{n}}$	۵	(Khoshnevisan et al., 2013)
$MAE = \frac{\sum_{i=1}^n P_i - O_i }{n}$	۶	(Azadbakht et al., 2016)

در معادلات ۲، ۴، ۵ و ۶ شامل مقادیر پیش‌بینی شده (P_i) و مقادیر واقعی (O_i) و مقدار متوسط داده (O) می‌باشد.

باتوجه به جدول (۳) برای شبکه در حالت بارگذاری شبکه استاتیکی لبّه پهن بیشترین مقادیر آموزش و آزمون در یک لایه با نرون یکسان برای R^2 در شبکه‌ای با ۹ نرون (۰/۹۵=آموزش، ۰/۹۹=آزمون) در لایه‌های پنهان نشان داده شده است. البته این تعداد نرون در مجموع نیز بیشترین میزان R^2 را به خود اختصاص داده‌اند. همچنین بهترین میزان MAE و RMSE برای مقدار آزمون در شبکه‌ای با ۵ نرون (۰/۰۸=MAE، ۰/۱۰=RMSE) و برای (۰/۲۹=MAE، ۰/۱۰=RMSE) آموزش در شبکه با ۹ نرون در لایه پنهان بوده است و این نزدیکی نشان‌دهنده مناسب‌بودن شبکه‌ها می‌باشد. همچنین شبکه‌ای با تعداد ۵ نرون (۰/۶۷=R²) در لایه پنهان برای آزمون و با ۷ نرون (۰/۹۵=R²) در لایه پنهان برای آموزش کمترین میزان R^2 را نشان داده است و این امر دقت پایین‌تر این شبکه با تعداد نرون در لایه‌های پنهان را نشان می‌دهد. البته باتوجه به میزان R^2 برای آزمون می‌توان بیان کرد که شبکه‌ها با تعداد نرون‌های ۳، ۵، ۷ و ۹ موفق به بررسی آزمون مناسب داده‌ها شده‌اند و برای MAE و RMSE نیز ضعیفترین شبکه برای آزمون شبکه با ۹ نرون (۰/۳۹=MAE، ۰/۸۳=RMSE) و برای آموزش شبکه‌ای با ۳ نرون (۰/۴۷=MAE، ۰/۲۴=RMSE) در لایه پنهان بوده است.

در جدول (۳) برای شبکه در حالت بارگذاری دینامیکی بیشترین مقادیر آموزش و آزمون در یک لایه با نرون یکسان برای R^2 در شبکه‌ای با ۳ نرون (۰/۹۸=آموزش، ۰/۹۹=آزمون) در لایه‌های پنهان نشان داده شده است. البته این تعداد نرون در آموزش و آزمون نیز بیشترین میزان R^2 را به خود اختصاص داده‌اند.

نتایج و بحث

در جدول (۳) نتایج شبکه‌ها با نرون‌های مختلف نشان داده شده است. در جدول (۳) مقادیر به‌دست‌آمده برای MSE، RMSE، MAE و R^2 برای آموزش و آزمون شبکه نشان داده شده است. باتوجه به نتایج به‌دست‌آمده برای شبکه در حالت بارگذاری شبکه استاتیکی لبّه نازک بیشترین مقادیر آموزش و آزمون در یک لایه با نرون یکسان برای R^2 در شبکه‌ای با ۹ نرون (۰/۹۱=آموزش، ۰/۹۹=آزمون) در لایه‌های پنهان نشان داده شده است که این امر نشان‌دهنده همبستگی بالا بین داده‌های ورودی و خروجی شبکه است البته برای مقدار آموزش بهترین R^2 در شبکه‌ای با ۳ نرون (۰/۹۷=R²) و برای آزمون در شبکه با ۹ نرون (۰/۹۹=R²) در لایه پنهان مشاهده شده است. همچنین بهترین میزان MAE و RMSE برای مقدار آزمون در شبکه‌ای با ۹ نرون (۰/۵۸=MAE، ۰/۹۱=RMSE) و برای آموزش در شبکه با ۳ نرون (۰/۴۵=MAE، ۰/۱۰=RMSE) در لایه پنهان بوده است که این مقدار نشان‌دهنده اختلاف کم بین داده‌های ورودی و خروجی شبکه را نشان می‌دهد. همچنین شبکه‌ای با تعداد ۳ نرون (۰/۹۵=R²) در لایه پنهان برای آزمون و با ۵ نرون (۰/۸۲=R²) در لایه پنهان برای آموزش کمترین میزان R^2 را نشان داده است و این امر دقت پایین‌تر این شبکه با تعداد نرون در لایه‌های پنهان را نشان می‌دهد. و برای MAE و RMSE نیز ضعیفترین شبکه برای آزمون شبکه با ۳ نرون (۰/۱۱=MAE، ۰/۲۶=RMSE) و برای آموزش شبکه‌ای با ۵ نرون (۰/۱۹=MAE، ۰/۴۹=RMSE) در لایه پنهان بوده است.

امر دقت پایین‌تر این شبکه با تعداد نمون در لایه‌های پنهان را نشان می‌دهد. البته با توجه به میزان R^2 برای آزمون می‌توان بیان کرد که شبکه‌ها با تعداد نمون‌های ۳، ۵، ۷ و ۹ موفق به بررسی آزمون مناسب داده‌ها شده‌اند و برای MAE و RMSE نیز ضعیفترین شبکه برای آزمون شبکه با ۳ نمون ($MAE=3/55$, $RMSE=4/87$) و برای آموزش شبکه‌ای با ۷ نمون ($MAE=5/10$, $RMSE=9/59$) در لایه پنهان بوده است.

همچنین بهترین میزان MAE و RMSE برای مقدار آزمون در شبکه‌ای با ۷ نمون ($MAE=0/64$, $RMSE=1/004$) و برای آموزش در شبکه با ۳ نمون ($MAE=2/99$, $RMSE=2/23$) در لایه پنهان بوده است و این نزدیکی نشان‌دهنده مناسب‌بودن شبکه‌ها می‌باشد. همچنین شبکه‌ای با تعداد ۳ نمون ($R^2=0/95$) در لایه پنهان برای آزمون و با ۷ نمون ($R^2=0/85$) در لایه پنهان برای آموزش کمترین میزان R^2 را نشان داده است و این

جدول ۳- بعضی از بهترین توپولوژی‌های شبکه عصبی MLP برای پیش‌بینی آموزش و آزمون شبکه

۹ نمون در لایه مخفی		بارگذاری شبکه استاتیکی - فشار لبّه نازک				۳ نمون در لایه مخفی			
آزمون	آموزش	آزمون	آموزش	آزمون	آموزش	آزمون	آموزش		
۰/۸۴	۱۴/۸۳	۱۹/۹۱	۵/۱۱	۴/۵۰	۲۰/۲۴	۸۴/۷۶	۲/۱۰	MSE	
۰/۹۱	۳/۸۵	۴/۴۶	۲/۲۶	۲/۱۲	۴/۴۹	۹/۲۰	۱/۴۵	RMSE	
۰/۵۸	۲/۸۲	۳/۷۲	۱/۴۵	۱/۳۲	۳/۱۹	۹/۱۱	۰/۳۱	MAE	
۰/۹۹	۰/۹۱	۰/۶۹	۰/۹۵	۰/۹۹	۰/۸۲	-۰/۹۵	۰/۹۷	R^2	
بارگذاری شبکه استاتیکی - فشار لبّه پهن									
۱۴/۶۷	۱۰/۸۴	۳/۳۶	۸۵/۴۷	۱/۱۷	۴۴/۷۵	۳/۸۵	۲۰/۹/۵۲	MSE	
۳/۸۳	۳/۲۹	۱/۸۳	۹/۲۴	۱/۰۸	۶/۶۹	۱/۹۶	۱۴/۴۷	RMSE	
۲/۳۴	۲/۱۰	۱/۳۸	۷/۱۲	۱/۰۴	۴/۴۶	۱/۴۸	۸/۲۴	MAE	
۰/۹۹	۰/۹۵	۰/۹۵	۰/۸۶	۰/۹۹	۰/۹۱	۰/۹۷	۰/۶۴	R^2	
بارگذاری دینامیکی									
۲۰/۴۰	۷۸/۳۱	۱/۰۰۸	۹۲/۰۰	۱۴/۳۵	۲۵/۴۷	۲۳/۷۶	۸/۹۹	MSE	
۴/۵۱	۸/۸۴	۱/۰۰۴	۹/۵۹	۳/۷۸	۵/۰۴	۴/۸۴	۲/۹۹	RMSE	
۳/۴۵	۵/۲۱	۰/۶۴	۵/۱۰	۲/۳۴	۳/۸۲	۳/۵۵	۲/۲۳	MAE	
۰/۹۸	۰/۸۸	۰/۹۵	۰/۸۵	۰/۶۷	۰/۹۴	۰/۹۹	۰/۹۸	R^2	

(تعداد نمون‌ها=۹، سیکل یادگیری=۱۳) بارگذاری شبکه استاتیکی لبّه پهن (تعداد نمون‌ها=۷، سیکل یادگیری=۲۲) و برای بارگذاری دینامیکی (تعداد نمون‌ها=۷، سیکل یادگیری=۲۰) به دست‌آمده است. همچنین برای بهترین یادگیری برای داده‌های اعتبارسنجی برای بارگذاری شبکه استاتیکی لبّه نازک در اجرای ۳ (تعداد نمون‌ها=۹، سیکل یادگیری=۱) و در بارگذاری شبکه استاتیکی لبّه پهن در اجرای ۳ (تعداد نمون‌ها=۷، سیکل یادگیری=۴) و برای بارگذاری دینامیکی در اجرای ۳ (تعداد نمون‌ها=۷، سیکل یادگیری=۲۰) مشاهده شده است.

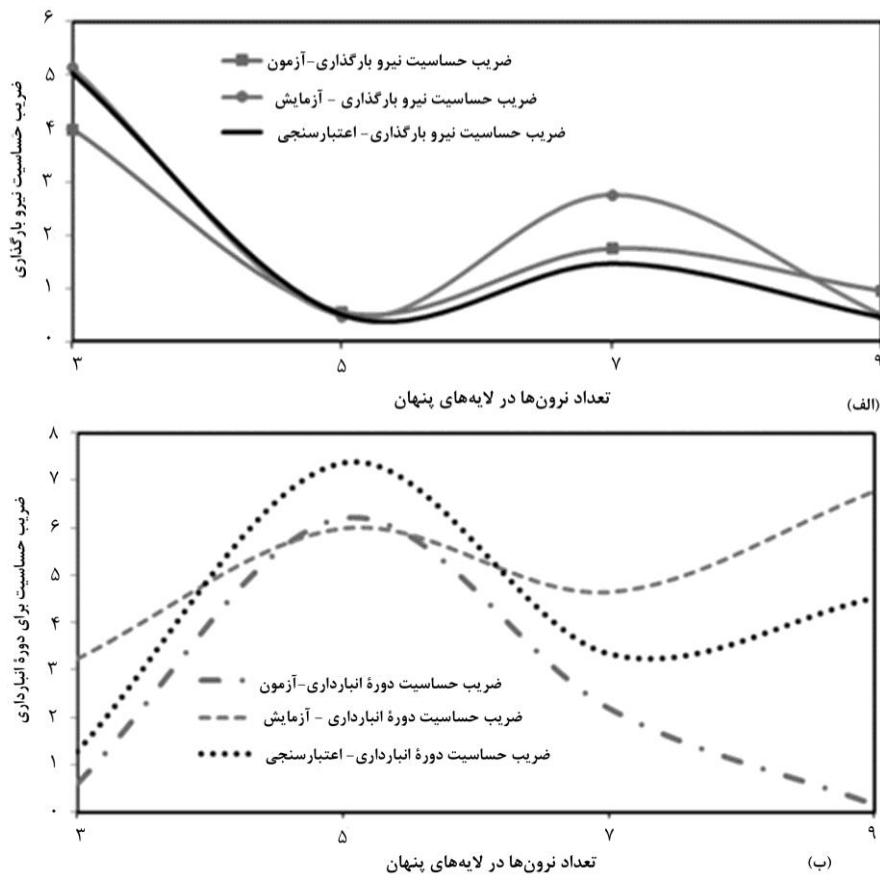
در جدول (۴) بهترین میزان اجرا و سیکل یادگیری برای هریک از تعداد نمون‌ها در لایه‌های مخفی نشان داده شده است. با توجه به نتایج بدست‌آمده می‌توان مشاهده کرد که تمامی تعداد نمون‌ها در لایه‌های مخفی برای شبکه‌های بارگذاری شبکه استاتیکی لبّه نازک، بارگذاری شبکه استاتیکی لبّه پهن و بارگذاری دینامیکی در اجرای ۱ به بهترین میزان آموزش برای دیتاها دست پیدا کرده‌اند که این تعداد اجرای پایین نشان‌دهنده یادگیری سریع شبکه برای این بارگذاری‌ها بوده است. کمترین میزان سیکل یادگیری برای بارگذاری شبکه استاتیکی لبّه نازک

جدول ۴- برخی از توپولوژی‌های شبکه عصبی MLP برای پیش‌بینی مقادیر آموزش و ارزشیابی مقادیر

۹ نرون در لایه مخفی	بارگذاری شبکه استاتیکی - فشار لبه نازک			۳ نرون در لایه مخفی			
	۵ نرون در لایه مخفی			۷ نرون در لایه مخفی			
	آموزش	اعتبارسنجی	آموزش	اعتبارسنجی	آموزش	اعتبارسنجی	
۳	۱	۲	۱	۱	۱	۴	
۱	۱۳	۵	۱۸	۳	۴۳	۱۳	
بارگذاری شبکه استاتیکی - فشار لبه پهن							
۵	۱	۳	۱	۴	۱	۴	
۱۰	۳۴	۴	۲۲	۱۳	۳۷	۱۵	
بارگذاری دینامیکی							
۳	۱	۳	۱	۲	۱	۴	
۷	۴۰	۲۱	۲۰	۱۹	۳۷	۷۵	
سیکل یادگیری			اجرا			سیکل یادگیری	

برای اعتبارسنجی مشاهده شده است. برای نیروی بارگذاری نیز بیشترین میزان ضریب حساسیت در شبکه‌ای با تعداد ۳ نرون در لایه پنهان مشاهده شده است. با توجه به نتایج بهدست آمده در شبکه با ۳ نرون در لایه پنهان ضریب حساسیت برای نیروی بارگذاری بیشتر از دوره انبارداری بوده است اما در شبکه با ۵، ۷ و ۹ نرون در لایه پنهان میزان حساسیت برای دوره انبارداری بیشتر از نیروی بارگذاری محاسبه شده است.

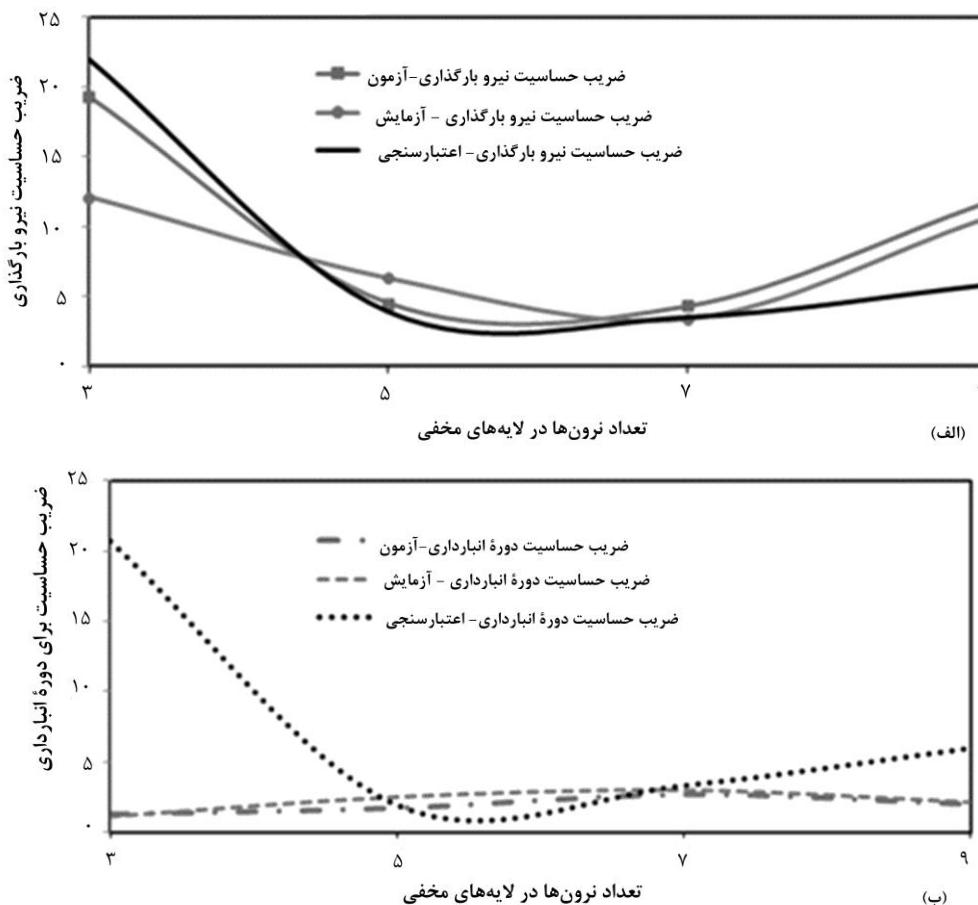
همچنین جهت تعیین میزان تأثیر فاکتور نیروی بارگذاری و دوره انبارداری بر میزان درصد پوسیدگی میوه، آزمون حساسیت انجام شد و نتایج این آزمون در شکل‌های (۶)، (۷) و (۸) نشان داده شده است. شکل (۶) ضریب حساسیت برای درصد پوسیدگی در بارگذاری شبکه استاتیکی لبه نازک نشان داده است که با توجه به شکل برای دوره انبارداری بیشترین ضریب حساسیت در تعداد ۹ نرون در لایه پنهان برای آزمون و آموزش و در ۵ نرون



شکل ۶- ضریب حساسیت درصد پوسیدگی بارگذاری شبکه استاتیکی لبه نازک برای دوره انبارداری و نیروی بارگذاری

آموزش در شبکه‌ای با تعداد ۳ نرون در لایه پنهان مشاهده شده است. در مجموع باتوجه به نتایج به دست آمده می‌توان بیان کرد که ضریب حساسیت نیروی بارگذاری برای شبکه‌هایی با تعداد نرون ۳، ۵، ۷ و ۹ بیشتر از ضریب حساسیت دوره انبارداری بوده است.

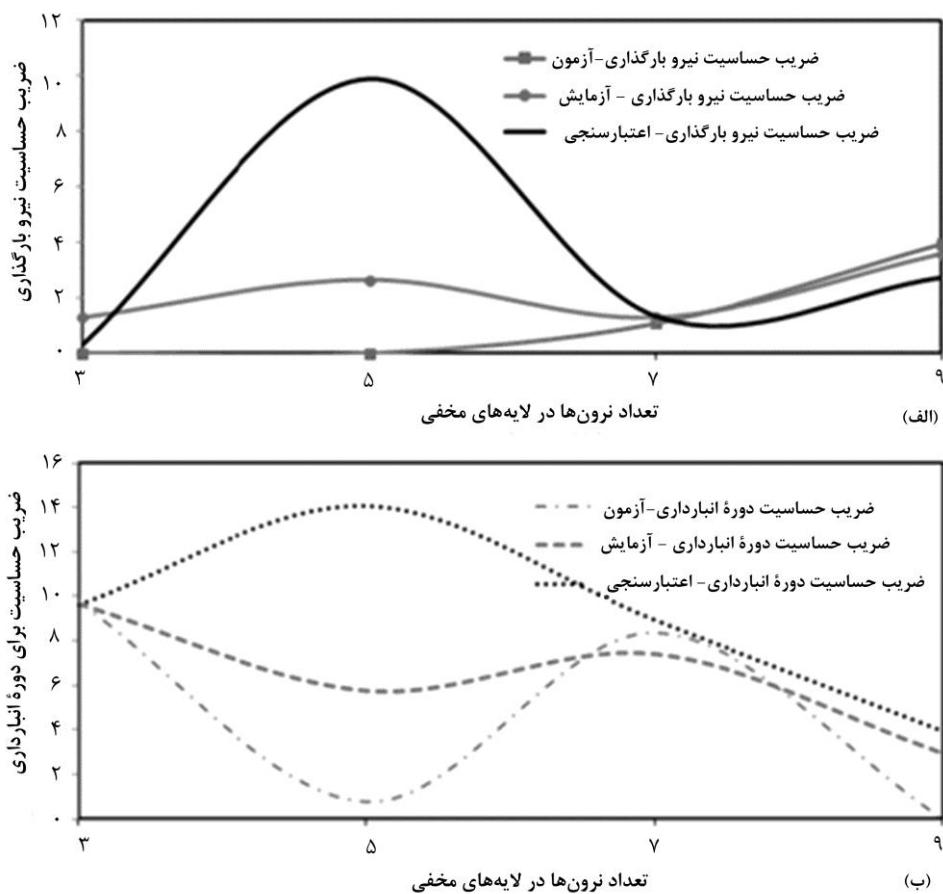
شکل (۷) ضریب حساسیت برای درصد پوسیدگی در بارگذاری شبه استاتیکی لب پهنه نشان داده است. باتوجه به شکل (۷) برای دوره انبارداری بیشترین ضریب حساسیت در تعداد ۳ نرون در لایه پنهان برای اعتبارسنجی و در ۷ نرون برای آزمون و آموزش مشاهده شده است. برای نیروی بارگذاری نیز بیشترین میزان ضریب حساسیت برای اعتبارسنجی، آزمون و



شکل ۷- ضریب حساسیت درصد پوسیدگی بارگذاری شبه استاتیکی لب پهنه برای دوره انبارداری و نیروی بارگذاری

نتایج به دست آمده می‌توان بیان کرد که ضریب حساسیت دوره انبارداری برای شبکه‌هایی با تعداد نرون ۳، ۵، ۷ و ۹ بیشتر از ضریب حساسیت نیروی بارگذاری ضربه‌ای بوده است.

شکل (۸) ضریب حساسیت برای درصد پوسیدگی در بارگذاری دینامیکی نشان داده است. باتوجه به شکل (۸) برای دوره انبارداری بیشترین ضریب حساسیت در تعداد ۵ نرون در لایه پنهان برای اعتبارسنجی و در ۳ نرون برای آزمون و آموزش مشاهده شده است. برای نیروی بارگذاری نیز بیشترین میزان ضریب حساسیت برای اعتبارسنجی، در تعداد ۵ نرون در لایه مخفی و برای آزمون و آموزش در شبکه‌ای با تعداد ۹ نرون در لایه پنهان مشاهده شده است. در مجموع باتوجه به



شکل ۸ - ضریب حساسیت درصد پوسیدگی بارگذاری دینامیکی برای دوره انبارداری و نیروی بارگذاری

- در حالت بارگذاری شبه استاتیکی لبه نازک بهترین شبکه برای ضریب حساسیت نیروی بارگذاری با ۳ نرون و برای دوره انبارداری شبکه‌ای با ۵ نرون بوده است که بیشترین ضریب حساسیت را نشان داده است.
- برای حالت بارگذاری شبه استاتیکی لبه پهن ضریب حساسیت برای نیروی بارگذاری در ۳ نرون بهترین مقدار بوده است و تقریباً برای دوره انبارداری ضریب حساسیت یکسانی بهدست آمده است و تفاوتی بین تعداد نرون‌ها برای پیش‌بینی حساسیت این مقدار مشاهده نشده است.
- در حالت بارگذاری دینامیکی با استفاده از تعداد ۹ نرون در لایه پنهان بیشترین ضریب حساسیت برای نیروی بارگذاری بهدست آمد. برای دوره انبارداری نیز بیشترین ضریب حساسیت در ۹ نرون مشاهده شده است.
- برای حالت بارگذاری شبه استاتیکی برای ضریب حساسیت نیروی بارگذاری بهترین شبکه با ۳ نرون در لایه پنهان است.
- با توجه به نتایج بهدست آمده برای سیکل یادگیری می‌توان نتیجه گرفت که یادگیری شبکه برای درصد پوسیدگی بسیار سریع بوده است و شبکه عصبی قوانایی مناسبی برای

نتیجه‌گیری

- بهترین R^2 شبکه برای آموزش و آزمون برای حالت‌های بارگذاری شبه استاتیکی لبه نازک، بارگذاری شبه استاتیکی لبه پهن با تعداد ۹ نرون در لایه‌های مخفی بهدست آمده است و برای بارگذاری دینامیکی بهترین مقدار در شبکه‌ای با ۳ نرون در لایه مخفی بهدست آمده است.
- بهترین مقدار MAE و RMSE برای آموزش و آزمون برای حالت‌های بارگذاری شبه استاتیکی لبه نازک بهتری در شبکه‌ای با ۳ و ۹ نرون در لایه پنهان و در حالت بارگذاری شبه استاتیکی لبه پهن بهتری در تعداد ۹ و ۷ نرون و برای بارگذاری دینامیکی بهترین مقدار بهتری در شبکه‌ای با ۳ و ۷ نرون در لایه‌های پنهان بهدست آمده است.
- بهترین یادگیری آموزش شبکه در اجرای ۱ برای تمامی حالت‌های بارگذاری بهدست آمده است. کمترین مقدار سیکل یادگیری در حالت بارگذاری شبه استاتیکی لبه نازک در تعداد ۹ نرون و برای بارگذاری شبه استاتیکی لبه پهن و بارگذاری دینامیکی در تعداد ۷ نرون در لایه پنهان بوده است.

انبارداری مختلف را در حد قابل قبولی برای گلابی داشته است.

آموزش درصد پوسیدگی داشته است و همچنین با توجه به مقدار R^2 و RMSE می‌توان گفت شبکه عصبی توانایی پیش‌بینی درصد پوسیدگی را در بارگذاری و دوره‌های

منابع

- Azadbakht, M., Aghili, H., Ziaratban, A., & Torshizi, M. V. (2017). Application of artificial neural network method to exergy and energy analyses of fluidized bed dryer for potato cubes. *Energy*, 120, 947-958. doi:<https://doi.org/10.1016/j.energy.2016.12.006>
- Azadbakht, M., Torshizi, M. V., Ziaratban, A., & Ghajarjazi, E. (2016). Application of Artificial Neural Network (ANN) in predicting mechanical properties of canola stem under shear loading. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*, 18(2), 413-425.
- Balogun, W. A., Salami, M.-J. E., Aibinu, A. M., Mustafah, Y. M., & Isiaka.B.S, S. (2014). Mini Review: Artificial Neural Network Application on Fruit and Vegetables Quality Assessment. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 5(6), 702-708.
- Chakespari, A., Rajabipour, A., & Mobli, H. (2010). Mass modeling of two apple varieties by geometrical attributes. *Australian Journal of Agricultural Engineering*, 1(3), 112.
- Diels, E., van Dael, M., Keresztes, J., Vanmaercke, S., Verboven, P., Nicolai, B., . . . Smeets, B. (2017). Assessment of bruise volumes in apples using X-ray computed tomography. *Postharvest Biology and Technology*, 128, 24-32. doi:<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.01.013>
- Fathi, M., Mohebbi, M., & Razavi, S. M. A. (2011). Application of image analysis and artificial neural network to predict mass transfer kinetics and color changes of osmotically dehydrated kiwifruit. *Food and Bioprocess Technology*, 4(8), 1357-1366. doi:<https://doi.org/10.1007/s11947-009-0222-y>
- Ganiron, T. U. (2014). Size properties of mangoes using image analysis. *International Journal of Bio-Science and Bio-Technology*, 6(2), 31-42.
- Hernández-Sánchez, N., Moreda, G. P., Herre-ro-Langreo, A., & Melado-Herreros, Á. (2016). Assessment of internal and external quality of fruits and vegetables. In N. Sozer (Ed.), *Imaging Technologies and Data Processing for Food Engineers. Food Engineering Series* (pp. 269-309): Springer, Cham.
- Khoshnevisan, B., Rafiee, S., Omid, M., & Yousefi, M. (2013). Prediction of environmental indices of Iran wheat production using artificial neural networks. *International Journal of Energy & Environment*, 4(2).
- Kolniak-Ostek, J. (2016). Identification and quantification of polyphenolic compounds in ten pear cultivars by UPLC-PDA-Q/TOF-MS. *Journal of Food Composition and Analysis*, 49, 65-77. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.04.004>
- Kotwaliwale, N., Singh, K., Kalne, A., Jha, S. N., Seth, N., & Kar, A. (2014). X-ray imaging methods for internal quality evaluation of agricultural produce. *Journal of Food Science and Technology*, 51(1), 1-15. doi:<https://doi.org/10.1007/s13197-011-0485-y>
- Liu, Y., & Ying, Y. (2007). Noninvasive method for internal quality evaluation of pear fruit using fiber-optic FT-NIR spectrometry. *International Journal of Food Properties*, 10(4), 877-886. doi:<https://doi.org/10.1080/10942910601172042>
- Massah, J., Hajiheydari, F., & Haddad, D. (2017). Application of Electrical Resistance in Nondestructive Postharvest Quality Evaluation of Apple Fruit. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 19, 1031-1039.
- Pan, L., Zhang, Q., Zhang, W., Sun, Y., Hu, P., & Tu, K. (2016). Detection of cold injury in peaches by hyperspectral reflectance imaging and artificial neural network. *Food Chemistry*, 192, 134-141. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.106>
- Pérez-Jiménez, J., & Saura-Calixto, F. (2015). Macromolecular antioxidants or non-extractable polyphenols in fruit and vegetables: Intake in four European countries. *Food Research International*, 74, 315-323. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.05.007>
- Rostampour, V., Motlagh, A. M., Komarizadeh, M. H., Sadeghi, M., Bernousi, I., & Ghanbari, T. (2013). Using Artificial Neural Network (ANN) technique for prediction of apple bruise damage. *Australian Journal of Crop Science*, 7(10), 1442.
- Wang, Z., Hu, M., & Zhai, G. (2018). Application of deep learning architectures for accurate and rapid detection of internal mechanical damage of blueberry using hyperspectral transmittance data. *Sensors*, 18(4), 1126. doi:<https://doi.org/10.3390/s18041126>
- Zarifneshat, S., Rohani, A., Ghassemzadeh, H. R., Sadeghi, M., Ahmadi, E., & Zarifneshat, M. (2012). Predictions of apple bruise volume using artificial neural network. *Computers and Electronics in Agriculture*, 82, 75-86. doi:<https://doi.org/10.1016/j.compag.2011.12.015>

Application of Artificial Neural Network and Non-Destructive CT scan Test in Estimating the Amount of Pear Bruise Due To External Loads

Mohsen Azadbakht^{1*}, Mohammad Vahedi Torshizi²

1- Associate Professor, Department of Bio-System Mechanics, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

* Correspondence author (azadbakht@gau.ac.ir)

2- Master Student, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Abstract

Pear damage is one of the main causes of the loss of fruit quality. Bruises occur during dynamic and quasi-static loading, which causes damage to the healthy tissue of the fruit. In this research, pears were placed under quasi-static loading (thin edge and wide edge) and dynamic loading. Then they were stored in 5, 10 and 15 days and after each storage period, using the CT-Scan non-destructive technique the bruise percentage was estimated. In this study, multi-layer perceptron artificial neural network (MLP) by 2 hidden layers and 3, 5, 7 and 9 neurons hidden layers was selected for modeling of loading force and storage period to predict bruise rate. The highest R² values for training and testing for quasi-static loading of thin edge and wide edge in a 9-neural network were training Thin-edge=0.91, test Thin-edge =0.99 and training Wide-edge=0.95, test Wide-edge =0.99. For the dynamic loading of a network with 3 neurons in the hidden layer has the highest value (training Wide-edge=0.98, test Wide-edge =0.99). For learning (9 neurons) quasi-static loading thin edge (7 neurons) quasi-static loading wide edge and dynamic loading (7 neurons) have been the best network. According to the results obtained for R², RMSE and learning cycle, it can be said that the neural network has the ability to predict the bruise percentage to an acceptable level for pears.

Keywords: Loading, Neural Network, Nondestructive Method, Pear Bruising

به کارگیری تبدیل موجک تصاویر برای درجه‌بندی کیفی چای سبز به کمک الگوریتم‌های فرآیندی

عادل بخشی‌پور زیارتگاهی^۱، حماد ذرعی فروش^{۱*}، ایرج باقری^۱

۱- استادیار، گروه مهندسی مکانیزاسیون کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

(hemad.zareiforoush@guilan.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۵/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۱۱

واژه‌های کلیدی
الگوریتم‌های فرآیندی
بافت تصویر
پردازش تصویر
تبدیل موجک

این مطالعه با هدف بررسی بهترین مشخصه‌های استخراج شده از تصاویر برای تعیین بهترین روش طبقه‌بندی کیفی چای سبز توسط الگوریتم‌های فرآیندی انجام شد. ۵ طبقه مختلف چای سبز مطابق با استاندارد سازمان ملی استاندارد ایران ارزیابی شدند. پس از دریافت تصاویر گروههای مختلف چای سبز در رایانه، تعداد ۶ بلوک تصویر مربعی از هر کدام از تصاویر رنگی اولیه جدا شدند. این بلوک‌های تصویر از حالت RGB به تصاویر سطح خاکستری تبدیل شدند. فیلتر موجک گستته هار سطح اول روی تصاویر خاکستری اعمال شد و ۴ زیرتصویر موجکی استخراج شدند. ماتریس‌های همرخداد برای هر کدام از تصاویر زیرباند موجک محاسبه شدند و ۱۷ ویژگی بافتی پرکاربرد در مطالعه‌های بافتی تصویر، از تصاویر زیرباندها استخراج شدند (مجموعاً ۶۸ ویژگی بافتی برای هر بلوک تصویر). با استفاده از آنالیز مؤلفه‌های اصلی، تعداد ۸ ترکیب ویژگی از ویژگی‌های اولیه تولید شدند و برای جداسازی ۵ گروه چای سبز استفاده شدند. نتایج نشان داد که الگوریتم‌هایی از شبکه‌های عصبی مصنوعی، ماشین‌بردار پشتیبان و درخت تصمیم، قادر به طبقه‌بندی کیفی چای سبز با دقت بالایی بودند. در حالی که شبکه بیزین عملکرد قابل قبولی نداشت. با توجه به آماره‌های ارزیابی، شبکه‌های عصبی مصنوعی پرسپکتورون چندلایه (با مقادیر آماره کاپا، ریشه میانگین مربعات خطأ و دقت طبقه‌بندی بهترین برابر با ۰/۹۰۱، ۰/۴۲۰ و ۰/۹۹۶ درصد) به عنوان بهترین طبقه‌بندی انتخاب شد. براساس نتایج این پژوهش، استفاده از ماشین‌بینایی و ویژگی‌های بافتی مستخرج از زیرباندهای موجک تصاویر، روش مناسبی برای طبقه‌بندی کیفی چای سبز می‌باشد.

حدود ۳۲۰ هزار هکتار است که عمدها در استان گیلان مرتمرکز بوده و بخش کمی نیز در استان مازندران قرار گرفته است. براساس گزارش Ministry of Agriculture-^۱ (۱۷)، میزان تولید چای کشور در سال ۱۳۹۵ برابر با ۳۱/۳ هزار تن بوده است. با توجه به نوع عملیات فراوری که پس از برداشت برگ‌های سبز چای انجام می‌شود، انواع مختلف

مقدمه

چای یکی از نوشیدنی‌های محبوب در سرتاسر جهان است که پس از فراوری برگ سبز گیاه چای^۱ به دست می‌آید. چای در ایران به عنوان یکی از محصولات استراتژیک منطقه شمال کشور شناخته شده است که دارای تاریخچه‌ای ۱۲۰ ساله می‌باشد. سطح زیر کشت چای

^۱ *Camellia Sinensis*

پردازش تصویر در ارزیابی کیفی محصولات غذایی توسعهٔ فراوانی یافته و در پژوهش‌های مختلفی مورد استفاده قرار گرفته است (Al Ohali, 2011; Benalia *et al.*, 2016; Liming & Yanchao, 2010; Mery, Pedreschi, & Soto, 2013; Payman, Bakhshipour, & Zareiforoush, 2018; Sabancı, Toktas, & Kayabasi, 2017; Semary, Tharwat, Elhariri, & Hassanien, 2015).

یکی از بخش‌های مهم هر سیستم ماشین بینایی، بخش تصمیم‌گیری سیستم می‌باشد که براساس پارامترهای استخراج شده از تصاویر و با توجه به اهداف سیستم ماشین بینایی، به تصمیم‌گیری می‌پردازد. یکی از روش‌های مورد استفاده برای تصمیم‌گیری در ماشین بینایی، تکنیک داده‌کاوی^۳ است. داده‌کاوی با استفاده از ترکیبی از روش‌های تجزیه و تحلیل سنتی داده‌ها مانند روش‌های آماری و الگوریتم‌های پیچیده جدید مانند هوش مصنوعی، به استخراج الگوها و ارتباط‌های معنی‌دار جدید، از میان حجم زیادی از داده‌ها می‌پردازد (Farooqi, 2012). روش‌ها و الگوریتم‌های مختلفی برای داده‌کاوی در سامانه‌های ماشین بینایی برای طبقه‌بندی کیفی مواد غذایی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. از جمله این روش‌ها می‌توان به شبکه‌های عصبی مصنوعی^۴ (ANN) (Sanaeifar, Mohtasebi, Ghasemi-Varnamkhasti, & Wang & Liu, 2014)، شبکه بیزین^۵ (BN) (Siadat, 2014 Nouri-) (SVM)^۶ (Ahmadabadi, Omid, Mohtasebi, & Firouz, 2017 Velásquez, Cruz-Tirado, 2017 DT) درخت تصمیم^۷ (Siche, & Quevedo, 2017) اشاره کرد.

در پژوهشی، طبقه‌بندی کیفی برنج با استفاده از ماشین بینایی و به کارگیری^۸ روش طبقه‌بندی فرالبتکاری^۹ مختلف شامل شبکه عصبی مصنوعی، شبکه بیزین، ماشین‌بردار پشتیبان و درخت تصمیم انجام شد. تصاویری از^{۱۰} طبقه کیفی متفاوت برنج توسط یک سامانه ماشین بینایی تهیه شد و پس از انجام پیش‌پردازش و بخش‌بندی تصویر، ویژگی‌های رنگی و ابعادی از تصاویر

چای به دست می‌آید که مهم‌ترین انواع آن، چای سیاه، چای سبز، و چای اولانگ^۱ می‌باشند (Hayat, Iqbal, & Malik, Bilal, & Mushtaq, 2015).

یکی از ابتدایی‌ترین و مهم‌ترین عملیات‌های فراوری محصولات کشاورزی، درجه‌بندی کیفی محصولات است. این مرحله از آن جهت اهمیت می‌باشد که درجه‌بندی کیفی این محصولات باعث افزایش ارزش افزوده محصول گردیده و برای خریداران امکان انتخاب محصولی منطبق بر نیاز خود را فراهم می‌کند.

عمولاً ارزیابی کیفی چای به صورت آزمون حسی توسط افراد خبره انجام می‌شود که نمونه‌های چای را براساس عطر، رنگ، بافت و خواص مورفولوژیکی ارزیابی می‌کنند (Liang, Lu, Zhang, Wu, & Wu, 2005). این نوع بازرگانی اگرچه مؤثر می‌باشد اما زمان بر، گران و خسته‌کننده است. از سوی دیگر، نتایج ارزیابی حسی می‌تواند تحت تأثیر شرایط جسمانی و روانی شخص Yu, Wang, Yao, Zhang, & Yu, 2008) بنابراین استفاده از روش‌های سریع، قابل اطمینان و با صحت و دقت زیاد در ارزیابی و کنترل کیفیت چای بسیار حائز اهمیت است.

در پژوهش‌های مختلف، برخی از روش‌های جدید مانند کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) (He *et al.*, 2015), تجزیه و تحلیل شیمیایی (Diniz, Pistonesi, 2015 Alvarez, Band, & de Araújo, 2015 Diniz, Barbosa, de Melo Milanez, Pistonesi, & de Chen, Zhao, 2016), و بینی و زبان الکترونیکی (Araújo, 2016 Chen, Lin, & Zhao, 2011; Roy, Chattopadhyay, Tudu, Bhattacharyya, & Bandyopadhyay, 2014 به طور موفقیت‌آمیزی برای طبقه‌بندی چای استفاده شده‌اند. اما این روش‌ها مخرب، گران و تقریباً پیچیده هستند.

تکنولوژی ماشین بینایی با تقلید از سامانه بینایی موجودات زنده، امکان تشخیص و شناسایی اشیا را فراهم می‌آورد و هدف از کاربرد آن، جایگزینی نظارت ماشینی به جای نظارت انسانی می‌باشد (Ezadi, 2013). در سال‌های اخیر، کاربرد ماشین بینایی و تکنیک‌های

³ Data mining

⁴ Artificial Neural Networks

⁵ Bayesian Network

⁶ Support Vector Machine

⁷ Decision Tree

⁸ Meta-heuristic

¹ Oolong tea

² High Performance Liquid Chromatography

بافتی مستخرج از ماتریس هم‌رخداد سطح خاکستری (GLCM^۷) مورد بررسی قرار گرفتند و بهترین دقت طبقه‌بندی ماشین‌بردار پشتیبان برابر با ۹۶/۳۳ درصد گزارش شد.

بررسی‌های انجام‌شده در پژوهش‌های پیشین، هیچ مطالعه‌ای درباره مقایسه روش‌های طبقه‌بندی و استراتژی‌های انتخاب ویژگی و داده‌کاوی برای طبقه‌بندی کیفی چای سبز براساس ویژگی‌های مستخرج از ماشین بینایی وجود ندارد. بنابراین این مطالعه با هدف بررسی بهترین مشخصه‌های تصویر استخراج‌شده توسط روش‌های داده‌کاوی مختلف برای بررسی بهترین روش طبقه‌بندی نمونه‌های چای سبز انجام شده است.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه‌ها

نمونه‌های چای سبز مورد استفاده در این مطالعه از یکی از کارخانه‌ای فراوری چای شهرستان لاهیجان در استان گیلان دریافت شدند. ۵ طبقه کیفی مختلف از چای سبز مطابق با استاندارد ارائه شده توسط استاندارد ملی ایران به شماره ۵۳۶۰ (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۰) موردنرسی قرار گرفتند. جزئیات بیشتر این گروه‌ها در جدول (۱) ارائه شده است. تصاویر نمونه‌های چای سبز مورد بررسی در این پژوهش، در شکل (۱) نمایش داده شده‌اند.

دانه‌های برنج استخراج گردید. نتایج نشان داد که شبکه عصبی مصنوعی بهترین عملکرد (۹۸/۷۲ درصد) را در طبقه‌بندی کیفی دانه‌های برنج براساس خصوصیات Zareiforoush, Minaei, (2016). در پژوهش دیگری، از روش‌های داده‌کاوی بهمنظور طبقه‌بندی کیفی ۴ درجه مختلف چای سیاه براساس خصوصیات مستخرج از تصاویر استفاده شد. مقدایر مرتبط با ویژگی‌های رنگ و بافت تصویر و نیز ویژگی‌های آماری زیرباندهای تبدیل موجک از تصاویر نمونه‌های چای استخراج شدند. از دو روش انتخاب ویژگی^۱ مختلف شامل روش انتخاب ویژگی مبتنی بر همبستگی (CFD^۲) و آنالیز مؤلفه اصلی (PCA^۳) برای کاهش تعداد ویژگی‌های ورودی به طبقه‌بنددهای شد. سپس ویژگی‌های انتخاب شده به طبقه‌بنددهای مختلف داده شد. در این پژوهش نیز شبکه عصبی مصنوعی بهترین دقت طبقه‌بندی را داشت Bakhshipour, Sanaifar, Payman, & de la Guardia, (2018).

Wu, He, Liu, Yu (2011) به طبقه‌بندی ۶ گروه مختلف از چای سبز براساس ویژگی‌های رنگی و بافتی و با استفاده از طبقه‌بندی ماشین‌بردار پشتیبان بر پایه حداقل مربعات^۴ (LSSVM) پرداختند. ترکیب‌های مختلف از مؤلفه‌های رنگی در فضای قرمز، سبز و آبی (RGB^۵) و فضای رنگی رنگ، اشباع و شدت (HSI^۶) و نیز ویژگی‌های

جدول ۱- مشخصات گروه‌های کیفی چای مورد بررسی در این پژوهش

نام فارسی	نام انگلیسی	علامت اختصاری
چای سبز قلم	Green Orange Pekoe	GOP
چای سبز شکسته ممتاز	Green Flowery Broken Orange Pekoe	GFBOP
چای سبز شکسته	Green Broken Orange Pekoe	GBOP
چای سبز باروتی	Green Broken Orange Pekoe Fannings	GBOPF
چای سبز خاکه	Green Dust	GD

^۱ Feature selection

^۲ Correlation-based Feature Selection

^۳ Principal Component Analysis

^۴ Least Squares Support Vector Machine

^۵ Red, Green, Blue (RGB)

^۶ Hue, Saturation, Intensity (HSI)



شکل ۱- تصاویر نمونه‌های چای سبز مورد بررسی در این پژوهش؛ (الف) چای سبز قلم، (ب) چای سبز شکسته ممتاز، (پ) چای سبز شکسته، (ت) چای سبز باروتی، (ث) چای سبز خاکه

قرار گرفت و تصاویر در حالت فلاش خاموش^۳ و ایزو^۴ ۱۰۰ تهیه شدند.

نمونه‌های چای سبز روی یک سطح سفید و مات (مقوای سفید غیروغنی) قرار داده شدند و دوربین عمود بر سطح نمونه‌ها و در فاصله ۳۰ سانتی‌متری آنها نصب شده و عملیات عکس‌برداری انجام شد. ۸ تصویر رنگی (RGB) با بزرگنمایی یکسان برای هر درجه کیفی چای سبز تهیه شد.

پردازش تصاویر و استخراج ویژگی‌ها
پس از دریافت عکس‌های گروه‌های مختلف چای سبز در رایانه، تعداد ۶ بلوک تصویر مربعی با ابعاد 600×600 پیکسل از هرکدام از تصاویر رنگی اولیه جدا شدند (مجموعاً تعداد ۴۸ بلوک تصویر برای هر درجه کیفی چای سبز) و برای عملیات پردازشی بعدی مورد استفاده قرار گرفتند.

برای هر گروه کیفی چای تعداد ۸ نمونه 150 ± 5 گرمی تهیه شد. بهمنظور پیش‌گیری از ایجاد هرگونه تغییر ظاهری و کیفی در نمونه‌های چای، نمونه‌ها تا زمان داده‌برداری در محفظه‌های پلاستیکی در بسته و در دمای ۲۵-۲۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. همچنین برای جلوگیری از خردشدن نمونه‌های چای، بسته‌ها از اعمال فشارهای فیزیکی خارجی محافظت شدند.

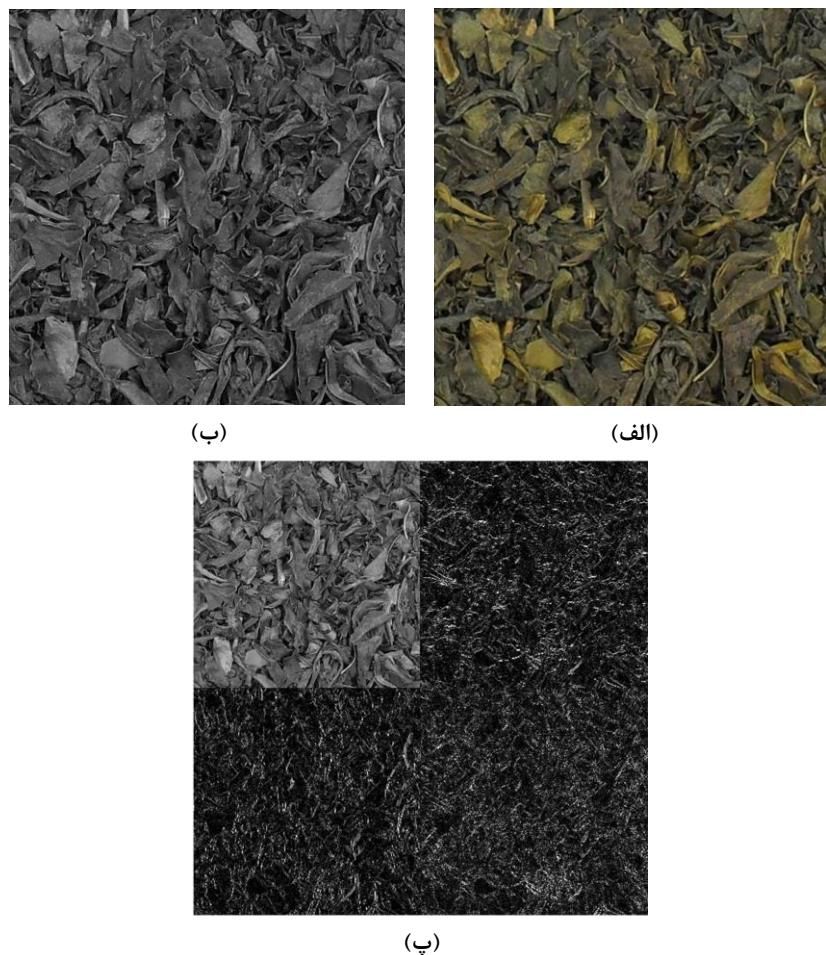
تهیه تصاویر نمونه‌های چای سبز
بخش‌های اصلی سامانه تصویربرداری استفاده شده در این پژوهش شامل اتاقک نورپردازی مناسب برای کنترل شرایط نور محیط در هنگام عکس‌برداری، یک دوربین دیجیتال^۱ CCD (مدل Canon IXUS 960IS)، ساخت ژاپن) با وضوح ۱۲ مگاپیکسل برای تهیه تصاویر رنگی (RGB)، و یک رایانه شخصی (PC^۲) بهمنظور دریافت و نمایش تصاویر بود. تنظیمات دوربین روی حالت دستی

³ Flash off
⁴ ISO

¹ Charge-Coupled Device
² Personal Computer

(زیرتصویر تقریب^۵، زیرتصویر بیانگر جزئیات عمودی^۶، زیرتصویر بیانگر جزئیات افقی^۷ و زیرتصویر بیانگر جزئیات قطری^۸) استخراج شدند (شکل ۲-ج). در مرحله بعد، ماتریس‌های هم‌رخداد^۹ برای هر کدام از تصاویر زیرباند موجک محاسبه شدند و ۱۷ ویژگی آماری^{۱۰} پرکاربرد در مطالعه‌های بافتی تصویر، برای هر کدام از تصاویر زیرباندها با استفاده از اطلاعات ماتریس‌های هم‌رخداد استخراج شدند.

به منظور استخراج ویژگی‌های آماری از زیرباندهای تبدیل موجک در تصاویر نمونه‌های چای، از جعبه‌ابزار پردازش تصویر نرم‌افزار MATLAB (نسخه ۲۰۱۷a) استفاده شد. در ابتدا این تصاویر از حالت RGB به تصاویر مقیاس خاکستری^۱ تبدیل شدند (شکل ۲-ب). سپس به منظور انتقال تصاویر خاکستری به حوزه فرکانس و استخراج تصاویر موجکی، فیلتر موجک هار^۲ به عنوان ساده‌ترین تبدیل موجک روی تصاویر خاکستری اعمال شد و ^۴ زیرتصویر^۳ حاصل از تبدیل موجک مرتبه اول



شکل ۲- (الف) تصویر رنگی چای سبز، (ب) تصویر مقیاس خاکستری چای سبز، (پ) زیرباندهای تبدیل موجک مرتبه اول

^۵ Approximation image

^۶ Vertical coefficients sub-image

^۷ Horizontal coefficients sub-image

^۸ Diagonalcoefficients sub-image

^۹ Co-occurrence matrices

^{۱۰} Statistical texture features

^۱ Grey-scale images

^۲ Haar Wavelet

^۳ Sub-image

^۴ First level wavelet transform

از ۴ نوع طبقه‌بندی مختلف پرکاربرد بهمنظور طبقه‌بندی چای سبز براساس بردارهای ویژگی استخراج شده آنالیز مؤلفه‌های اصلی استفاده شدند که عبارت بودند از درخت تصمیم، شبکه بیزین، شبکه‌های عصبی مصنوعی و ماشین بردار پشتیبان (Mollazade, Omid, & Arefi, 2012; Vlontzos & Pardalos, 2017; Zareiforoush *et al.*, 2016).

درخت تصمیم یک روش داده‌کاوی است که نتایج طبقه‌بندی را در یک ساختار مشابه درخت ارائه می‌دهد. برگ‌های میانی درخت تصمیم نشان‌دهنده متغیرهای مؤثر در طبقه‌بندی و برگ‌های انتهایی نشان‌دهنده گروه‌ها هستند، شاخه‌های درخت تصمیم نیز قوانین را نشان می‌دهند (Maheshwari, Jain, & Khanna, 2015). بسته بهنحوه ایجاد ساختار درخت و کاهش خطأ، الگوریتم‌های مختلف درخت تصمیم وجود دارند که برخی از این الگوریتم‌ها در این پژوهش بهمنظور طبقه‌بندی نمونه‌های چای استفاده شدند. این الگوریتم‌ها عبارت بودند از کاهش خطای هرس^{۲۲} (REP)، درخت مدل لجستیک^{۲۳} (LMT)، درخت تصادفی^{۲۴} (RT)، جنگل تصادفی^{۲۵} (RF) و J48 ارزیابی شدند. این الگوریتم‌ها در منابع علمی مختلف تشریح شده‌اند (Chandra & Maheshkar, 2017; Granitto *et al.*, 2007; Landwehr, Hall, & Frank, 2005; Rajesh & Karthikeyan, 2017).

ماشین‌بردار پشتیبان^{۲۶} (SVM) یکی از روش‌های طبقه‌بندی خطی است. این طبقه‌بند بهترین ابرسطحی^{۲۷} را پیدا می‌کند که داده‌های مربوط به کلاس‌های مختلف را با حداقل فاصله^{۲۸}، از هم تفکیک کند (Wang, 2005). تابع هسته یک بخش کلیدی ماشین‌بردار پشتیبان است. توابع هسته الگوریتم‌هایی هستند که امکان تعیین روابط کلی بین متغیرها بهمنظور تعیین الگو برای طبقه‌بندی را فراهم می‌کنند (Bordoni *et al.*, 2018). در این پژوهش، الگوریتم‌های خطی، چندجمله‌ای و تابع پایه شعاعی^{۲۹} از ماشین‌بردار پشتیبان برای طبقه‌بندی چای سبز استفاده شدند. اصول و روابط مربوط به این توابع در

این ویژگی‌های آماری عبارت بودند از همبستگی خودکار^۱، کنتراست^۲، انتروپی^۳، انرژی^۴، همبستگی^۵، همگنی^۶، بی‌شباهتی^۷، گشتاور تفاضل معکوس^۸، حداقل احتمال^۹، سایه خوش^{۱۰}، برتری خوش^{۱۱}، مجموع مربعات^{۱۲}، مجموع میانگین‌ها^{۱۳}، مجموع واریانس‌ها^{۱۴}، مجموع آنتروپی^{۱۵}، تفاضل آنتروپی^{۱۶} و تفاضل واریانس^{۱۷} Bakhsipour *et al.*, 2018; Gonzalez & Woods, 2002; Haralick & Shanmugam, 1973; Majumdar & Jayas, 1999; Park & Chen, 2001 ۱۷ ویژگی آماری از هر کدام از ۴ زیرباند موجک، مجموعاً ۶۸ ویژگی آماری از هر نمونه چای سبز استخراج شدند.

آنالیز داده‌ها

بهمنظور بررسی ارتباط داده‌های بافتی استخراج شده از زیرباندهای موجک با درجه کیفی نمونه‌های چای سبز، این داده‌ها در نرم‌افزار یادگیری ماشین وکا^{۱۸} فراخوانی شده و مورد تحلیل قرار گرفتند. از آنجاکه تعداد ویژگی‌های ورودی بسیار زیاد بود، از روش آنالیز مؤلفه‌های اصلی^{۱۹} (PCA) برای کاهش ویژگی^{۲۰} استفاده شد. آنالیز مؤلفه‌های اصلی، ترکیب‌هایی خطی (بردارهای ویژگی^{۲۱}) از ویژگی‌های اولیه را ایجاد می‌کند بهطوری‌که این بردارهای ویژگی نسبت به هم عمود بوده و حداقل مقدار تغییر داده‌ها را دربرمی‌گیرند (Jolliffe, 2011). در این پژوهش، با اعمال ۸ ترکیب خطی ویژگی تولید شد که برای انجام عملیات طبقه‌بندی توسط طبقه‌بندها مورد استفاده قرار گرفتند.

¹ Autocorrelation

² Contrast

³ Entropy

⁴ Energy

⁵ Correlation

⁶ Homogeneity

⁷ Dissimilarity

⁸ Inverse difference moment

⁹ Maximum Probability

¹⁰ Cluster shade

¹¹ Cluster prominence

¹² Sum of squares

¹³ Sum of averages

¹⁴ Sum of variances

¹⁵ Sum of entropy

¹⁶ Difference of entropy

¹⁷ Difference of variance

¹⁸ WEKA machine learning software

¹⁹ Principal Components Analysis

²⁰ Feature reduction

²¹ Feature vectors

²² Reduced-Error Pruning

²³ Logistic Model Tree

²⁴ Random Tree

²⁵ Random Forest

²⁶ Support Vector Machine

²⁷ Hyper plane

²⁸ Maximum margin

²⁹ Radial Basis Function

لجستیک (LMT)، درخت تصادفی (RT)، جنگل تصادفی (RF) و J48 ارزیابی شدند. با توجه به جدول (۲) الگوریتم درخت تصمیم LMT با مقدار RMSE برابر با ۰/۰۵۸۱ آماره کاپا برابر با ۰/۹۸۹۶ دارای کمترین میزان خطای طبقه‌بندی و بیشترین میزان انطباق نتایج طبقه‌بندی با مشاهده‌های واقعی بود. درخت تصمیم با الگوریتم LMT توانست ۵ گروه چای سبز را با دقت کلی معادل ۹۹/۱۷ درصد طبقه‌بندی نماید که نشان‌دهنده قابلیت بالای درخت تصمیم در طبقه‌بندی کیفی چای براساس خصوصیات بافتی زیرباندهای موجک تصاویر می‌باشد.

جدول ۲ - نتایج طبقه‌بندی الگوریتم‌های مختلف درخت تصمیم برای طبقه‌بندی چای سبز

الگوریتم درخت تصمیم	آماره کاپا	RMSE	دقت (درصد)
REP	۰/۷۸	۰/۲۴	۸۲/۰۸
LMT	۰/۹۹	۰/۰۶	۹۹/۱۷
RT	۰/۷۴	۰/۲۹	۷۹/۱۷
RF	۰/۹۰	۰/۱۹	۹۲/۰۸
J48	۰/۸۱	۰/۲۴	۸۴/۵۸

ماتریس اختشاش طبقه‌بند LMT در جدول (۳) ارائه شده است. همان‌طوری که از جدول (۳) مشخص است،^۴ گروه کیفی چای سبز قلم، شکسته ممتاز، باروتی و خاکه، کاملاً از سایر گروه‌ها جداسازی شدند. درحالی که تنها در حدود ۴ درصد از نمونه‌های چای سبز شکسته به اشتباہ در گروه‌های چای سبز شکسته ممتاز و چای سبز قلم طبقه‌بندی شدند.

جدول ۳ - ماتریس اختشاش طبقه‌بند درخت تصمیم با الگوریتم LMT در طبقه‌بندی ۵ گروه چای سبز (داده‌ها به درصد)

GD	GBOPF	GBOP	GFBOP	GOP	درجة کیفی
.	.	.	.	۱۰۰	GOP
.	.	.	۱۰۰	.	GFBOP
.	.	۹۵/۸۴	۲/۰۸	۲/۰۸	GBOP
.	۱۰۰	.	.	.	GBOPF
۱۰۰	GD

مقاله‌ها توضیح داده شده‌اند (Ge et al., 2014; Yao et al., 2009).

طبقه‌بند شبکه بیزین نیز یک طبقه‌بند با ناظر است که از قانون شرط بیز برای جداسازی گروه‌های مختلف استفاده می‌کند. توضیحات جامع درمورد این الگوریتم طبقه‌بند در منابع علمی ارائه شده است (Garg, Pavlovic, & Huang, 2002; Ouali, Cherif, & Krebs, 2006).

برای ارزیابی طبقه‌بندها از اعتبارسنجی متقابل ۱۰ برابری^۱ استفاده گردید (Silva, Koga, Cugnasca, & Costa, 2013) و بهمنظور مقایسه روش‌های فوق از دو معیار ارزیابی، آماره کاپا^۲ و مجدد میانگین مربعات خطأ^۳ (RMSE) استفاده شدند. آماره کاپا میزان توافق بین نتایج طبقه‌بند و داده‌های تجربی را نشان می‌دهد (Dissing et al., 2013). مقدار RMSE نیز یک معیار پرکاربرد است که میزان تفاوت بین نتایج یک مدل پیش‌بینی با مقادیر واقعی مشاهده شده را نمایش می‌دهد (Stojanova, Panov, Gjorgjioski, Kobler, & Džeroski, 2010).

همچنین میزان دقت کلی طبقه‌بندی^۴ برای طبقه‌بندها براساس داده‌های ماتریس اختشاش^۵ و با استفاده از رابطه (۱) محاسبه شدن:

$$\text{رابطه (۱)}$$

$$\text{Accuracy} = \frac{TP + TN}{TP + FP + TN + FN}$$

در رابطه (۱)، TP ، TN ، FP و FN به ترتیب عبارت بودند از مقادیر مثبت صحیح^۶، مثبت کاذب^۷، منفی صحیح^۸ و منفی کاذب^۹ در ماتریس اختشاش می‌باشد.

نتایج و بحث

در جدول (۲) مقادیر آماره کاپا، RMSE و نیز دقت طبقه‌بندی ۵ گروه کیفی چای سبز توسط طبقه‌بند درخت تصمیم ارائه شده‌اند. ۵ الگوریتم مختلف از درخت تصمیم با نام‌های کاهش خطای هرس (REP)، درخت مدل

¹ 10-fold cross validation

² Kappa statistics

³ Root Mean Squared Error

⁴ Accuracy

⁵ Confusion matrix

⁶ True Positive

⁷ False Positive

⁸ True Negative

⁹ False Negative

باتوجه به آماره‌های کاپا و RMSE، شبکه عصبی پرسپترون چندلایه عملکرد بهتری را نسبت به شبکه تابع با پایه شعاعی داشت. دقت شبکه عصبی پرسپترون چندلایه برای جداسازی ۵ گروه چای سبز برابر با ۹۹/۱۷ درصد مشاهده شد. این دقت برابر با بیشترین دقت طبقه‌بندی درخت تصمیم LMT بود. هرچند مقادیر آماره‌های کاپا و RMSE مربوط به شبکه عصبی MLP بهتر از درخت تصمیم LMT بودند. ماتریس اغتشاش طبقه‌بند MLP در جدول (۶) ارائه شده است. در جدول (۶) مشاهده می‌شود که طبقه‌بند شبکه عصبی پرسپترون چندلایه در حدود ۲ درصد از نمونه‌های چای سبز قلم را به اشتباه به عنوان چای سبز شکسته طبقه‌بندی کرده و در حدود ۲ درصد از نمونه‌های چای سبز شکسته را نیز به عنوان چای سبز قلم طبقه‌بندی نموده است. سایر گروه‌های کیفی با دقت ۱۰۰ درصد جداسازی شده‌اند.

جدول ۶- ماتریس اغتشاش طبقه‌بند شبکه عصبی مصنوعی در طبقه‌بندی ۵ گروه چای سبز (داده‌ها به درصد)

GD	GBOPF	GBOP	GFBOP	GOP	درجه
					کیفی
.	.	۲/۰۸	.	۹۷/۹۲	GOP
.	.	.	۱۰۰	.	GFBOP
.	.	۹۷/۹۲	.	۲/۰۸	GBOP
.	۱۰۰	.	.	.	GBOPF
۱۰۰	GD

در ادامه، نتایج حاصل از طبقه‌بندی ۵ گروه چای سبز با استفاده از الگوریتم‌های خطی، چندجمله‌ای و تابع پایه شعاعی در ماشین‌بردار پشتیبان، در جدول (۷) ارائه شده‌اند (Schölkopf, Smola, & Bach, 2002). اصول تئوری این روش‌ها در منابع تشریح شده‌اند. باتوجه به مقادیر آماره‌های کاپا و RMSE، بهترین عملکرد در بین ۳ الگوریتم ماشین‌بردار پشتیبان متعلق به حالت خطی می‌باشد ($RMSE = ۰/۰۷$) و $RMSE = ۰/۹۸$ (کاپا). این طبقه‌بند توانست ۵ گروه چای سبز را با دقتی برابر با ۹۸/۷۵ درصد طبقه‌بندی نماید.

۵ الگوریتم مختلف شبکه بیزین با نام‌های تپه نوردي^۱ (HC)، شبیه‌سازی برودت^۲ (SA)، جستجوی تبو^۳ (TS)، K2 و بیزین ساده با درخت افزوده^۴ (TAN) موردارزیابی قرار گرفتند. اطلاعات کامل درمورد این الگوریتم‌ها توسط Bouckaert (۲۰۱۴) ارائه شده است. باتوجه به مقادیر پارامترهای ارزیابی (جدول ۴)، بهترین نتایج شبکه بیزین با الگوریتم‌های SA و TAN بدست آمد (دقت طبقه‌بندی برابر با ۷۹/۱۷ درصد). این نتایج نشان می‌دهد که شبکه بیزین مدل مناسبی برای طبقه‌بندی چای سبز براساس خصوصیات تصویر نمی‌باشد.

جدول ۴- نتایج طبقه‌بندی الگوریتم‌های مختلف شبکه بیزین برای طبقه‌بندی چای سبز

الگوریتم شبکه بیزین	آماره کاپا	RMSE	دقت (درصد)
HC	۰/۶۵	۰/۲۷	۷۲/۰۹
SA	۰/۷۴	۰/۲۵	۷۹/۱۷
TS	۰/۶۵	۰/۲۷	۷۲/۰۸
K2	۰/۶۵	۰/۲۷	۷۲/۰۸
TAN	۰/۷۴	۰/۲۵	۷۹/۱۷

دو ساختار مختلف شبکه عصبی مصنوعی برای طبقه‌بندی چای سبز استفاده شد که عبارت بودند از شبکه‌های عصبی پرسپترون چندلایه^۵ (MLP) و تابع با پایه شعاعی (RBF). مفاهیم این دو نوع شبکه منابع مختلف توضیح داده شده‌اند (Alrajeh & Alzohairy, 2012). نتایج طبقه‌بندی این دو شبکه در جدول (۵) نمایش داده شده‌اند.

جدول ۵- نتایج طبقه‌بندی ساختارهای مختلف شبکه‌های عصبی مصنوعی برای طبقه‌بندی چای سبز

نوع شبکه عصبی مصنوعی	آماره کاپا	توبولوژی	RMSE	دقت (درصد)
MLP	۸-۱۴-۵	۰/۹۹	۰/۰۴	۹۹/۱۷
RBF	۸-۹-۵	۰/۹۰	۰/۱۸	۹۱/۶۷

¹ Hill Climbing

² Simulated Annealing

³ Tabu Search

⁴ Tree Augmented Naive Bayes

⁵ Multi-Layer Perceptron

اشتباهی طبقه‌بندی شده‌اند که مقدار خطای طبقه‌بندی کمی را نشان می‌دهد. با توجه به این نتایج، عملکرد طبقه‌بند ماشین‌بردار پشتیبان نسبت به شبکه عصبی مصنوعی و درخت تصمیم، در جداسازی ۵ گروه چای سبز، ضعیفتر می‌باشد. همچنین، با توجه به جدول‌های (۲) (۸)، سه روش درخت تصمیم، شبکه‌های عصبی مصنوعی و ماشین‌بردار پشتیبان توانستند با دقت بالایی گروه‌های مختلف چای سبز را براساس ویژگی‌های بافت زیرباندهای تصویر، طبقه‌بندی نمایند. طبقه‌بند بیزین روش مناسبی برای طبقه‌بندی کیفی چای سبز نبود. همچنین با توجه به مقادیر دقت و آماره‌های کاپا و RMSE، روش شبکه عصبی مصنوعی پرسپترون چندلایه به عنوان بهترین طبقه‌بند در این مطالعه انتخاب شد.

جدول ۸- ماتریس اغتشاش طبقه‌بند ماشین‌بردار پشتیبان با الگوریتم خطی در طبقه‌بندی ۵ گروه چای سبز (داده‌ها به درصد)

GD	GBOPF	GBOP	GFBOP	GOP	درجه کیفی
.	.	۲/۰۸	.	۹۷/۹۲	GOP
.	.	۲/۰۸	۹۷/۹۲	.	GFBOP
.	.	۹۷/۹۲	.	۲/۰۸	GBOP
.	۱۰۰	.	.	.	GBOPF
۱۰۰	GD

در حالی که شبکه بیزین عملکرد قابل قبولی نداشت. با توجه به آماره‌های ارزیابی، شبکه عصبی مصنوعی پرسپترون چندلایه به عنوان بهترین طبقه‌بند انتخاب شد (آماره کاپا برابر با ۰/۰۹۹، مقدار RMSE برابر با ۰/۰۴ و دقت طبقه‌بندی برابر با ۹۹/۱۷ درصد). با توجه به نتایج این پژوهش، استفاده از ماشین بینایی و به کارگیری ویژگی‌های بافتی مستخرج از زیرباندهای موجک تصاویر چای سبز، معیارهای مناسبی برای طبقه‌بندی کیفی چای سبز می‌باشد.

جدول ۷- نتایج طبقه‌بندی الگوریتم‌های مختلف ماشین‌بردار پشتیبان برای طبقه‌بندی چای سبز

الگوریتم درخت تصمیم	آماره کاپا	RMSE	دقت (درصد)
خطی	۰/۹۸	۰/۰۷	۹۸/۷۵
چندجمله‌ای	۰/۹۷	۰/۱۰	۹۷/۵۰
RBF	۰/۷۹	۰/۲۴	۸۲/۹۲

با توجه به ماتریس اغتشاش مربوط به طبقه‌بند ماشین‌بردار پشتیبان با الگوریتم خطی که در جدول (۸) ارائه شده است، مشخص است که تنها گروه‌های چای سبز باروتی و خاکه کاملاً جداسازی شده‌اند و در حدود ۲ درصد از مقادیر هرکدام از سایر نمونه‌ها در گروه‌های

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، از تکنیک‌های پردازش تصویر به منظور طبقه‌بندی درجه‌های کیفی مختلف چای سبز براساس ویژگی‌های بافتی استخراج شده از زیرباندهای تبدیل موجک تصاویر استفاده شد. ۴ نوع مختلف از روش‌های طبقه‌بندی با الگوریتم‌های عملکردی متفاوت موردارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که الگوریتم‌هایی از شبکه‌های عصبی مصنوعی، ماشین‌بردار پشتیبان و درخت تصمیم با دقت بالایی موفق به طبقه‌بندی کیفی چای سبز شدند.

منابع

- Al Ohali, Y. (2011). Computer vision based date fruit grading system: Design and implementation. *Journal of King Saud University-Computer and Information Sciences*, 23(1), 29-36. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jksuci.2010.03.003>
- Alrajeh, K. M., & Alzohairy, T. A. (2012). Date fruits classification using MLP and RBF neural networks. *International Journal of Computer Applications*, 41(10), 36-41. doi:<https://doi.org/10.5120/5579-7686>
- Bakhshipour, A., Sanaeifar, A., Payman, S. H., & de la Guardia, M. (2018). Evaluation of Data Mining Strategies for Classification of Black Tea Based on Image-Based Features. *Food Analytical Methods*, 11(4), 1041-1050. doi:<https://doi.org/10.1007/s12161-017-1075-z>

- Benalia, S., Cubero, S., Prats-Montalbán, J. M., Bernardi, B., Zimbalatti, G., & Blasco, J. (2016). Computer vision for automatic quality inspection of dried figs (*Ficus carica L.*) in real-time. *Computers and electronics in agriculture*, 120, 17-25. doi:<https://doi.org/10.1016/j.compag.2015.11.002>
- Bordoni, M., Bittelli, M., Valentino, R., Chersich, S., Persichillo, M., & Meisina, C. (2018). Soil Water Content Estimated by Support Vector Machine for the Assessment of Shallow Landslides Triggering: the Role of Antecedent Meteorological Conditions. *Environmental Modeling & Assessment*, 23(4), 333-352. doi:<https://doi.org/10.1007/s10666-017-9586-y>
- Bouckaert, R. R. (2004). Bayesian network classifiers in weka.
- Chandra, S., & Maheshkar, S. (2017). Verification of static signature pattern based on random subspace, REP tree and bagging. *Multimedia Tools and Applications*, 76(18), 19139-19171. doi:<https://doi.org/10.1007/s11042-017-4531-2>
- Chen, Q., Zhao, J., Chen, Z., Lin, H., & Zhao, D.-A. (2011). Discrimination of green tea quality using the electronic nose technique and the human panel test, comparison of linear and nonlinear classification tools. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 159(1), 294-300. doi:<https://doi.org/10.1016/j.snb.2011.07.009>
- Diniz, P. H. G. D., Barbosa, M. F., de Melo Milanez, K. D. T., Pistonesi, M. F., & de Araújo, M. C. U. (2016). Using UV-Vis spectroscopy for simultaneous geographical and varietal classification of tea infusions simulating a home-made tea cup. *Food Chemistry*, 192, 374-379. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.022>
- Diniz, P. H. G. D., Pistonesi, M. F., Alvarez, M. B., Band, B. S. F., & de Araújo, M. C. U. (2015). Simplified tea classification based on a reduced chemical composition profile via successive projections algorithm linear discriminant analysis (SPA-LDA). *Journal of Food Composition and Analysis*, 39, 103-110. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.11.012>
- Dissing, B. S., Papadopoulou, O. S., Tassou, C., Ersbøll, B. K., Carstensen, J. M., Panagou, E. Z., & Nychas, G.-J. (2013). Using multispectral imaging for spoilage detection of pork meat. *Food and Bioprocess Technology*, 6(9), 2268-2279. doi:<https://doi.org/10.1007/s11947-012-0886-6>
- Ezadi, H. (2013). *Development of technology and evaluation of defect detection and tomato grading system using visual machine technology and neuro-fuzzy networks (ANFIS)*. (Unpublished Master's Degree in Agricultural Machinery Mechanics), Shiraz University, (in Persian)
- Farooqi, S. (2012). Data mining: An overview. *Indian Agricultural Statistics Research Institute (IASRI), Library Avenue, Pusa, New Delhi-110012*.
- Garg, A., Pavlovic, V., & Huang, T. S. (2002). *Bayesian networks as ensemble of classifiers*. Paper presented at the Object recognition supported by user interaction for service robots, 11-15 Aug. 2002.
- Ge, H., Jiang, Y., Xu, Z., Lian, F., Zhang, Y., & Xia, S. (2014). Identification of wheat quality using THz spectrum. *Optics express*, 22(10), 12533-12544. doi:<https://doi.org/10.1364/OE.22.012533>
- Gonzalez, R. C., & Woods, R. E. (2002). *Digital Image Processing*, Publishing House of Electronics Industry. *Beijing*, 295-300.
- Granitto, P. M., Biasioli, F., Aprea, E., Mott, D., Furlanello, C., Märk, T. D., & Gasperi, F. (2007). Rapid and non-destructive identification of strawberry cultivars by direct PTR-MS headspace analysis and data mining techniques. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 121(2), 379-385. doi:<https://doi.org/10.1016/j.snb.2006.03.047>
- Haralick, R. M., & Shanmugam, K. (1973). Textural features for image classification. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics*, 3(6), 610-621. doi:<https://doi.org/10.1109/TSMC.1973.4309314>
- Hayat, K., Iqbal, H., Malik, U., Bilal, U., & Mushtaq, S. (2015). Tea and its consumption: benefits and risks. *Critical reviews in food science and nutrition*, 55(7), 939-954. doi:<https://doi.org/10.1080/10408398.2012.678949>
- He, X., Li, J., Zhao, W., Liu, R., Zhang, L., & Kong, X. (2015). Chemical fingerprint analysis for quality control and identification of Ziyang green tea by HPLC. *Food chemistry*, 171, 405-411. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.026>
- Jolliffe, I. (2011). *Principal component analysis*. International encyclopedia of statistical science: Springer, Berlin, Heidelberg.
- Landwehr, N., Hall, M., & Frank, E. (2005). Logistic model trees. *Machine learning*, 59(1-2), 161-205. doi:<https://doi.org/10.1007/s10994-005-0466-3>
- Liang, Y., Lu, J., Zhang, L., Wu, S., & Wu, Y. (2005). Estimation of tea quality by infusion colour difference analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(2), 286-292. doi:<https://doi.org/10.1002/jsfa.1953>
- Liming, X., & Yanchao, Z. (2010). Automated strawberry grading system based on image processing. *Computers and Electronics in Agriculture*, 71(1), S32-S39. doi:<https://doi.org/10.1016/j.compag.2009.09.013>
- Maheshwari, C. V., Jain, N. K., & Khanna, S. (2015). Computer Vision Based Classification of Indian Gujarat-17 Rice Using Geometrical Features and Cart. In L. Jain, H. Behera, J. Mandal, & D. Mohapatra (Eds.), *Computational Intelligence in Data Mining-Volume 3. Smart Innovation, Systems and Technologies*, (Vol. 33, pp. 205-216): Springer, New Delhi.
- Majumdar, S., & Jayas, D. (1999). Classification of bulk samples of cereal grains using machine vision. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 73(1), 35-47. doi:<https://doi.org/10.1006/jaer.1998.0388>
- Mery, D., Pedreschi, F., & Soto, A. (2013). Automated design of a computer vision system for visual food quality evaluation. *Food and Bioprocess Technology*, 6(8), 2093-2108. doi:<https://doi.org/10.1007/s11947-012-0934-2>

- Ministry of Agriculture-Jihad: Planning & Economic Affairs. (2017). State of the Tea Industry Country Report. pp. 20. Retrieved from http://facility.maj.ir/Dorsapax/Data/Sub_46/File/3.pdf (in Persian)
- Mollazade, K., Omid, M., & Arefi, A. (2012). Comparing data mining classifiers for grading raisins based on visual features. *Computers and Electronics in Agriculture*, 84, 124-131. doi:<https://doi.org/10.1016/j.compag.2012.03.004>
- Nouri-Ahmabadi, H., Omid, M., Mohtasebi, S. S., & Firouz, M. S. (2017). Design, development and evaluation of an online grading system for peeled pistachios equipped with machine vision technology and support vector machine. *Information Processing in Agriculture*, 4(4), 333-341.
- Ouali, A., Cherif, A. R., & Krebs, M.-O. (2006). Data mining based Bayesian networks for best classification. *Computational statistics & data analysis*, 51(2), 1278-1292.
- Park, B., & Chen, Y. (2001). Co-occurrence matrix texture features of multi-spectral images on poultry carcasses. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 78(2), 127-140.
- Payman, S., Bakhshipour, A., & Zareiforoush, H. (2018). Development of an expert vision-based system for inspecting rice quality indices. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 10(1), 103-114.
- Rajesh, P., & Karthikeyan, M. (2017). A comparative study of data mining algorithms for decision tree approaches using WEKA tool. *Advances in Natural and Applied Sciences*, 11(9), 230-243.
- Roy, R. B., Chattopadhyay, P., Tudu, B., Bhattacharyya, N., & Bandyopadhyay, R. (2014). Artificial flavor perception of black tea using fusion of electronic nose and tongue response: A Bayesian statistical approach. *Journal of Food Engineering*, 142, 87-93. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.06.004>
- Sabancı, K., Toktas, A., & Kayabasi, A. (2017). Grain classifier with computer vision using adaptive neuro-fuzzy inference system. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(12), 3994-4000. doi:<https://doi.org/10.1002/jsfa.8264>
- SanaEIFAR, A., Mohtasebi, S. S., Ghasemi-Varnamkhasti, M., & Siadat, M. (2014, Nov). Application of an electronic nose system coupled with artificial neural network for classification of banana samples during shelf-life process. Paper presented at the 2014 International Conference on Control, Decision and Information Technologies (CoDIT).
- Schölkopf, B., Smola, A. J., & Bach, F. (2002). *Learning with kernels: support vector machines, regularization, optimization, and beyond*: MIT press.
- Semary, N. A., Tharwat, A., Elhariri, E., & Hassanien, A. E. (2015). Fruit-based tomato grading system using features fusion and support vector machine. In F. D. e. al. (Ed.), *Intelligent Systems' 2014. Advances in Intelligent Systems and Computing* (Vol. 323, pp. 401-410): Springer.
- Silva, L., Koga, M., Cugnasca, C., & Costa, A. (2013). Comparative assessment of feature selection and classification techniques for visual inspection of pot plant seedlings. *Computers and electronics in agriculture*, 97, 47-55. doi:<https://doi.org/10.1016/j.compag.2013.07.001>
- Stojanova, D., Panov, P., Gjorgjioski, V., Kobler, A., & Džeroski, S. (2010). Estimating vegetation height and canopy cover from remotely sensed data with machine learning. *Ecological Informatics*, 5(4), 256-266. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ecoinf.2010.03.004>
- Velásquez, L., Cruz-Tirado, J., Siche, R., & Quevedo, R. (2017). An application based on the decision tree to classify the marbling of beef by hyperspectral imaging. *Meat science*, 133, 43-50. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.06.002>
- Vlontzos, G., & Pardalos, P. M. (2017). Data mining and optimisation issues in the food industry. *International Journal of Sustainable Agricultural Management and Informatics*, 3(1), 44-64. doi:<https://doi.org/10.1504/IJSAMI.2017.082921>
- Wang, C.-F., & Liu, K. (2015). Learning Bayesian network classifier based on artificial fish swarm algorithm. *IAENG International Journal of Computer Science*, 42(4), 355-360.
- Wang, L. (2005). *Support vector machines: theory and applications* (Vol. 177): Springer Science & Business Media.
- Yao, Q., Guan, Z., Zhou, Y., Tang, J., Hu, Y., & Yang, B. (2009, May). Application of support vector machine for detecting rice diseases using shape and color texture features. Paper presented at the 2009 International Conference On Engineering Computation.
- Yu, H., Wang, J., Yao, C., Zhang, H., & Yu, Y. (2008). Quality grade identification of green tea using E-nose by CA and ANN. *LWT-Food Science and Technology*, 41(7), 1268-1273. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.08.018>
- Yu, X. J., Liu, K. S., He, Y., & Wu, D. (2011). Color and texture classification of green tea using least squares support vector machine (lssvm). Paper presented at the Key Engineering Materials.
- Zareiforoush, H., Minaei, S., Alizadeh, M. R., & Banakar, A. (2016). Qualitative classification of milled rice grains using computer vision and metaheuristic techniques. *Journal of Food Science and Technology*, 53(1), 118-131. doi:<https://doi.org/10.1007/s13197-015-1947-4>

Application of Image Wavelet Transform for Qualitative Classification of Green Tea Using Metaheuristic Algorithms

Adel Bakhshipour¹, Hemad Zareiforoush^{1*}, Iraj Bagheri¹

1- Assistant Professor, Department of Mechanization Engineering, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

* Corresponding author (hemad.zareiforoush@guilan.ac.ir)

Abstract

This study was aimed to investigate the best features extracted from images to determine the best technique for qualitative classification of green tea by using meta-heuristic algorithms. Five different classes of green tea were evaluated according to the standards of the Institute of Standards and Industrial Research of Iran. After receiving the images of different green tea classes in the computer, 6 square blocks were extracted from each of the original color images. These image blocks were transformed from RGB to gray scale images. One-level discrete Haar wavelet filter was applied to the gray images and 4 wavelet subimages were obtained. Co-occurrence matrices were calculated for each wavelet subimages and 17 common texture features in the image textural studies, were extracted from subimages (totally 68 texture features for each block image). By using principal component analysis, 8 feature components were produced from the original features and used for the separation of 5 groups of green tea. The results showed that algorithms of artificial neural networks, support vector machine and decision tree were capable of qualitative classification of green tea with high accuracy. However, Bayesian network did not have acceptable performance. According to the evaluation statistics, the multilayer perceptron artificial neural networks (with Kappa statistic, root mean square error and classification accuracy of 0.90, 0.42, and 99.17%, respectively) was the best classifier. Based on the results of this study, the use of machine vision and texture features extracted from image wavelet subimages is a suitable technique for the qualitative classification of green tea.

Keywords: Image Processing, Image texture, Meta-heuristic Algorithms, Wavelet transform

استفاده از جیره غذایی غنی‌شده با پودر تفاله لیمو برای پیشگیری از اکسیداسیون لیپیدی و پروتئینی ماهی کپور طی نگهداری در یخچال

الهام شعبانی^۱، امیر سالاری^{۲*}، داور شاهسونی^۳، حسن باغیشانی^۴

۱- دانشآموخته کارشناسی ارشد، گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- استادیار، گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

* نویسنده مسئول (a-salari@um.ac.ir)

۳- استاد، گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۴- دانشیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴/۰۶/۹۷

تاریخ پذیرش: ۱۷/۱۰/۹۷

واژه‌های کلیدی

اکسیداسیون پروتئینی

پودر تفاله لیمو

لیپید

ماهی کپور

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی تأثیر استفاده از جیره غذایی غنی‌شده با پودر تفاله لیمو بر اکسیداسیون چربی و پروتئین فیله ماهی کپور طی نگهداری در یخچال است. گروه ۱ ماهیان کپور به عنوان گروه شاهد، جیره پایه را دریافت کرد و گروه‌های ۲، ۳ و ۴ بدتریب ۵/۱، ۳ و ۵ درصد جیره غذایی پایه، پودر تفاله لیمو را دریافت کردند. بعد از پایان مطالعه (۴ هفته) ۱۰ ماهی از هر گروه به طور تصادفی صید شده و پس از خارج نمودن احشاء، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ روز نگهداری شدند و در زمان صید و طی زمان‌های نگهداری ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در یخچال، شاخص‌های اکسیداسیون لیپیدی و پروتئینی عضله ارزیابی شد. نتایج نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار شاخص‌های یادشده در گروه ۴ نسبت به سایر گروه‌های دیگر است ($P<0.05$). بنابراین، جیره غذایی حاوی ۵ درصد پودر تفاله لیموترش به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی در جیره غذایی ماهی کپور به منظور بهبود وضعیت اکسیداتیو و افزایش ماندگاری فیله طی نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد پیشنهاد می‌شود.

نسبت به گوشت قرمز، گوشت مرغ و غیره و بیماری‌های مشترک کمتری که بین انسان و ماهی دارد برتری فراوانی Pirouzbakht *et al.*, (2015) نسبت به انواع دیگر گوشت دارد (Pirouzbakht *et al.*, 2015). ماهی گونه کپور معمولی^۱، اصلی‌ترین گونه خانواده ماهیان کپور بوده و پرورش این ماهی نسبتاً آسان است. در محیط‌های آلوده آبی سازگاری می‌یابد و در برابر استرس، حمل و نقل و غلظت‌های پایین اکسیژن آب مقاوم است (Arlinghaus & Mehner, 2003).

مقدمه

نقش آبزیان در تغذیه انسان از گذشته‌های دور تا کنون کاملاً مورد توجه بوده است و این نیاز با توجه به افزایش روزافزون جمعیت و به تبع آن نیاز بیشتر به پروتئین چشم‌گیرتر می‌شود (Salehi, 2006). ماهی حدود ۲۰ درصد مجموع پروتئین‌های حیوانی موردنیاز بشر را تأمین می‌کند. گوشت ماهی به لحاظ دارابودن پروتئین حاوی اسیدهای آمینه ضروری و اسیدهای چرب چندغیراشعاعی و مواد معدنی و ویتامین‌های ضروری و هضم‌پذیری بیشتر

¹ Common carp

گوشت رخ می‌دهد. درنتیجه این اکسیداسیون گروههای کربونیل پروتئینی به عنوان بیومارکر اکسیداسیون پروتئین‌ها از طریق اکسیداسیون آمینواسیدها و یا از طریق واکنش ثانویه با محصولهای اولیه اکسیداسیون لیپیدها و قندها ایجاد می‌شوند (Ogino & Wang, 2007).

امروزه راهکارهای مختلفی برای به تعویق انداختن فساد اکسیداتیو ماهی و فراورده‌های آن نظیر کنترل درجه حرارت و کاهش آن، بسته‌بندی تحت خلا، بسته‌بندی در اتمسفر تغییریافته و همچنین افزودن آنتی‌اکسیدان به کار می‌رود (Lin & Lin, 2005).

با وجود ارزان و مؤثربودن آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی، در سال‌های اخیر گزارش‌هایی از تأثیرهای نامطلوب آنها نظیر مسمومیت، سرطان‌زاوی و جهش‌زاوی، استفاده از آنها را در مواد غذایی دچار تردید کرده است و از این‌رو به کارگیری آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بهمنزله جانشین آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی توصیه می‌شود. برخی تحقیق‌ها نشان داده است که کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی سیر (Devasagayam *et al.*, 2004) و ویتامین E (Mohebbi, 2013)، بتاکاروتون (Moghaddam, Baghshani, & Shahsavani, 2016) /سپیرو‌ولینا‌پلاتنسیس^۴ (Zarifmanesh, 2015) در جیره غذایی ماهی کپور معمولی به‌طور معنی‌داری مؤثر بوده است ($P < 0.05$) و باعث کاهش آسیب‌های اکسیداتیو شده است.

در سال‌های اخیر توجه زیادی به پسماندهای کارخانه‌های تولیدکننده آبمیوه و کنسانتره که حاوی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند، معطوف شده است. با توجه به ارزش تغذیه‌ای بالای تفاله لیموترش از یکسو و تولید حجم عظیم آن و مشکلات زیست‌محیطی به‌دلیل تخمیر سریع تفاله و دفع نامطلوب آن در محیط‌زیست از سوی دیگر، سبب شده است تا محققان و صنایع تبدیلی بالادستی، در فراوری و استفاده از ترکیبات مغذی و سلامتی‌بخش تفاله اقدامات مهمی را به عمل آورند. یکی از این کاربردها استفاده از این تفاله در خوراک دام است (Papoutsis *et al.*, 2016).

گیاه لیموترش^۵ از خانواده روتاسه^۶ و بومی مناطق

ماهیان و فراورده‌های آنها با وجود ارزش غذایی بالا، در برابر فساد اکسیداتیو بسیار حساس‌اند و ویژگی‌های کیفی آنها طی نگهداری در اثر فساد باکتریایی و اکسیداتیو Alibeyghi, Alizadeh Doughkollaee, & Zakipour Rahim Abadi, 2013 کاهش می‌یابد (Firouznejad, Ghanei-Motlagh, & Ghanei-Motlagh, 2013). فرایند تخریب و ارزش کیفیت گوشت ماهی پس از مرگ در مرحله اول توسط آنزیم‌های عضلانی و در مرحله دوم به‌وسیله آنزیم‌های میکروبی ایجاد می‌شود. روندهای اکسیداتیو مهم‌ترین فاکتورهای مسئول افت کیفیت، طعم، رنگ و Ghanei-Motlagh, 2013) غذیه‌ای گوشت هستند (.

ثبت اکسیداتیو گوشت وابسته به توازن بین آنتی‌اکسیدان‌ها، پراکسیدان‌ها و میزان سوپرترهای اکسیداسیون شامل اسیدهای چرب غیراشباع، پروتئین‌ها، کلسترول و رنگدانه‌ها می‌باشد. آسیب اکسیداتیو درنتیجه عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و خنثی‌سازی آنها به‌وسیله مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی ایجاد می‌گردد. رادیکال‌های آزاد گونه‌های فعال اکسیژن^۱ و گونه‌های فعل نیتروژن^۲ می‌توانند بر لیپیدها، پروتئین‌ها و دی‌ان‌ای اثر سوء‌بگذارند.

اکسیداسیون لیپیدها باعث تشکیل رادیکال آزاد و هیدروپراکسید و محصولات اولیه اکسیداسیون می‌شود که بعد از تبدیل شدن به محصولات ثانویه اکسیداسیون نظیر آلدهیدها و کتون‌ها باعث ایجاد بدطعمی و بدرنگی در گوشت می‌شوند. علاوه‌بر این، اکسیداسیون چربی‌ها بر دناتوراسیون پروتئین‌ها و کاهش عملکرد و حلالیت آنها تأثیر دارد، از این‌رو ضمن افت کیفیت، زمان ماندگاری گوشت نیز کاهش می‌یابد (Eymard, Baron, & Jacobsen, 2009).

مالون‌دی‌آلدهید^۳ (MDA) با وزن مولکولی پایین، یکی از فراوان‌ترین آلدهیدهایی است که درنتیجه اکسیداسیون لیپیدی و به عنوان بیومارکر این نوع اکسیداسیون بشمار می‌رود (Celi, 2010). این ترکیب بسیار سمی است و واکنش آن با دی‌ان‌ای و پروتئین‌ها معمولاً سرطان‌زاست (Del Rio, Stewart, & Pellegrini, 2005).

اکسیداسیون پروتئین‌ها نیز در اثر استرس اکسیداتیو

⁴ *Spirulina platensis*

⁵ *Citrus limon*

⁶ Rutaceae

¹ Reactive Oxygen Species (ROS)

² Reactive Nitrogen Species (RNS)

³ Malondialdehyde

اندازه‌گیری اسانس‌های فوار روغنی تفاله لیموترش این آزمون براساس روش استاندارد AOAC (۲۰۰۳) انجام شد. اسانس‌گیری با روش تقطیر با آب و بهوسیله دستگاه کلونجر (طرح فارماکوپه انگلستان، ساخت ایران) صورت گرفت و بر اثر اختلاف چگالی آب (۱/۰۰۰ گرم بر میلی‌لیتر) با چگالی اسانس لیموترش (حدود ۰/۸۵۵ ۰/۸۵۱ گرم بر میلی‌لیتر)، عمل جداسازی انجام شد. سپس اسانس جداسده لیمو جهت آزمایش بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

تعیین ترکیبات مؤثرة اسانس تفاله لیموترش آنالیز شیمیایی ترکیبات مؤثرة اسانس تفاله لیمو توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی-طیفسنج جرمی (مدل 7890A Agilent Technologies، ساخت آمریکا) ارزیابی شد. نمونه‌ها بهوسیله سولفات سدیم بی‌آب، خشک و بهوسیله ۱ میلی‌لیتر نرمال هگزان رقیق شدند. پس از مخلوط کردن کامل نمونه با حلال، ۱ میکرولیتر از آن به دستگاه کروماتوگرافی گازی شامل دستگاه طیفسنج جرمی بود. دمای قسمت تزریق نمونه ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و گاز مورد استفاده، هلیم (۹۹/۹۹ درصد) با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود. سیستم در حالت تقسیم^۵ با نسبت تقسیم^۶ ۱:۱۰۰ تنظیم شده بود. ستون دستگاه از نوع مویینه با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر بود. پس از انجام تزریقات و بدست آوردن کروماتوگرام نمونه، شناسایی و تعیین مقدار هریک از ترکیبات با استفاده از طیفسنج جرمی آنها انجام شد. تعیین نوع ماده ورودی به طیفسنج جرمی براساس داده‌های کتابخانه وایلی صورت گرفت (Wiley Registry, 1999). همچنین تعیین ترکیبات اسانس با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی براساس استاندارد ملی ایران Institute of Standards and Industrial Research of Iran [ISIRI], 1992 (Research of Iran [ISIRI], 1999) انجام شد.

طرح آزمایش و نمونه‌گیری از ماهی تعداد ۱۲۰ ماهی کپور معمولی^۷ سالم و تقریباً هماندازه با وزنی حدود 60 ± 10 گرم تهیه و بعد از ضدعفونی این ماهیان، بهطور تصادفی به ۴ گروه ۳۰ تایی تقسیم شدند.

آسیاست (Mabberley, 1997). تفاله لیموترش به طور عمده شامل پوست، هسته و بقایای پالپ حاصل از آب‌گیری می‌باشد. پوست لیموترش دارای یک پوسته خارجی^۱ به نام فلاودو^۲ و یک پوسته سفید و اسفنجی داخلی^۳ به نام آلبیدو^۴ می‌باشد (Salari, & Heidari, 2006).

ترکیبات فعال‌زیستی میوه لیمو، ترکیبات فنولیک (مهمنترین فلاونوئیدها)، ویتامین‌ها (اسید آسکوربیک، بیوتین، اسیدفولیک، پیریدوکسین، اینوزیتول و غیره)، مواد معدنی، فیبر رژیمی (پکتین)، روغن‌های اسانسی، کاروتونوئیدها و لیمونوئیدها می‌باشند (González-Molina, Domínguez-Perles, Moreno, & García-Viguera, 2010). ویتامین C و فلاونوئیدها با خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدسرطانی و فعالیت کنندگی محافظت در برابر بیماری‌های قلبی-عروقی و عصبی، باعث بهبود وضعیت سلامت می‌شوند (Mcharek & Hanchi, 2017).

ماهی از همان لحظه‌های بعد صید، شروع به واکنش‌های فسادپذیر می‌کند. هدف از سردکردن ماهی، افزایش مدت‌زمان ماندگاری آن با کاهش سرعت فعالیت آنزیم‌ها و باکتری‌ها و کاهش آسیب‌های شیمیایی و فیزیکی است.

اکسیداسیون لیپیدی مهمنترین واکنش شیمیایی ایجادشده در تخریب کیفیت ماهی طی نگهداری در یخچال است (Alinasabhematabadi, 2015). اندازه‌گیری مقادیر مالون دی‌آلدید (بیومارکر اکسیداسیون لیپیدی) و گروه‌های کربونیل (بیومارکر اکسیداسیون پروتئینی) به عنوان روش‌های رایج آزمایشگاهی در اندازه‌گیری میزان اکسیداسیون مطرح می‌باشند (Rumley & Paterson, 1998).

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی و خشک‌کردن تفاله لیمو

تفاله لیموترش از واحدهای فراوری لیمو تهیه و پس از جداسازی هسته، در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) با رطوبت نسبی ۷۵ درصد بهوسیله سیرکولاسیون طبیعی هوا خشک شد. سپس نمونه‌ها با دستگاه آسیاب برقی، آسیاب و مخلوط همگنی از آن تهیه شد.

¹ Epicarp

² Flavedo

³ Mesocarp

⁴ Albedo

⁵ Split

⁶ Split Ratio

⁷ *Cyprinus carpio*

موج ۵۳۲ نانومتر سنجش گردید. ضریب جذب مولی ۱۵۶۰۰۰ بر مول-سانتی‌متر برای محاسبه غلظت استفاده شد (Latha & Pari, 2003).

سنجش کربونیل

میزان گروه‌های کربونیل پروتئین‌ها، به عنوان شاخصی از اکسیداسیون پروتئین‌ها مورد استفاده قرار گرفت. در آزمون سنجش کربونیل میزان گروه‌های کربونیل پروتئین‌ها در عصارة بافتی تهیه شده بر پایه واکنش با ۲ و ۴ دی‌نیتروفنیل هیدرازین^۲ سنجش گردید. برای انجام این آزمایش مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصارة بافتی تهیه شده در داخل ۲ سری میکروتیوب ریخته شد و سپس به هر میکروتیوب ۱ سی‌سی تری‌کلرواستیک اسید ۱۰ درصد اضافه گردید. سپس این نمونه‌ها سانتریفیوژ شده و پس از آن پروتئین‌های تهنشین شده جهت تعیین میزان گروه‌های کربونیل استفاده شد. برای این‌منظور به سری اول میکروتیوب‌ها ۱ سی‌سی محلول ۰/۲ درصد دی‌نیتروفنیل هیدرازین (در اسید‌کلریدریک ۲ مولار) و به سری دوم میکروتیوب‌ها ۱ سی‌سی اسید‌کلریدریک ۲ مولار اضافه شد. محتويات مخلوط و به مدت ۱ ساعت در محیط تاریک قرار داده شدند. پس از این مدت به همه میکروتیوب‌ها ۰/۵ سی‌سی تری‌کلرواستیک اسید ۱۰ درصد اضافه شد و مجدداً سانتریفیوژ گردید. پس از سانتریفیوژ، پروتئین‌های تهنشین شده با محلول اتانول-اتیل استات شستشو شدند و مایع رویی دور ریخته شد و سپس به همه میکروتیوب‌ها ۱/۵ سی‌سی محلول گوانیدین هیدروکلراید (۶ مولار) در بافر فسفات ۲۰ میلی‌مولار اضافه شد و سپس جذب نوری محتويات در طول موج ۳۷۰ نانومتر سنجش شد. ضریب جذب مولی ۲۲۰۰ بر مول-سانتی‌متر برای محاسبه غلظت استفاده شد (Jiang et al., 2010).

تجزیه و تحلیل آماری

همه آزمایش‌ها براساس طرح کاملاً تصادفی انجام شد و برای آنالیز آماری داده‌ها از آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمون مقایسه‌ای دانکن برای مقایسه میانگین‌ها مورد استفاده قرار گرفت. سطح معنی‌داری با دقت ($P < 0.05$) در نظر گرفته شد. در تمامی موارد نتایج براساس میانگین و خطای معیار میانگین بیان شد.

درجه حرارت آب در طول آزمایش برای تمام گروه‌ها 21 ± 1 درجه سانتی‌گراد و میزان اکسیژن محیط $5/5 \pm 0.5$ در pH آن $7/5 \pm 0.5$ در نظر گرفته شد. میزان غذای موردنیاز هم به طور روزانه تهیه شد و ماهیان در دو نوبت صبح و عصر تغذیه شدند. گروه ۱ به عنوان شاهد جیره پایه را دریافت کرد. در جیره غذای گروه ۲، ۳ و ۴ به ترتیب $1/5$ ، 3 و 5 درصد پودر تفاله لیمو اضافه شد. مدت زمان انجام مطالعه تجربی ۴ هفته بوده که بعد از پایان این مدت ۱۰ ماهی از هر گروه به صورت تصادفی صید شدند. ماهیان پس از خروج احشا و انجام سرزنشی، دمزنی و فلس‌گیری، با سرم فیزیولوژی مورد شستشو شدند. میزان گرفتند و به منظور نگهداری داخل بسته‌های پلاستیکی زیپ‌دار قرار داده شده و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۳ روز نگهداری شدند. در زمان صفر و طی فواصل زمانی ۱ روزه پس از صید نمونه‌برداری از عضلات ناحیه پشتی-میانی واقع در زیر باله پشتی انجام گرفت.

تهیه عصارة بافتی

نمونه‌های بافتی با بافر فسفات (۰/۰۵ مولار) به نسبت ۱:۱۰ (وزنی/حجمی) مخلوط شدند و توسط هموژنایزر، هموژنیزه شدند. سپس نمونه‌ها سانتریفیوژ (۴۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه) شدند و از مایع رویی به منظور سنجش پارامترهای مختلف استفاده شد (Rashidnejad, 2018).

سنجش پراکسیداسیون لیپیدی

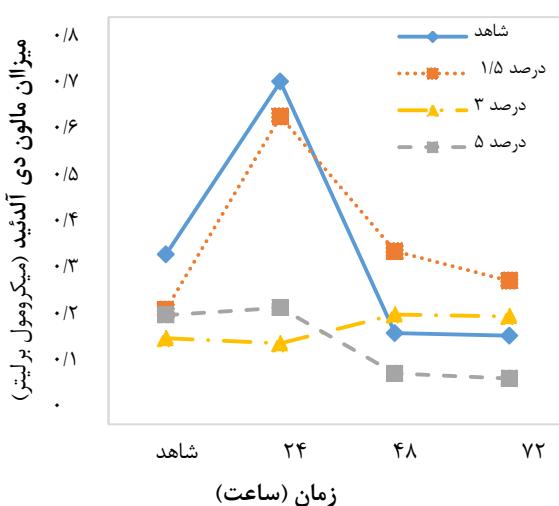
از هر نمونه مالون‌دی‌آلدیید (MDA) به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی بر مبنای واکنش با تیوباربیتوریک اسید^۱ (TBA) اندازه‌گیری شد. در این روش MDA با دو مولکول تیوباربیتوریک اسید واکنش داد و ترکیبی با رنگ متماقیل به قرمز ایجاد کرد. برای انجام این آزمایش ۱۰۰ میکرولیتر از عصارة بافتی تهیه شده داخل لوله آزمایش ریخته شد. سپس ۲ سی‌سی از محلول حاوی تری‌کلرواستیک اسید ۱۵ درصد، اسید‌کلریدریک ۰/۲۵ نرمال و تیوباربیتوریک اسید ۰/۳۷ درصد (به نسبت حجمی ۱:۱:۱) به لوله‌های آزمایش اضافه گردید. در ادامه ۱۵ دقیقه این لوله‌ها در بن‌ماری آب‌جوش قرار داده شدند. سپس سانتریفیوژ شده و جذب نوری مایع رویی در طول

^۲ 2, 4 - dinitrophenylhydrazine

^۱ Thiobarbituric acid

مقدار مالون دی آلدئید عضله به دنبال مصرف پودر تفاله لیمو در جیره غذایی ماهی ها، از زمان صفر تا زمان ۲۴ ساعت افزایش نسبتاً بالایی در میزان مالون دی آلدئید در گروه شاهد و گروه ۲ داشت. ولی در گروه های ۳ و ۴، افزایش در میزان مالون دی آلدئید مشاهده نشد. دلیل افزایش میزان مالون دی آلدئید در ۲۴ ساعت اول پس از صید در گروه ۱ و گروه ۲ به دلیل ظرفیت دفاع آنتی اکسیدانی اندوژن ضعیف در ماهیان پرورشی می باشد آنتی اکسیدانی اندوژن ضعیف در ماهیان پرورشی می باشد (Nakano, Kanmuri, Sato, & Takeuchi, 1999) و از آنجاکه در گروه شاهد (گروه ۱)، مکمل پودر تفاله لیمو به عنوان آنتی اکسیدان افزودنی وجود نداشته است و یا در گروه ۲، اثر مکمل پودر تفاله لیمو کم بوده است و همچنین واکنش های شیمیایی پس از صید که به دلیل مکانیسم های اندوژنی اکسیدانی در سلول های عضله رخ می دهد؛ افزایش میزان مالون دی آلدئید در ۲۴ ساعت پس از صید قابل توجیه می باشد.

بعد از ۲۴ ساعت، کاهش میزان مالون دی آلدئید مشاهده شد و از زمان ۴۸ تا ۷۲ ساعت، افزایش در میزان مالون دی آلدئید مشاهده نشد.



شکل ۱- روند تغییرات مالون دی آلدئید (MDA) در بافت عضله ماهی طی نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد

بحث و نتایج

میزان ترکیبات مؤثرة اسانس تفاله لیموترش نتایج حاصل از این آزمایش طبق جدول (۱)، بیشترین میزان ترکیبات مؤثرة اسانس تفاله لیمو را مونوتربن های هیدروکربنی^۱ نشان دادند. نظری دی لیمونن^۲ به مقدار ۲۸/۸۶ درصد، اصلی ترین ترکیب موجود در اسانس تفاله لیموترش و بعد از آن گاما-ترپین^۳ به مقدار ۱۵/۶۵ درصد در رتبه دوم و بتا-پین^۴ به مقدار ۱۲/۷۲ درصد در رتبه سوم ترکیبات مؤثرة اسانس تفاله لیمو قرار گرفتند.

جدول ۱- تعیین کمی ترکیبات مؤثرة موجود در اسانس تفاله لیموترش

ردیف	نام ترکیب	وزنی (دقیقه)	زمان بازداری	درصد
۱	3-methylheptane	۰/۰۱	۴/۱۶	۰/۰۱
۲	1,3-dioxolane	۰/۷۲	۴/۳۲	۰/۷۲
۳	Cis-1-ethyl-3-methylcyclopentane	۱/۴۲	۴/۵۱	۱/۴۲
۴	n-octane	۸/۲۶	۴/۷۵	۸/۲۶
۵	P-cymenene	۴/۱۳	۵/۶۵	۴/۱۳
۶	linalool	۱/۱۲	۶/۹۲	۱/۱۲
۷	fenchol	۱/۲۹	۸/۱۹	۱/۲۹
۸	α -pinene	۰/۶۱	۸/۲	۰/۶۱
۹	β - pinene	۱۲/۷۲	۸/۴۸	۱۲/۷۲
۱۰	myrcene	۳/۹۵	۸/۵۶	۳/۹۵
۱۱	camphene	۰/۳۸	۸/۹۶	۰/۳۸
۱۲	decane	۲/۰۸	۱۰/۷۱	۲/۰۸
۱۳	m- cymenene	۲/۶۵	۱۱/۵۸	۲/۶۵
۱۴	D-limonene	۲۸/۸۶	۱۱/۷۷	۲۸/۸۶
۱۵	isoborneol	۱/۵۲	۱۲/۲۰	۱/۵۲
۱۶	α -terpineol	۲/۱۸	۱۲/۸۲	۲/۱۸
۱۷	Terpinene-4-ol	۱/۰۵	۱۲/۹۷	۱/۰۵
۱۸	γ -terpinene	۱۵/۶۵	۱۳/۹۰	۱۵/۶۵
۱۹	β -linalool	۲/۲۲	۱۴/۲۸	۲/۲۲
۲۰	Fenchyl alcohol	۱/۴۷	۱۴/۷۸	۱/۴۷
۲۱	Endo-borneol	۱/۷۱	۱۶/۶۶	۱/۷۱
۲۲	α - bergamotene	۲/۴۱	۲۵/۷۴	۲/۴۱
۲۳	β -bisabolene	۳/۵۹	۲۷/۹۷	۳/۵۹

میزان مالون دی آلدئید اکسیداسیون لیپیدی براساس مطالعه حاضر و طبق شکل (۱) و جدول (۱)،

^۱ Hydrocarbon monoterpenes

^۲ D-limonene

^۳ γ -terpinene

^۴ β -pinene

جدول ۲- میزان MDA در بافت عضله ماهی (میکرومول بر لیتر) نمونه‌های مختلف در زمان صید و پس از صید نگهداری شده در دمای ۴

درجهٔ سانتی‌گراد

گروه	لیموترش	زمان صفر	۲۴ ساعت پس از صید	۴۸ ساعت پس از صید	۷۲ ساعت پس از صید
۱ (شاهد)	صفر	۰/۳۳ ^a	۰/۶۷ ^c	۰/۱۸ ^{df}	۰/۱۷ ^f
۲	۱ درصد	۰/۲۲ ^b	۰/۶۰ ^c	۰/۲۴ ^{ab}	۰/۲۸ ^b
۳	۳ درصد	۰/۱۷ ^{bfg}	۰/۱۵ ^{bf}	۰/۲۲ ^{bd}	۰/۲۱ ^{dg}
۴	۵ درصد	۰/۲۱ ^{bd}	۰/۲۳ ^{bd}	۰/۱۰ ^{ef}	۰/۰۹ ^e

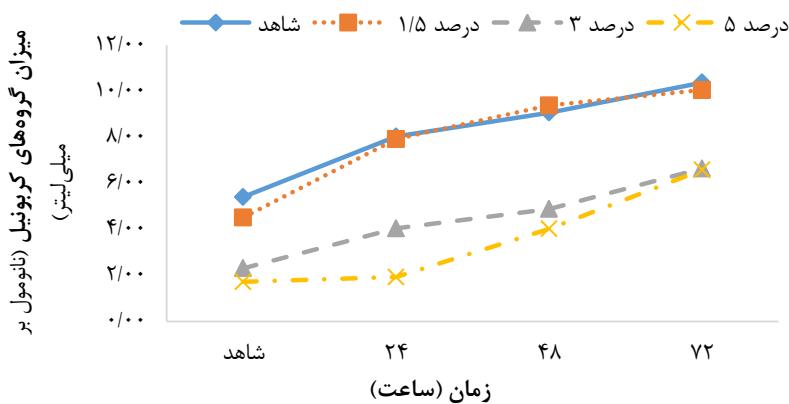
۴ نسبت به زمان صفر در گروه شاهد و گروه ۲ و ۳ نیز به‌طور معنی‌داری کمتر بود ($P<0.05$). از نتایج به‌دست‌آمده استفاده از ۵ درصد پودر تفالهٔ لیمو به‌طور معنی‌داری باعث کاهش اکسیداسیون لیپیدی از زمان صفر تا ۷۲ ساعت نگهداری در دمای یخچال می‌شود ($P<0.05$).

میزان کربونیل اکسیداسیون پروتئینی
براساس مطالعهٔ حاضر و طبق جدول (۳) و شکل (۲)، مقادیر کربونیل از زمان صفر تا ۲۴ ساعت افزایش داشت که نشان‌دهنده روند بیشترین تغییرات اکسیداسیون پروتئینی در ۲۴ ساعت اول بود و بعد از زمان ۲۴ ساعت تا ۷۲ ساعت روند تغییرات عدد کربونیل به‌کندی پیش‌رفت. در گروه ۴ مقادیر کربونیل نسبت به سایر گروه‌ها کمتر بود.

در گروه ۴، در زمان‌های ۴۸ تا ۷۲ ساعت کمترین میزان مالون‌دی‌آلدئید مشاهده شد. در زمان صفر، مقدار مالون‌دی‌آلدئید در هر سه گروه ۲، ۳ و ۴ نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کمتر بود ($P<0.05$). مقدار مالون‌دی‌آلدئید در گروه ۲ و گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کمتر بود ($P<0.05$). در زمان ۴۸ ساعت، مقدار مالون‌دی‌آلدئید در گروه ۲ نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری کمتر بود ($P<0.05$). میزان مالون‌دی‌آلدئید گروه ۴ نسبت به گروه‌های ۲ و ۳ به‌طور معنی‌داری کمتر بود ($P<0.05$). در زمان ۷۲ ساعت، اختلاف میزان مالون‌دی‌آلدئید در همه گروه‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ با یکدیگر معنی‌دار بود ($P<0.05$). حتی میزان مالون‌دی‌آلدئید در زمان ۷۲ ساعت در گروه

جدول ۳- میزان گروه‌های کربونیل در بافت عضله ماهی (نانومول بر میلی‌لیتر) نمونه‌های مختلف در زمان صید و پس از صید نگهداری شده در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد

گروه	لیموترش	زمان صفر	۲۴ ساعت پس از صید	۴۸ ساعت پس از صید	۷۲ ساعت پس از صید
۱ (شاهد)	صفر	۵/۴۱ ^a	۸/۰۴ ^c	۹/۰۸ ^c	۱۰/۳۸ ^c
۲	۱/۵ درصد	۴/۵۱ ^a	۷/۹۳ ^c	۹/۳۹ ^c	۱۰/۰۵ ^c
۳	۳ درصد	۲/۳۲ ^b	۴/۰۵ ^{ad}	۴/۸۹ ^{af}	۶/۶۵ ^g
۴	۵ درصد	۱/۷۲ ^b	۱/۹۳ ^{be}	۴/۰۳ ^{af}	۶/۵۸ ^{afg}



شکل ۲- روند تغییرات کربونیل در بافت عضله ماهی طی نگهداری در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد

همچنین Espina و همکاران (۲۰۱۱) انسانس ۳ میوه از مرکبات (پرتقال، نارنگی و لیموترش) را بررسی کردند و نتایج آنالیز کروماتوگرافی گازی-طیفسنج جرمی نشان داد که دیلیمونن ترکیب اصلی انسانس این مرکبات بود. Zhang, Xu, Lv و Zhang (۲۰۱۸) نیز میزان انسانس‌های فرار روغنی پوست لیمو را با دستگاه کروماتوگرافی گازی-طیفسنج جرمی بررسی کردند و ترکیب اصلی دیلیمونن ارزیابی شد. در تأیید تحقیق‌های انجام شده یادشده نتایج تحقیق حاضر نیز به همین صورت بود. در تحقیق حاضر، افزودن مقادیر مختلف پودر تفاله لیموترش (۱/۵، ۳ و ۵ درصد) به عنوان آنتیاکسیدان به جیره غذایی پایه ماهی‌ها و تأثیر این مقادیر بر میزان مالون‌دی‌آلدئید اکسیداسیون لیپیدی و گروه‌های کربونیل اکسیداسیون پروتئینی در مقایسه با نمونه‌های شاهد در زمان صفر و زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از صید و نگهداری در یخچال بررسی شد و اختلاف معنی‌دار شاخص مالون‌دی‌آلدئید بین ماهیان گروه ۳ نسبت به ماهیان گروه ۲ و شاهد مشاهده شد (P<۰/۰۵) و اختلاف معنی‌دار شاخص مالون‌دی‌آلدئید بین ماهیان گروه ۴ نسبت به ماهیان گروه ۲، ۳ و شاهد نیز مشاهده شد (P<۰/۰۵) و در اکسیداسیون پروتئینی بین ماهیان گروه ۳ و ۴ نسبت به گروه ۲ و گروه شاهد اختلاف معنی‌دار شاخص گروه‌های کربونیل مشاهده شد (P<۰/۰۵). بین ماهیان گروه ۳ با ماهیان گروه ۴ اختلاف شاخص گروه‌های کربونیل معنی‌دار نبود، اما طبق نتایج به دست آمده به دلیل خاصیت آنتیاکسیدانی قوی‌تر جیره حاوی ۵ درصد پودر تفاله لیموترش، این مقدار به عنوان آنتیاکسیدان افزودنی پیشنهاد می‌شود.

در تطابق با نتایج این تحقیق، مطالعه Ghanei-Motlagh (۲۰۱۳) قرار دارد، اضافه کردن سیر و ویتامین E به عنوان آنتیاکسیدان باعث کاهش اکسیداسیون لیپیدها و پروتئین‌های گوشت ماهی کپور در زمان‌های مختلف نگهداری شده است. Nobakht و Amiridashatan (۲۰۱۳) گزارش کردند که استفاده از مقادیر مختلف تفاله خشک لیموترش در جیره غذایی بوقلمون‌های گوشتی باعث کاهش مقدار چربی بطنی و غلظت کلسترول بد (LDL^۲) شده است. Hoseini, Naghoos و Farhangfar (۲۰۱۴) گزارش کردند که استفاده از سطوح مختلف کلاله زعفران بر کیفیت گوشت ران در جوجه‌های گوشتی باعث کاهش

مقادیر کربونیل گروه‌های ۴ و ۳ در هر ۴ زمان صفر، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت نسبت به گروه شاهد و گروه ۲ به طور معنی‌داری کمتر بود (P<۰/۰۵) و گروه ۲ در همه زمان‌ها نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). از نتایج به دست آمده، استفاده از ۵ درصد پودر تفاله لیمو به طور معنی‌داری باعث کاهش اکسیداسیون پروتئینی از زمان صفر تا ۷۲ ساعت نگهداری در دمای یخچال شد (P<۰/۰۵). ماهی غنی از اسیدهای چرب چند غیراشباعی (PUFA^۱) می‌باشد و همچنین سیستم دفاعی آنتیاکسیدانی آن کفایت لازم را ندارد و بنابراین بسیار مستعد به آسیب‌های اکسیداتیو می‌باشد (Naeiji, Shahsavani, & Baghshani, 2013).

نظر به نقش آنتیاکسیدانی و محافظتی پودر تفاله لیمو در جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدها و پروتئین‌های گوشت، استفاده از آن در جیره خوراکی ماهی کپور به منظور افزایش کیفیت گوشت و افزایش مدت زمان ماندگاری پیشنهاد می‌شود. ترکیبات آنتیاکسیدانی تفاله لیمو نظری: فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک و کاروتونوئیدها و روغن‌های انسانسی به عنوان کاهنده، قادر به مهار Fe^{۳+} ناشی از اکسیداسیون هستند و یا واکنش مولکول‌های اکسیژن با رادیکال‌های آزاد را خنثی می‌کنند (Ozsoy, Candoken, & Akev, 2009).

همچنین فلاونوئیدها تشیدکننده خواص آنتیاکسیدانی سایر اکسیدان‌ها نظری ویتامین C نیز هستند (Banerjee, Ecavade, & Rao, 1993)، مهم‌ترین آنتیاکسیدان موجود در تفاله لیمو، بر پایه توانایی دادن هیدروژن به رادیکال‌های آزاد لیپیدها و پروتئین‌ها و دی‌ان‌ای و غیرفعال کردن آنهاست (Harats et al., 1998). در تحقیق حاضر، نتیجه آنالیز ترکیبات مؤثره انسانس تفاله لیموترش، بیشترین مقدار ترکیبات به ترتیب دیلیمونن، گاما-ترپین و بتا-پین تعبیین شد که هر سه از ترکیبات مونوتربن‌های هیدروکربنی دارای خاصیت آنتیاکسیدانی هستند (Yu, Yan, & Sun, 2017). در تطابق و همسو با نتایج این تحقیق، González-Molina و همکاران (۲۰۱۰) میزان انسانس‌های فرار روغنی میوه لیمو را با دستگاه کروماتوگرافی گازی-طیفسنج جرمی ارزیابی کردند و دیلیمونن بیشترین مقدار را در بین ترکیبات داشت.

^۲ Low-density lipoprotein

^۱ Poly unsaturated fatty acids

گیلت هد^۱ به نام اسپاروس آراتا^۲ را بررسی کردند و نتیجه آن افزایش ظرفیت آنتیاکسیدانی بود.

نتیجه‌گیری

نظر به تحقیق‌های یادشده و همتای با تحقیق حاضر، افزودن ۵ درصد پودر تفاله لیموترش باتوجه به دردسترس بودن و ارزان قیمت بودن و به عنوان آنتیاکسیدان طبیعی جهت بهبود کیفیت گوشت ماهی و افزایش زمان ماندگاری آن، به تنها یا همراه با سایر آنتیاکسیدان‌های طبیعی پیشنهاد می‌شود.

مالون دی‌آلدئید شده است. Mohebbi Moghaddam و همکاران (۲۰۱۶) تأثیر مکمل غذایی بتا-کاروتون بر وضعیت اکسیداتیو در بافت ماهی کپور معمولی را بررسی کردند و بتا-کاروتون به عنوان یک آنتیاکسیدان طبیعی در بهبود وضعیت اکسیداتیو مؤثر بوده است. Luciano و همکاران (۲۰۱۷) ظرفیت آنتیاکسیدانی گوشت برۀ تغذیه شده با پالپ مرکبات خشک شده به همراه ویتامین E بررسی کردند که نتیجه آن افزایش ظرفیت آنتیاکسیدانی گوشت برۀ گزارش شد. همچنین Beltrán Espinosa و Esteban Guardiola (۲۰۱۷) اثرات پوست لیموی خشک شده بر وضعیت آنتیاکسیدانی یک نوع ماهی

منابع

- Alibeyghi, T., Alizadeh Doughikollaee, E., & Zakiour Rahim Abadi, E. (2013). Antioxidant effect of orange peel extract on the quality of common carp (*Cyprinus Carpio*) fillet during refrigerated storage (4°C). *Journal of Fisheries. Iranian Journal of Natural Resourse*, 66(2), 185-197. (in Persian). doi:<https://doi.org/10.22059/jfisheries.2013.35694>
- Alinasabhematabadi, L. (2015). *Protein oxidation in Atlantic mackerel (Scomber scombrus) during chilled and frozen storage*. (maste's thesis), NTNU, Retrieved from https://ntuopen.ntnu.no/ntnu-xmlui/bitstream/handle/11250/2351628/8731_FULLTEXT.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- AOAC. (2003). Official methods of analysis of AOAC International. USA Association of Official Analytical Chemistry. In.
- Arlinghaus, R., & Mehner, T. (2003). Socio-economic characterisation of specialised common carp (*Cyprinus carpio* L.) anglers in Germany, and implications for inland fisheries management and eutrophication control. *Fisheries Research*, 61(1-3), 19-33. doi:[https://doi.org/10.1016/S0165-7836\(02\)00243-6](https://doi.org/10.1016/S0165-7836(02)00243-6)
- Banerjee, S., Ecavade, A., & Rao, A. (1993). Modulatory influence of sandalwood oil on mouse hepatic glutathione S-transferase activity and acid soluble sulphhydryl level. *Cancer Letters*, 68(2-3), 105-109. doi:[https://doi.org/10.1016/0304-3835\(93\)90135-V](https://doi.org/10.1016/0304-3835(93)90135-V)
- Beltrán, J. M. G., Espinosa, C., Guardiola, F. A., & Esteban, M. Á. (2017). Dietary dehydrated lemon peel improves the immune but not the antioxidant status of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish & Shellfish Immunology*, 64, 4, 426-436. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.03.042>
- Celi, P. (2010). The role of oxidative stress in small ruminants' health and production. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39, 348-363. doi:<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982010001300038>
- Del Rio, D., Stewart, A. J., & Pellegrini, N. (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 15(4), 316-328. doi:<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982010001300038>

¹ Gilt-head sea bream

² *Sparus aurata* L.

- Devasagayam, T., Tilak, J., Boloor, K., Sane, K. S., Ghaskadbi, S. S., & Lele, R. (2004). Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Journal of the Association of Physicians of India*, 52(794804), 4 .
- Espina, L., Somolinos, M., Lorán, S., Conchello, P., García, D., & Pagán, R. (2011). Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. *Food Control*, 22(6), 896-902. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.11.021>
- Eymard, S., Baron, C. P., & Jacobsen, C. (2009). Oxidation of lipid and protein in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) mince and washed minces during processing and storage. *Food Chemistry*, 114(1), 57-67. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.030>
- Ghanei-Motlagh, R. (2013). *Investigation of the protective effect of garlic and vitamin E in prevention of lipid and protein oxidation in carp meat during different storage times*. (Unpublished Doctoral dissertation), Ferdowsi University of Mashhad , (in Persian)
- González-Molina, E., Domínguez-Perles, R., Moreno, D., & García-Viguera, C. (2010). Natural bioactive compounds of Citrus limon for food and health. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51(2), 327-345. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2009.07.027>
- Harats, D., Chevion, S., Nahir, M., Norman, Y., Sagee, O., & Berry, E. M. (1998). Citrus fruit supplementation reduces lipoprotein oxidation in young men ingesting a diet high in saturated fat: presumptive evidence for an interaction between vitamins C and E in vivo. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 67(2), 240-245. doi:<https://doi.org/10.1093/ajcn/67.2.240>
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (1999). Essential analysis by gas chromatography on packed columns General methods. (ISIRI Standard No. 5192). Retrieved from <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=971> (in Persian)
- Jiang, W.-D., Feng, L., Liu, Y., Jiang, J., Hu, K., Li, S.-H., & Zhou, X.-Q. (2010). Lipid peroxidation, protein oxidant and antioxidant status of muscle, intestine and hepatopancreas for juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) fed graded levels of myo-inositol. *Food Chemistry*, 120(3), 692-697. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.062>
- Latha, M., & Pari, L. (2003). Preventive effects of *Cassia auriculata* L. flowers on brain lipid peroxidation in rats treated with streptozotocin. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 243(1-2), 23-28. doi:<https://doi.org/10.1023/A:1021697311150>
- Lin, C.-C., & Lin, C.-S. (2005). Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillets by glazing with tea extracts. *Food Control*, 16(2), 169-175. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.01.007>
- Luciano, G., Roscini, V., Mattioli, S., Ruggeri, S., Gravador, R., Natalello, A., . . . Priolo, A. (2017). Vitamin E is the major contributor to the antioxidant capacity in lambs fed whole dried citrus pulp. *animal*, 11(3), 411-417. doi:<https://doi.org/10.1017/S1751731116001683>
- Mabberley, D. J. (1997). A classification for edible Citrus (Rutaceae). *Telopea*, 7(2), 167-172 .
- Mazaheri-Tehrani, M., Salari, A., & Heidari, A. (2006). The Bitterness of lime byproducts for preparation marmalade and drink. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 2(2), 53-60 .in Persian). doi:<https://doi.org/10.22067/ifstrj.v2i2.342>
- Mcharek, N., & Hanchi, B. (2017). Maturational effects on phenolic constituents, antioxidant activities and LC-MS/MS profiles of lemon (*Citrus limon*) peels. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 90, 1-9. doi:<https://doi.org/10.5073/JABFQ.2017.090.001>
- Mohebbi Moghaddam, M., Baghshani, H., & Shahsavani, D. (2016). Effect of dietary β-carotene supplementation on some oxidative status biomarkers in common carp (*Cyprinus Carpio*) tissues. *Journal of Aquaculture Development*, 10(4), 103-111. (in Persian) .

- Naeiji, N., Shahsavani, D., & Baghshani, H. (2013). Effect of dietary garlic supplementation on lipid peroxidation and protein oxidation biomarkers of tissues as well as some serum biochemical parameters in common carp *Cyprinus carpio*. *Fisheries Science*, 79(4), 699-705. doi:<https://doi.org/10.1007/s12562-013-0629-2>
- Naghoos, M., Hoseini, S. M., & Farhangfar, H. (2014). Effect of different levels of saffron's stigma on thigh meat quality in broiler. *Journal of Saffron Researches*, 4(1), 1-14. (in Persian). doi:<https://doi.org/10.22077/jsr.2016.389>
- Nakano, T., Kanmuri, T., Sato, M., & Takeuchi, M. (1999). Effect of astaxanthin rich red yeast (*Phaffia rhodozyma*) on oxidative stress in rainbow trout. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1426(1), 119-125. doi:[https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(98\)00145-7](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(98)00145-7)
- Nobakht, A., & Amiridashatan, B. (2013). Effect of different levels of dried lemon (*Citrus aurantifolia*) pulp on performance, carcass and blood parameters on meat type turkeys. *Animal Production Research*, 3(2), 9-17. (in Persian).
- Ogino, K., & Wang, D. H. (2007). Biomarkers of oxidative/nitrosative stress: an approach to disease prevention. *Acta Med Okayama*, 61(4), 181-189. doi:<https://doi.org/10.1892/AMO32871>
- Ozsoy, N., Candoken, E., & Akev, N. (2009). Implications for degenerative disorders: antioxidative activity, total phenols, flavonoids, ascorbic acid, beta-carotene and beta-tocopherol in Aloe vera. *Oxid Med Cell Longev*, 2(2), 99-106.
- Papoutsis, K., Pristijono, P., Golding, J. B., Stathopoulos, C. E., Scarlett, C. J., Bowyer, M. C., & Van Vuong, Q. (2016). Impact of different solvents on the recovery of bioactive compounds and antioxidant properties from lemon (*Citrus limon L.*) pomace waste. *Food Science and Biotechnology*, 25(4), 971-977. doi:<https://doi.org/10.1007/s10068-016-0158-8>
- Pirouzbakht, M. J., Khanzadi, S., Shahsavani, D., & Baghshani, H. (2015). *Investigation some biomarkers of oxidative status of common carp (Cyprinus Carpio) meat during different storage times*. Paper presented at the 1th International Conference on Food Industry, Tehran, Iran. Center of Iranian Development Conferences. http://www.civilica.com/paper-fific01-fific01_033=cyprinus-carpio-.html (in Persian)
- Rashidnejad, A., Shahsavani, D., & Baghshani, H. (2018). Investigation of the Protective Effect of β-carotene in the Prevention of Lipid and Protein Oxidation in Carp Meat during Different Storage Times. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 27(8), 870-875. doi:<https://doi.org/10.1080/10498850.2018.1506959>
- Rumley, A., & Paterson, J. (1998). Analytical aspects of antioxidants and free radical activity in clinical biochemistry. *Annals of Clinical Biochemistry*, 35(2), 181-200. doi:<https://doi.org/10.1177/000456329803500202>
- Salehi, H. (2006). An analysis of the consumer market for carp and carp products in Iran. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 5(2), 83-110.
- Wiley Registry. (2012). NIST.2012 Mass Spectral Library (Upgrade). In (Vol. 10th Edition).
- Yu, L., Yan, J., & Sun, Z. (2017). D-limonene exhibits anti-inflammatory and antioxidant properties in an ulcerative colitis rat model via regulation of iNOS, COX-2, PGE2 and ERK signaling pathways. *Molecular Medicine Reports*, 15(4), 2339-2346. doi: <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.6241>
- Zarifmanesh, A. (2015). *Study the effect of Spirulina platensis on some indicators of oxidative status in carp diet.* . (Unpublished doctoral dissertation), Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad. (in Persian),

Zhang, L .L., Lv, S., Xu, J. G., & Zhang, L. F. (2018). Influence of drying methods on chemical compositions, antioxidant and antibacterial activity of essential oil from lemon peel. *Natural Product Research*, 32(10), 1184-1188. doi: <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1320791>

The Use of Dietary Enrichment with Lemon Pomace Powder for the Prevention of Lipid and Protein Oxidation in Carp during Storage at Refrigerator

Elham Shabani¹, Amir Salari^{2*}, Davar Shahsavani³, Hasan Baghishani⁴

- 1- MSc Student, Department of Food Hygiene and Aquaculture, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
2- Assistant Professor, Department of Food Hygiene and Aquaculture, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

*Corresponding author (a-salari@um.ac.ir)

- 3- Professor, Department of Food Hygiene and Aquaculture, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
4- Associate Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of dietary enrichment with lemon pomace powder on lipid and protein oxidation of carp fillets during storage at refrigerator. Group 1 of carps as control group was fed with basic diet and groups 2, 3 and 4 were fed with 1.5, 3 and 5% lemon pomace powders, respectively. After the end of the study (4 weeks), 10 fish from each group were randomly captured and stored at 4 °C for 3 days. At the capture time and during storage times, 24, 48 and 72 hours at refrigerator, lipid and protein oxidation parameters of the muscle were evaluated. The results indicated a significant difference in the mentioned indices in group 4 compared to other groups ($P<0.05$). Therefore, a diet containing 5% lemon pomace powder is suggested as a natural antioxidant in carp diet to improve the oxidative status and increase the shelf life of the fillet during storage at 4 °C.

Keywords: Carp, Lemon pomace powder, Lipid, Protein oxidation

قالب پیش‌نویس مقاله برای مجله پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی با به کارگیری امکانات استایل (سبک) در نرم‌افزار ورد ۲۰۰۷ (سبک عنوان)

نام و نام خانوادگی نگارنده اول^۱، نام و نام خانوادگی نگارنده دوم^{۲*}، نام و ... نگارنده سوم^۳، ... (سبک نویسنده‌گان)

۱- مرتبه علمی نگارنده، رشته تخصصی، نام سازمان، نام شهر، نام کشور (سبک مشخصات نویسنده‌گان)

۲- استادیار، گروه شیمی مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

* نویسنده مسئول (email@address.ac.ir)

تاریخ دریافت:

تاریخ پذیرش:

واژه‌های کلیدی (سبک

عنوان واژه‌های کلیدی)

چکیده فارسی با قلم 11 Nazanin B در قالب یک پاراگراف، پس از اسمای نویسنده‌گان)

قرار گیرد. چکیده باید در عین مختصر بودن، به روشنی گویای محتوای مقاله بوده و صنعتی بودن طرح در مقاله اشاره شود و با تأکید بر روش‌ها، بیانگر نتایج و اهمیت کاربرد آنها باشد و در آن از کلمات اختصاری مبهم استفاده نشود. از ذکر منابع نیز خودداری گردد. تعداد کلمات چکیده بین ۱۵۰ تا ۲۵۰ کلمه است. واژه‌های کلیدی با قلم 11 Nazanin B به صورت برجسته و به ترتیب حروف الفبا نگارش شوند. تعداد واژگان کلیدی از ۵ مورد بیشتر نباشد. از آوردن پاورقی در عنوان، چکیده فارسی و انگلیسی اجتناب گردد (سبک چکیده)

کلمات (سبک واژه‌های

کلیدی)

مقالاتی که دارای چند مؤلف هستند ترتیب اسمای و حقوق مؤلفین بر عهده ارسال کننده مقاله (نویسنده مسئول) خواهد بود. مسئولیت هر مقاله از نظر علمی بر عهده نویسنده‌گان) خواهد بود. در صورتی که مقاله برای چاپ پذیرفته نشود، عیناً به نویسنده مسئول مسترد خواهد شد. مقالات توسط هیأت تحریریه و با همکاری هیأت داوران ارزیابی شده و در صورت تصویب طبق ضوابط خاص مجله به نوبت چاپ خواهد رسید. هیأت تحریریه مجله در رد یا قبول و اصلاح مقالات آزاد است.

مقدمه حاوی معرفی بر پژوهش‌های گذشته با استناد به مدارک منتشر شده قبلی و شامل معرفی و توجیه موضوع مورد بررسی باشد و هدف بررسی را بوضوح روشن نماید.

مواد و روش‌ها شامل شرح کامل مواد یا وسایل به کارگرفته شده و روش آزمایش در بررسی باشد. نتایج و بحث باید شامل تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده

مقدمه (سبک عنوان سطح ۱)

این قالب جهت آماده‌سازی مقاله آماده شده است. کلیه تنظیمات مربوط به صفحه و فواصل از اطراف، در این قالب اعمال شده است. لطفاً یک کپی از این فایل را در قسمتی از رایانه ذخیره نموده و پس از آن با کپی و سپس چسباندن^۱ متن خود در این فایل، سبک^۲ مربوط را انتخاب نمایید. همچنین در هر قسمت از مقاله پس از چسباندن متن می‌توانید از مسیر زیر، به طور مستقیم سبک مربوط را اعمال فرمایید:

Paste option > match with Destination format

مقالاتی برای چاپ پذیرفته خواهد شد که متن کامل آن قبلًا در هیچ مجله یا نشریه‌ای منتشر و یا برای چاپ به سایر مجلات ارائه نگردیده باشد. در

¹ Paste

² Style

(سبک عنوان سطح ۲ و ۳)

جدول، شکل و عکس (عنوان جدول و شکل با قلم B Nazanin10 و بصورت برجسته و متن مربوط به توضیح جدول‌ها و شکل‌ها با قلم B Nazanin10 و بصورت معمولی تایپ شود. عنوان شکل در پایین و با فرمت وسطچین (در صورتی که عنوان شکل بیش از یک خط باشد از فرمت راستچین استفاده شود) و عنوان جدول در بالا و با فرمت راستچین نوشته شده و گویای نتایج مندرج در آن باشد. توضیحات اضافی عنوان و متن جدول بصورت زیرنویس ارائه گردد. جدول‌ها و شکل‌ها در محل مناسب و به ترتیب در داخل متن مقاله گنجانده شود. جدول‌ها بدون خطوط عمودی و با حداقل خطوط افقی باشند. عنوان جدول باید مختصر و گویای ارتباط عوامل مورد بحث جدول باشد. اعداد در جدول‌ها، شکل‌ها و سایر قسمت‌های مقاله باید به فارسی باشند. عکس‌ها باید دارای مقیاس باشند و در صورت اقتباس از منابع دیگر باید منبع مورد استفاده ذکر گردد.

توجه: شکل‌ها باید از کیفیت مناسب برای چاپ برخوردار باشند (حتی الامکان در قالب TIFF) و از الگوهای سیاه و سفید برای ترسیم آنها استفاده شود. ممکن است برای چاپ، شکل‌ها کوچک‌تر شوند؛ بنابراین نوشته‌ها و اعداد روی شکل‌ها باید مناسب و کاملاً خوانا باشند. مجموع تعداد شکل‌ها و جداول از ۸ مورد تجاوز نکند.

نکته مهم: جهت درج اعداد اعشاری روی محور نمودارها می‌باشد از اعداد فارسی با ممیز (٪) استفاده گردد و استفاده از نقطه به عنوان ممیز قابل قبول نخواهد بود. برای این منظور می‌توانید قلم‌های واحد این قابلیت (مجموعه قلم پروین) را دانلود نمایید. نحوه درج ممیز فارسی به جای نقطه در شکل (۱) آورده شده است.

جدول (۲) و شکل‌های (۲) و (۳) به عنوان نمونه پیشنهاد می‌شود.

در ارتباط با تحقیق مورد نظر باشد. متن مقاله با قلم B Nazanin 12 و عنوان اول و دوم به ترتیب با قلم B Nazanin 12 و 11 B Nazanin 12 بصورت برجسته تایپ شود. از سیستم شماره‌گذاری برای عنوان استفاده نشود. همچنین شماره زیرنویس‌ها در هر صفحه از یک شروع شده و توسط خود نرم‌افزار ورد شماره‌گذاری شود و از تایپ کردن شماره خودداری شود. فاصله بین خطوط در متن مقاله Single بدون فاصله قبل و بعد انتخاب گردد. کلمات انگلیسی در متن با قلم 10 Times New Roman تایپ شوند. کلیه معادلات و روابط موجود در متن مقاله در سطر جداگانه و به ترتیب شماره گذاری گردد. واحدها باید در مقیاس متریک (SI) ارائه گردد و تمامی آنها به صورت کلمات فارسی و بعد از اعداد آورده شوند (مثال: ۲۵ درجه سانتی‌گراد، ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر). از بکار بردن کلمات خارجی- غیر از اسمی علمی- در متن خودداری و در صورت نبودن معادل فارسی فراگیر، آنها را به فارسی نوشته و اصل کلمه به صورت زیرنویس در همان صفحه ارجاع داده شود. اسمی علمی (جنس و گونه گیاهان، جانوران و میکروارگانیسم‌ها) در تمام مقاله به صورت مایل تایپ شود.

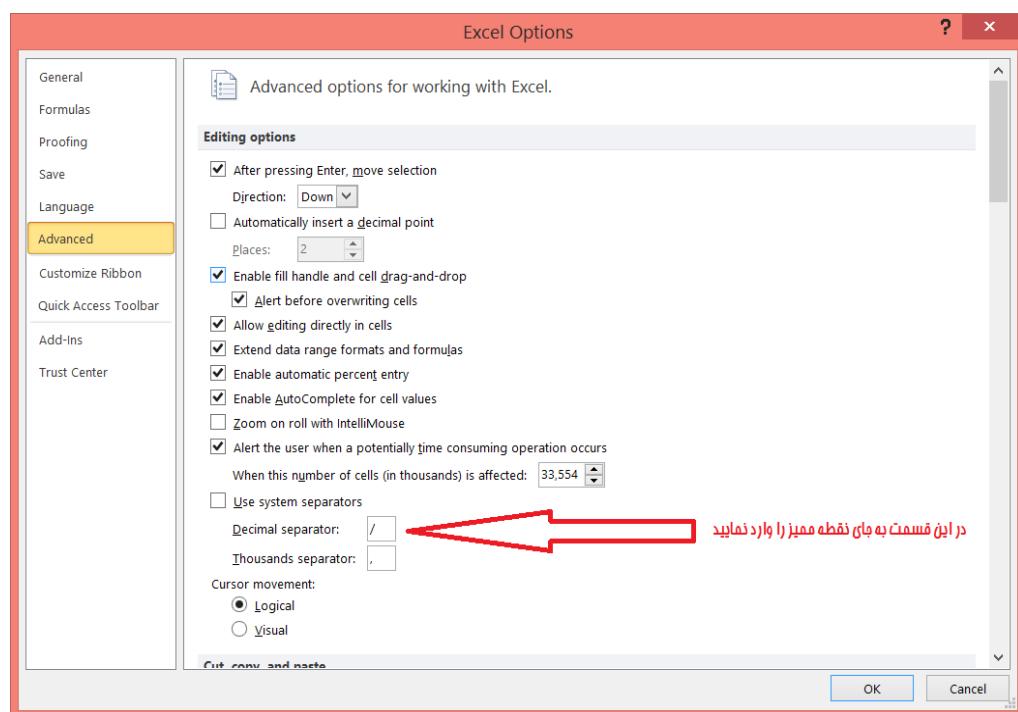
پاراگراف‌های دوم به بعد در هر عنوان با فرورفتگی به اندازه ۵ میلی‌متر از شروع سطر و بدون فاصله پس یا پیش از پاراگراف است. هنگام استفاده از عالی‌می نظیر ، : ، ؟ و غیره، به خاطر داشته باشید که کلیه این عالی‌می بدون فاصله از حرف قبلی و با یک فاصله از حرف بعدی نوشته می‌شوند.

جهت مشخص نمودن احتمال، حرف P به صورت حرف بزرگ انگلیسی و مایل با قلم Times New Roman 10 درج گردد ($P < 0.05$). پرانترها با قلم فارسی تایپ شوند.

* در صورتی که اصول بدیهی نگارش در مقاله رعایت نگردیده باشد، پیش از ارسال به داوری به نویسنده مسترد خواهد شد (برخی از اصول نگارشی در جدول (۱) آورده شده است) (سبک متن اصلی).

جدول ۱- برخی از اصول نگارش (سبک عنوان جدول) (<http://www.persianacademy.ir/fa/das.aspx>)

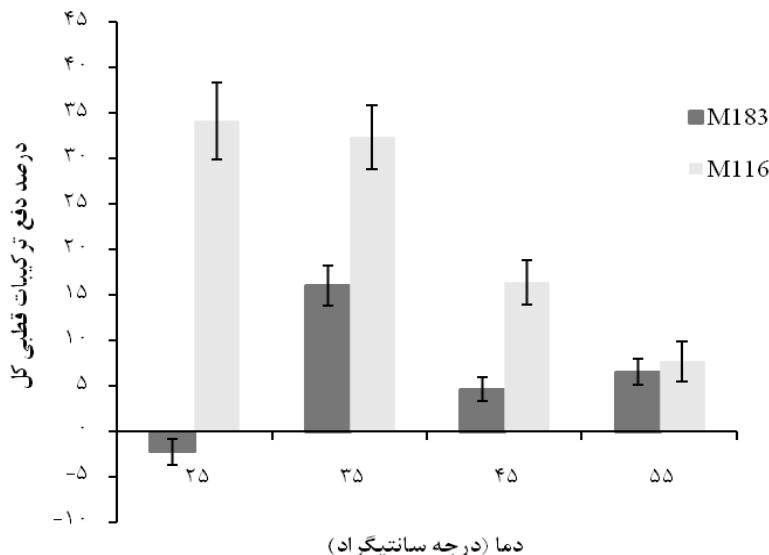
راهنمای صفحه کلید	نکته نگارشی
SHIFT+ب	گذاشتن تشدید همیشه ضرورت ندارد مگر در جایی که موجب ابهام شود: معین/معین
'=SHIFT+ض	تنوین (اً)
	آن همیشه جدا نوشته می‌شود مگر: آنها، آنجا، آنکه، بدان، آنچه، وانگهی
	این همیشه جدا نوشته می‌شود مگر: اینها، اینجا، اینکه، بدین
	-تر/-ترین به غیر از بیشتر/بیشترین، کمتر/کمترین، بهتر/بهترین، مهتر، مهترین، بقیه جدا نوشته می‌شوند.
	چه جدا از کلمه پیش از خود نوشته می‌شود، مگر در: چرا، چگونه، چقدر، چطور، چسان
	چه جدا از کلمه پس از خود نوشته می‌شود، مگر در: آنچه، چنانچه
SHIFT+ش/س	حرکت‌گذاری تنها در حدی لازم است که احتمال بدخوانی و ابهام داده شود: غرضه/اغرضه؛ حرف/حِرف
	که همیشه جدا نوشته می‌شود به جز در سه مورد: بلکه، اینکه، آنکه
نیم فاصله (Ctrl+-)	می-نمی با رعایت نیم فاصله، همواره جدا نوشته می‌شوند.
	ها (نشانه جمع) با رعایت نیم فاصله جدا از کلمه پیش از خود نوشته می‌شود (به جز در مورد آنها)
	یک در ترکیب، جدا از جزء پس از خود نوشته می‌شود، مگر در موارد: یکتا، یکجا، یکدست، یکدفعه، یکدیگر، یکرنگ، یکرو، یکسان، یکسره، یکسو، یکشنبه، یکنواخت
=SHIFT+ك	نقشه (.)، دونقطه (:)، ویرگول (،) همواره به کلمه پیش از خود می‌چسبند ولی بعد از آنها درج یک فاصله الزامي است.
=SHIFT+ف	تأیین، تأثیر و امثال این کلمات با حمزه ساکن در وسط کلمه (اً) نوشته می‌شوند.
=SHIFT+د	حمزه پایانی پس از حرف صدادار بلند «آ» حذف می‌شود، مانند: ابتداء، انتها، املاء، انشا، اجرا و ...
	در حالت نسبت و همراهی با «یا» وحدت و نکره و نیز در اضافه، به جای حمزه، «ی» قرار می‌گیرد، مانند: ابتدای، انتهای، املای، انشای، اجرای و ...
	اگر کلمه‌ی فارسی باشد، هرگز در میان کلمه یا پایان کلمه به صورت «حمزه» نیست، بنابراین همواره با حرف «ی» نوشته می‌شود. مانند: آیین نه آئین، پاییز نه پائیز، پایین نه پائین، روییدن نه روئیدن و ...
=SHIFT+ل	نشانه اضافه پس از کلمه‌های مختوم به های بیان حرکت (ـه) به صورتی یابی نیمه (ـه) بالای (ـه) نوشته می‌شود، مانند: محمولة غذا
	(پرانتر ابتداء، به کلمه بعد و پرانتر انتها، به کلمه قبل از خود می‌چسبند) و به ترتیب از کلمه قبل و بعد از خود فاصله می‌گیرند.
=SHIFT+ا	به املای برخی از کلمات رایج در مقالات حوزه صنعت غذا نظیر فرآوری، فرآیند/فرایند و ... توجه شود.



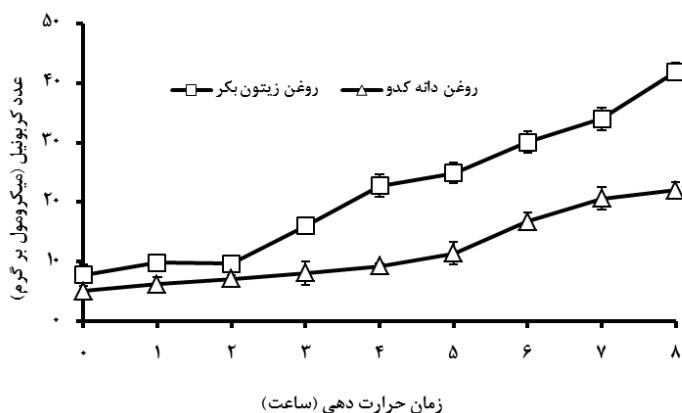
شکل ۱- نحوه درج ممیز فارسی به جای نقطه در نرم افزار اکسل ۲۰۱۰ (سبک عنوان شکل)

جدول ۲- برخی خصوصیات شیمیابی مواد آلی مورد استفاده

خاکستر (درصد)	فلزات سنگین (میلی گرم بر کیلوگرم)		pH
	Pd	Cd	
۸۶/۸	۱/۲	۰/۸۸	۷/۴
۹/۴	۹/۴	۶۵۷/۸۳	۷/۰۸



شکل ۲- اثر اندازه حفره های غشا و دما بر درصد دفع ترکیبات قطبی کل تراوه طی اولترافیلتراسیون روغن کانولا با غشا PVDF. تیرک های ترسیم شده نشان دهنده خطای استاندارد میانگین داده های اندازه گیری شده است.



شکل ۳- تغییر عدد کربونیل روغن های زیتون بکر و دانه کدو طی فرایند حرارتی در دمای ۱۸۰ درجه سانتی گراد. تیرک های ترسیم شده روی نقاط، نشان دهنده انحراف استاندارد داده های اندازه گیری شده است.

- در نوشتن فرمول ها رعایت نکات زیر الزامی است:
- ۱- در فرمول نویسی پارامترها و متغیرها به صورت ایتالیک می آیند، ولی اعداد، کلمات، توابع مشخص و واحدها به صورت غیرایتالیک می آیند.
 - ۲- در صورتی که فرمول طولانی باشد و طول آن از یک سطر تجاوز کند، باید در جای مناسب شکسته شده و ادامه فرمول در سطر بعدی آورده شود و از فشرده کردن آن پرهیز شود.
 - ۳- وقتی ادامه فرمول در سطرهای بعدی آورده می شود، باید از سطر دوم به بعد از سمت چپ

روابط و فرمول های ریاضی (سبک عنوان سطح ۲ و ۳)

جهت تایپ روابط و فرمول های ریاضی از ابزار معادله^۱ موجود در نرم افزار آفیس با قلم کامبریا مث^۲ ۹ استفاده شود و نحوه تایپ از سمت چپ انجام شود و جهت شماره گذاری از شماره فرمول در داخل پرانتز استفاده شود. دقت شود فرمول ها به صورت عکس در متن قرار داده نشود.

¹ Insert-> Symbols-> Equation

² Cambria Math

تقدیر و تشکر (سبک عنوان سطح ۱)

چنانچه مقاله توسط اشخاص/دانشگاه/ مؤسسه/شرکت‌های صنعتی و دانشبنیان دارای حمایت مالی می‌باشند، نویسنده مسئول محترم می‌باید در متن مقاله به پاس این حمایت، از آنها تشکر و قدردانی نماید.

فورفتگی داشته باشد.

۴- شماره هر فرمول در گوشه سمت راست فرمول درج و قبل از آن در متن به آن ارجاع داده شود (رابطه ۱).

۵- دقت شود از نقطه‌مميز یا همان نقطه پایان جمله (a . b) به جای نقطه ضرب (a · b) استفاده نشود.

(رابطه ۱)

فرم تعهد نویسنده‌گان (سبک عنوان سطح ۱)

نویسنده‌گان محترم می‌باید فرم تعهد که در صفحه نخست پایگاه اینترنتی نشریه (در بخش راهنمای نویسنده‌گان) قرار داده شده است را دریافت نموده و پس از تکمیل و امضاء، تصویر آن را در هنگام ارسال مقاله جدید بارگذاری نمایند.

فرم تعارض منافع (سبک عنوان سطح ۱)

نویسنده مسئول محترم می‌باید فرم تعارض منافع که در صفحه نخست پایگاه اینترنتی نشریه (در بخش راهنمای نویسنده‌گان) قرار داده شده است را دریافت نموده و پس از تکمیل و امضاء، تصویر آن را به همراه سایر فایل‌های دیگر در هنگام ارسال مقاله جدید بارگذاری نمایند.

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

نحوه ارسال مقاله (سبک عنوان سطح ۱)

جهت ارسال مقاله، لازم است ابتدا کاربران در پایگاه اینترنتی نشریه به آدرس <http://journals.rifst.ac.ir> ثبت نام نموده و سپس مقاله خود را به صورت آنلاین ارسال نمایند. بدیهی است کاربرانی که قبلاً ثبت نام کرده اند و نام کاربری و کلمه عبور دریافت کرده اند نیازی به ثبت نام مجدد ندارند و با وارد کردن نام کاربری و کلمه عبور وارد سایت شده و ارسال مقاله جدید را انجام می‌دهند.

هزینه مقالات (سبک عنوان سطح ۱)

در صورت پذیرش مقاله جهت چاپ، به ازای هر صفحه مبلغ صد و پنجاه هزار ریال بابت هزینه‌های داوری، ویراستاری و صفحه‌آرایی دریافت می‌گردد.

منابع

منابع مورد استفاده باید شامل جدیدترین اطلاعات در زمینه کار مورد نظر باشند. استناد به منابع در متن مقاله به سبک APA (APA System: Author – Date Scheme) 6th با استفاده از نرم‌افزار EndNote انجام گیرد. کلیه منابع در مقالات فارسی می‌بایست به زبان اصلی و در متن عیناً به آن اشاره شود و چنانچه منبعی به صورت فارسی می‌باشد در قسمت فهرست منابع به دو صورت فارسی و **برگردان انگلیسی آن (مانند مثال‌ها)** نیز ذکر و در انتهای منع حتماً واژه (in Persian) قید شود. برای کسب اطلاعات بیشتر می‌توانید از راهنمای رفرنس‌دهی نسخه 6th APA استفاده نمایید.

لينك راهنما: <https://guides.library.uq.edu.au/apa6th-print-version#s-lg-page-section-6553042>

منابع با قلم Time new Roman 10 و فاصله بعد از هر منبع ۸pt انتخاب شود. تورفتگی منابع به صورت Hanging و ۰/۵ لحاظ گردد.

تمام منابع در متن باید به صورت زیر درج شود:

۱- یک نویسنده: نام نویسنده و سال انتشار (Smith, 2003) – (کرمی، ۱۳۷۴)

۲- دو نویسنده: نام هر دو نویسنده و سال انتشار (Smith & Jones, 2004) – (مهدویان و زنجیریان، ۱۳۸۳)

۳- بیش از دو نویسنده:

برای اولین بار: (Hoges, Jensen, Olsen, & Forgan, 2013) – (قربانی حسن‌سرایی، شهیدی، بهادر قدوسی و

معتمدزادگان، ۱۳۹۱)

در ارجاعات بعدی: (Hoges *et al.*, 2013) – (قربانی حسن‌سرایی و همکاران، ۱۳۹۱)

منابع ممکن است به صورت مستقیم و یا اینکه داخل پرانتز قرار گیرند. منابع باید به ترتیب حروف الفبا و سال انتشار درج گردند.

مثال:

برای اولین بار: (Allan, 1996a,b, 1999; Allan & Jones, 1995; Hoges, Jensen, Olsen, & Forgan, 2013) – (سازمان

ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۹ و ۱۳۸۲؛ کوروشیان، شریفی، مهدویان و بلوریان، ۱۳۹۴)

در ارجاعات بعدی:

(Allan, 1996a,b, 1999; Allan & Jones, 1995; Hoges *et al.*, 2013)

(۱۳۸۹)؛ Hoges و همکاران (۲۰۰۰)؛ سازمان ملی استاندارد ایران (۲۰۰۰) Smith و Kramer : (۲۰۰۰) Kramer

مثال

استانداردها

Takemori, T., Tsurumi, T., Takagi, M., & Ito, M. (1993). *U.S. Patent No. 5,232,734*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۷). میکروبیولوژی مواد غذایی و خوارک دام-روش جامع برای شمارش کپک‌ها و مخمرها- قسمت اول: روش شمارش کلنبی در فرآورده‌های با فعالیت آبی (a_w) بیشتر از ۰.۹۵. (شماره استاندارد ملی ایران ۱۰۸۹۹-۱).



<http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=12277>

Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2008). *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds -Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0.95*. (ISIRI Standard No. 10899-1). Retrieved from <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=12277> (in Persian)

پایان‌نامه‌ها

پوراعشوری، پ. (۱۳۸۷). خصوصیات فیزیکوشیمیایی و پایداری اکسایشی میکروکپسول‌های حاوی روغن ماهی و اسیدهای چرب



.(پایان‌نامه دکتری منتشرنشده). دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

Pourashouri, p. (2012). *Evaluation of the physicochemical and oxidative stability of microcapsules containing oil fish and omega-3*. (Unpublished doctoral dissertation), Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources (in Persian)

Alinasabhematabadi, L. (2015). *Protein oxidation in Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) during chilled and frozen storage*. (maste's thesis), NTNU, Retrieved from https://ntnuopen.ntnu.no/ntnu-xmlui/bitstream/handle/11250/2351628/8731_FULLTEXT.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Holopainen-Mantila, U. (2015). *Composition and structure of barley (*Hordeum vulgare L.*) grain in relation to end uses*. (Doctoral dissertation), Department of Biosciences, Faculty of Biological and Environmental Sciences, Plant Biology, VTT Technical Research Centre of Finland, University of Helsinki, Retrieved from <https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/153489/S78.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

مجله علمی

عیسی‌زاده، ح. و خادمیان، م. (۱۳۸۵). تهیه پلی‌پیرول و کامپوزیت‌های آن در محلول‌های گوناگون با استفاده از مواد افزودنی مختلف و مطالعه شکل‌شناختی و رسانندگی فیلم تهیه شده. مجله علوم و تکنولوژی پلیمر، ۱۹(۲)، ۱۳۱-۱۳۶.



[doi:https://doi.org/10.22063/JIPST.2006.837](https://doi.org/10.22063/JIPST.2006.837)

Eisa zadeh, H., & Khademian, M. (2006). Preparation of polypyrrole and its composites in various solutions using different additives and studying the morphology and conductivity of the prepared film.

Iranian Journal of Polymer Science and Technology, 19(2), 131-136. (in Persian)
doi:<https://doi.org/10.22063/JIPST.2006.837>

Osman, M. (2010). Controlling uncertainty: A review of human behavior in complex dynamic environments. *Psychological Bulletin*, 136(1), 65-86. doi: <http://dx.doi.org/10.1037/a0017815>

Wolchik, S. A., West, S. G., Sandler, I. N., Tein, J., Coatsworth, D., Lengua, L., . . . Griffin, W. A. (2000). An experimental evaluation of theory-based mother and mother-child programs for children of divorce. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*, 68, 843-856. doi: <http://dx.doi.org/10.1037/0022-006X.68.5.843>

کتاب

Glaszious, P., Irwig, L., Bain, C., & Colditz, G. (2001). *Systematic reviews in health care: A practical guide*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.



فاطمی، ح. (۱۳۹۵). شیمی مواد غذایی. شرکت سهامی انتشار. تعداد صفحات: ۴۸۷۰ یا صفحات ۳۶۸-۳۳۳

Fatemi, H. (2016). *Food Chemistry* (pp. 4870 or pp. 368-338): Enteshar Publication Company. (in Persian)

Doust, J. (2010). Evidence about diagnosis. In T. Hoffman, S. Bennett, & C. Del Mar (Eds.), *Evidence-based practice: Across the health professions* (pp. 128-144). Chatswoord, NSW: Elsevier Australia

همایش‌ها و کنفرانس‌ها

Sanaeifar, A., Mohtasebi, S. S., Ghasemi-Varnamkhasti, M., & Siadat, M. (2014, Nov). *Application of an electronic nose system coupled with artificial neural network for classification of banana samples during shelf-life process*. Paper presented at the 2014 International Conference on Control, Decision and Information Technologies (CoDIT).

قربانی حسن‌سرایی، آ.، شهریدی، ف.، بهادر قدوسی، ح. و معتمدزادگان، ع. (۱۳۹۱، مهر). قابلیت‌های منابع مختلف اسیدهای چرب امکا-۳ در غنی‌ساری مواد غذایی. دومین سمینار ملی امنیت غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی- واحد سوادکوه.
 https://www.civilica.com/Paper-FSS02-FSS02_320.html

Ghorbani Hassan Sariei, A., Shahidi, F., Bahadorghousi, H., & Motamedzadegan, A. (2012, October). *Potentials of different omega-3 fatty acids in food enrichments*. Paper presented at the 2nd Food Security Conference, Islamic Azad University, Savadkuh Branch. (in Persian) https://www.civilica.com/Paper-FSS02-FSS02_320.html

A template for preparing papers in journal of research and innovation in food science and technology using styles in Microsoft word 2007(style: English title)

First and Family name of Author¹, First and Family name of Author^{2*},
(Style: Authors)

1- Professor, Name of the Department, University Name, Mashhad, Iran

2- Assistant Professor, Name of the Department, University Name, Mashhad, Iran (Style:
Authors' Affiliation)

*Corresponding author (email@address.ac.ir)

Abstract (Style: Abstract Title)

The submitted articles are required to be written in English including an abstract which must comply with the following rules: 1) the title must be written at the top of the page, in the center, using Times New Roman BOLD, 14 pt. 2) The main words (not the prepositions) in the title must be capitalized. 3) The authors' names must be written, under the title, using Times New Roman BOLD, 12 pt. The names are followed by the authors' titles and their universities' titles using Times New Roman 11pt. 4) The keywords must be written, following the abstract text, using Times New Roman BOLD, 11 pt. (Style: Abstract)

Keywords (Style: Keywords Title): Authors' names, Main words, Title

چکیده و واژه‌های انگلیسی

چکیده انگلیسی در انتهای مقاله (بعد از فهرست منابع) قرار گیرد. عنوان انگلیسی با قلم 14 Times New Roman و به صورت برجسته در وسط سطر آورده شود. ابتدای واژه‌های اصلی عنوان انگلیسی مقاله با حروف بزرگ نوشته شود. اسمی نویسنده(گان) با قلم 12 Times New Roman و به صورت برجسته در وسط سطر و پس از آن درجه علمی و محل خدمت با قلم 11 Times New Roman و به صورت معمولی تایپ شود. چکیده انگلیسی باید ترجمه کامل چکیده فارسی باشد و تعداد کلمات چکیده بین ۱۵۰ تا ۲۵۰ کلمه است. چکیده انگلیسی با قلم 11 Times New Roman معمولی پس از اسمی نویسنده(گان) قرار گیرد. واژگان کلیدی انگلیسی (keywords) با قلم 11 Times New Roman به صورت برجسته پس از چکیده انگلیسی آورده شوند. تعداد واژگان کلیدی انگلیسی برابر فارسی آن باشد.

به نام خدا

فرم اشتراک نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی

خواهشمند است فرم زیر را تکمیل نموده و به آدرس زیر ارسال فرمایید:

مشهد، کیلومتر ۱۲ بزرگراه مشهد – قوچان، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی

صندوق پستی: ۹۱۸۹۵/۱۵۷-۷۶۹۳۳، کد پستی: ۹۱۸۵۱ نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی

نام و نام خانوادگی:

نشانی:

تلفن:

مايل به اشتراک مجله از تاريخ / / می باشم.

بهای اشتراک سالیانه ۱۰۰۰۰۰ ریال

(بهای اشتراک سالیانه برای دانشجویان شامل ۵۰ درصد تخفیف، معادل ۵۰۰۰۰ ریال می باشد.)

حق اشتراک بايستی به حساب درآمدهای اختصاصی پژوهشکده علوم و صنایع غذایی با مشخصات مشروحه

ذیل بابت حق اشتراک نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی واریز و فیش آن همراه با فرم و کیپی کارت

دانشجویی (درصورت استفاده از تخفیف دانشجویی) ارسال گردد.

شماره حساب تمرکزی: ۴۰۰-۱۰۲-۵۴۰-۳۰۱-۹۸۲۹

شناسه واریز (حتماً قید شود): ۲۰۳-۰۰۰-۰۰۰-۰۰۰-۳۵۵۷-۶۰۱۱-۰۲۵۴-۰۳۸-

شبا حساب: IR۴۱-۰۱۰۰-۰۰۴۰-۰۱۰۲-۵۴۰۳-۰۱۹۸-۲۹

امضاء:

تاریخ:

هیأت داوران مقالات این شماره:

گروه نانوفناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی	دکتر آرام بستان
گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی – واحد دامغان	دکتر هما بقائی
گروه افزودنی‌های غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی	دکتر شادی بلوریان
گروه آموزشی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی- واحد سبزوار	دکتر احمد پدرام نیا
گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان	دکتر سیدمهدي جعفری
گروه زیست فناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی	دکتر مرضیه حسینی‌نژاد
گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه زنجان	دکتر محسن زندی
گروه زیست فناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی	دکتر محبوبه سرابی جماب
گروه زیست فناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی	دکتر منیرالسادات شاکری
بخش تحقیقات فنی و مهندسی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی	دکتر پریون شرایعی
گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی - واحد آیت‌الله آملی	دکتر سیداحمد شهیدی
گروه شیمی مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی	دکتر مصطفی شهیدی نوقابی
گروه مهندسی بیوپریستم، دانشگاه بولی سینا همدان	دکتر فخرالدین صالحی
گروه ایمین و کنترل کیفیت مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی	دکتر ابراهیم فولادی
گروه صنایع غذایی، مرکز آموزش عالی کشاورزی خراسان رضوی (شهید هاشمی‌نژاد)	دکتر محسن قدس روحانی
گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد	مهندس قیطران پور
گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان	دکتر عبدالخالق گل‌کار
گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس	دکتر بهروز محمدزاده
گروه فرآوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی	دکتر مرتضی محمدی
گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی - واحد آیت‌الله آملی	دکتر عباس مهجویان نماری
گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد	دکتر هادی مهدویان مهر
گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی- واحد قوچان	دکتر الهام مهدیان
گروه نانوفناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی	دکتر سارا ناجی طبسی
گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان	دکتر محمد نوشاد

Contents

Evaluation of the Release of Microcapsulated Vanillin under Simulated Oral Conditions	111
Mohebbat Mohebbi, Mahdi Varidi, Mohammad Noshad, Mohammad Khalilian Movahhed	
Optimization of Gelatin Extraction Process, from Sheep Skin Waste Using Alcalase Enzyme by Response Surface Method	125
Mahdi Zarei, Mostafa Mazaheri Tehrani, Hasan Rashidi, Mohsen Fathi Najafi	
Modeling and Optimization of Physicochemical and Organoleptical Properties and <i>Lactobacillus acidophilus</i> Viability in Ultrafiltrated Synbiotic Cheese, Containing Microbial Transglutaminase Enzyme, Whey and Inulin	137
Fereshteh Torabi, Hossein Jooyandeh, Mohammad Noshad, Hassan Barzegar	
Investigating the Effect of Preservatives and Antioxidant on the Oxidative and Microbial Properties of Walnut Butter during the Shelf-life	151
Mostafa Shahidi Noghabi, Razieh Niazmand, Mozhdeh Sarraf, Mahnaz Shahidi Noghabi	
Effect the Ratio of an Emulsion Containing Sugar Alcohols and Particle Size on Thermal Resistance and Some Physical and Sensory Characteristics of Chocolate	165
Abdolali Esmali, Narmella Asefi, Samira Yeganehzad	
Application of Artificial Neural Network and Non-Destructive CT scan Test in Estimating the Amount of Pear Bruise Due To External Loads	177
Mohsen Azadbakht, Mohammad Vahedi Torshizi	
Application of Image Wavelet Transform for Qualitative Classification of Green Tea Using Metaheuristic Algorithms	189
Adel Bakhshipour, Hemad Zareiforoush, Iraj Bagheri	
The Use of Dietary Enrichment with Lemon Pomace Powder for the Prevention of Lipid and Protein Oxidation in Carp during Storage at Refrigerator	201
Elham Shabani, Amir Salari, Davar Shahsavani, Hasan Baghishani	

Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology

License No. 92.20519

Vol. 8, No. 2, 2019

Published by: Research Institute of Food Science and Technology

Executive Manager: R. Kadkhodaei Associate Professor, Department of Food Nanotechnology,
Research Institute of Food Science and Technology

Editor-in-Chief: S.A. Mortazavi Professor, Department of Food Science and Technology,
College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

Executive Director: S. Naji-tabasi Assistant Professor, Department of Food Nanotechnology,
Research Institute of Food Science and Technology

Administrative Coordinator: T. Shojaee-devin

Editorial Board:

S.A. Mortazavi Professor, Department of Food Science and Technology, College of
Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

F. Shahidi Professor, Department of Food Science and Technology, College of
Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

Gh. Rajabzadeh Associate Professor, Department of Food Nanotechnology, Research Institute
of Food Science and Technology

M.N. Eshtiaghi Professor, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering,
Mahidol University of Thailand

I. Alemzadeh Professor, Department of Food Chemical Engineering, Faculty of Chemical
and Petroleum Engineering, Sharif University of Technology

S. Abbasi Professor, Department of Food Science and Technology, College of
Agriculture, Tarbiat Modares University

B.S. Fazli Bazzaz Professor, Department of Pharmaceutical Chemistry, School of
Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences

S.M. Mousavi Professor, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering,
Ferdowsi University of Mashhad

R. Kadkhodaei Associate Professor, Department of Food Nanotechnology, Research Institute
of Food Science and Technology

M. Hosseini Nezhad Associate Professor, Department of Food Biotechnology, Research Institute of
Food Science and Technology

H.B. Ghoddusi Senior Lecturer & Research Fellow, School of Human Sciences, London
Metropolitan University

A. Farahnaky Food, Nutrition, Pharmaceutical and Nutraceutical Discipline Group, School
of Biomedical Sciences, Faculty of Science, Charles Sturt University, Wagga
Wagga, NSW, Australia

S.M. Jafari Professor, Department of Food Process Engineering, Gorgan University of
Agricultural Sciences & Natural Resources

Printed by: Research Institute of Food Science and Technology

Address: Research Institute of Food Science and Technology, km 12 Mashhad-Quchan Highway,
Mashhad, PO. Box: 91895/157/356

Tel: 051-35425328-9

Website: <http://journals.rifst.ac.ir>

Email: jrifst@rifst.ac.ir

Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology

Volume 8, Number 2, 2019

ISSN: 2252-0937 (Print), 2538-2357 (Online)

Contents

Evaluation of the Release of Microcapsulated Vanillin under Simulated Oral Conditions	111
Mohebbat Mohebbi, Mahdi Varidi, Mohammad Noshad, Mohammad Khalilian Movahhed	
Optimization of Gelatin Extraction Process, from Sheep Skin Waste Using Alcalase Enzyme by Response Surface Method	125
Mahdi Zarei, Mostafa Mazaheri Tehrani, Hasan Rashidi, Mohsen Fathi Najafi	
Modeling and Optimization of Physicochemical and Organoleptical Properties and Lactobacillus acidophilus Viability in Ultrafiltrated Synbiotic Cheese, Containing Microbial Transglutaminase Enzyme, Whey and Inulin	137
Fereshteh Torabi, Hossein Jooyandeh, Mohammad Noshad, Hassan Barzegar	
Investigating the Effect of Preservatives and Antioxidant on the Oxidative and Microbial Properties of Walnut Butter during the Shelf-life	151
Mostafa Shahidi Noghabi, Razieh Niazmand, Mozhdeh Sarraf, Mahnaz Shahidi Noghabi	
Effect the Ratio of an Emulsion Containing Sugar Alcohols and Particle Size on Thermal Resistance and Some Physical and Sensory Characteristics of Chocolate	165
Abdolali Esmali, Narmella Asefi, Samira Yeganehzad	
Application of Artificial Neural Network and Non-Destructive CT scan Test in Estimating the Amount of Pear Bruise Due To External Loads	177
Mohsen Azadbakht, Mohammad Vahedi Torshizi	
Application of Image Wavelet Transform for Qualitative Classification of Green Tea Using Metaheuristic Algorithms	189
Adel Bakhshipour, Hemad Zareiforoush, Iraj Bagheri	
The Use of Dietary Enrichment with Lemon Pomace Powder for the Prevention of Lipid and Protein Oxidation in Carp during Storage at Refrigerator	201
Elham Shabani, Amir Salari, Davar Shahsavani, Hasan Baghishani	