مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی

نشریه علمی

پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی

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

جلد ۹، شماره ۱، سال ۱۳۹۹

فهرست مطالب

بررسی تأثیر شرایط عملیاتی هیدرولیز پروتئین دانهٔ باقلا (*Vicia faba*) بر فعالیت ضداکسایشی آن ۱
سیده‌پریا سمائی، محمد قربانی، علیرضا صادقی ماهونک، مهران اعلمی

بررسی ویژگی‌های ساختاری و رهایش د–لیمونن نانوپوشانی‌شده با صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی به روش الکترواسپری ۱۱
خدیجه خوش‌اخلاق، محبت محبی، آرش کوچکی

خواص فیزیکوشیمیایی، ضدمیکروبی و محتوی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بره‌موم کندوهای زنبورعسل استان خراسان رضوی ۲۷
بی‌بی مرضیه رضوی‌زاده، راضیه نیازمند، سمیه حاجی‌نژاد، احسان اکبری

بهینه‌یابی فرمولاسیون ماست پروبیوتیک حاوی پورهٔ بادمجان براساس روش تحلیل سلسله مراتبی ۴۱
حسین جوینده، محمد نوشاد، کوثر کاکایی، میترا قدسی شیخ‌جان

استفاده از ترکیبات دیوارهٔ صمغ عربی، مالتودکسترین و اینولین جهت ریزپوشانی و رهایش سریع ترکیبات مؤثرهٔ اسانس هل در بزاق ۵۷
مصطفی شهیدی نوقابی، محمد ملاویسی

مقایسهٔ ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی بستنی تهیه‌شده از شیر گاو و شیر سویا با بستنی تولیدشده از پودر آمیختهٔ آنها ۷۳
عبدالرضا میرچولی برازق، مصطفی مظاهری تهرانی، سیدعلی مرتضوی، سیدمحمدعلی رضوی

مقایسهٔ اثر ضداکسایشی سلنیت سدیم میکروکپسول‌شده و ریزپوشانی‌نشده با بوتیل هیدروکسی‌آنیزول در روغن سویا ۸۵
سپیده مشتاقی، محمد گلی

بررسی اثر افزودن سودوموناس پوتیدا بر کاهش لیمونین در تلخی‌زدایی کنسانتره‌های پرتقال و گریپ‌فروت و ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی ۹۹
یاسمین محمدی، پیمان رجایی، محمدرضا اسحاقی

نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی

شماره پروانه: 92/20519 **جلد 9 شماره 1، سال 1399**

صاحب امتیاز: مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی

مدیر مسئول: دکتر رسول کدخدایی — استاد گروه نانوفناوری مواد غذایی مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی

سردبیر: 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: طیبه شجاعی دوین

هیأت تحریریه:

دکتر سیدعلی مرتضوی	استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر فخری شهیدی	استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر قدیر رجب‌زاده	دانشیار گروه نانو فناوری مواد غذایی مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی
دکتر ایران عالم‌زاده	استاد گروه مهندسی شیمی صنایع غذایی دانشگاه صنعتی شریف
دکتر سلیمان عباسی	استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس
دکتر بی‌بی صدیقه فضلی‌بزاز	استاد گروه شیمی دارویی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
دکتر سیدمحمود موسوی	استاد گروه مهندسی شیمی دانشکده مهندسی دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر رسول کدخدایی	استاد گروه نانوفناوری مواد غذایی مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی
دکتر مرضیه حسینی‌نژاد	دانشیار گروه زیست‌فناوری مواد غذایی مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی
دکتر حمید بهادرقدوسی	عضو هیأت علمی دانشگاه متروپولیتن لندن انگلستان
دکتر عسگر فرحناکی	عضو هیأت علمی دانشگاه چارلز استوارت استرالیا
دکتر راوی گونرات	استاد گروه صنایع غذایی، مولکولی و علوم زیستی دانشکده کشاورزی و علوم زیستی دانشگاه لینکلن نیوزیلند
دکتر آیدا آیدائو محمد	استاد و مدیر گروه مهندسی پلیمر و فرآیندهای زیستی دانشکده مهندسی انرژی و شیمی، دانشگاه تکنولوژی مالزی
دکتر کوانگ نگویان	استاد، مدیر گروه و معاون امور علمی و نوآوری گروه علوم غذایی دانشگاه سزینت ایستوان مجارستان
دکتر علاءالدین احمد بکیت	دانشیار گروه صنایع غذایی دانشگاه اوتاگو نیوزیلند
دکتر ژیانگ وو	گروه علوم و مهندسی موادغذایی دانشکده بین المللی دانشگاه جینان گوانگژو چین

ناشر: مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی

شمارگان:

قیمت: 250000 ریال (دانشجویان 125000 ریال)

نشانی: مشهد، کیلومتر 12 بزرگراه مشهد- قوچان، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، صندوق پستی: 91895/157/356

تلفن: 9-35425328 – 051

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

آدرس پست الکترونیکی: jrifst@rifst.ac.ir

بسم الله الرحمن الرحیم

مندرجات

عنوان مقالات **صفحه**

بررسی تأثیر شرایط عملیاتی هیدرولیز پروتئین دانهٔ باقلا (*Vicia faba*) بر فعالیت ضداکسایشی آن 1

سیده‌پریا سمائی، محمد قربانی، علیرضا صادقی ماهونک، مهران اعلمی

بررسی ویژگی‌های ساختاری و رهایش د - لیمونن نانوپوشانی‌شده با صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی به روش الکترواسپری 11

خدیجه خوش‌اخلاق، محبت محبی، آرش کوچکی

خواص فیزیکوشیمیایی، ضدمیکروبی و محتوی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بره‌موم کندوهای زنبورعسل استان خراسان رضوی 27

بی‌بی مرضیه رضوی‌زاده، راضیه نیازمند، سمیه حاجی‌نژاد، احسان اکبری

بهینه‌یابی فرمولاسیون ماست پروبیوتیک حاوی پورهٔ بادمجان براساس روش تحلیل سلسله مراتبی 41

حسین جوینده، محمد نوشاد، کوثر کاکایی، میترا قدسی شیخ‌جان

استفاده از ترکیبات دیوارهٔ صمغ عربی، مالتودکسترین و اینولین جهت ریزپوشانی و رهایش سریع ترکیبات مؤثرهٔ اسانس هل در بزاق 57

مصطفی شهیدی نوقابی، محمد ملاویسی

مقایسهٔ ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی بستنی تهیه‌شده از شیر گاو و شیر سویا با بستنی تولیدشده از پودر آمیختهٔ آنها 73

عبدالرضا میرچولی برازق، مصطفی مظاهری تهرانی، سیدعلی مرتضوی، سیدمحمدعلی رضوی

مقایسهٔ اثر ضداکسایشی سلنیت سدیم میکروکپسول‌شده و ریزپوشانی‌نشده با بوتیل هیدروکسی‌آنیزول در روغن سویا 85

سپیده مشتاقی، محمد گلی

بررسی اثر افزودن *سودوموناس پوتیدا* بر کاهش لیمونین در تلخی‌زدایی کنسانتره‌های پرتقال و گریپ‌فروت و ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی 99

یاسمین محمدی، پیمان رجایی، محمدرضا اسحاقی

JRIFST

مقالهٔ کامل پژوهشی

www.journals.rifst.ac.ir
نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی
سال ۱۳۹۹، جلد ۹، شماره ۱، صفحات ۱-۱۰
DOI: 10.22101/JRIFST.2019.09.21.e1285

بررسی تأثیر شرایط عملیاتی هیدرولیز پروتئین دانهٔ باقلا (*Vicia faba*) بر فعالیت ضداکسایشی آن

سیده‌پریا سمائی[۱]، محمد قربانی[۲*]، علیرضا صادقی ماهونک[۲]، مهران اعلمی[۲]

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۲- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
* نویسندهٔ مسئول (m.ghorbani@gau.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۱/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۶/۲۱

واژه‌های کلیدی
اصلاح پروتئین
پپتیدهای زیست‌فعال
فعالیت آنتی‌اکسیدانی
هیدرولیز آنزیمی

چکیده

اصلاح آنزیمی پروتئین‌ها به‌منظور شکست باندهای پپتیدی خاص و اصلاح پروتئین‌ها به‌طور گسترده در صنایع غذایی مورداستفاده قرار می‌گیرد. در این پژوهش پروتئین دانهٔ باقلا با استفاده از آنزیم‌های آلکالاز و تریپسین در سه غلظت (۱، ۲ و ۳ درصد) و زمان‌های واکنش ۶-۱ ساعت در دما و pH بهینهٔ هر آنزیم (به‌ترتیب ۵۰ و ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد و pH ۸/۵ و ۷) هیدرولیز شد. درجهٔ هیدرولیز، فعالیت مهارکنندگی رادیکال دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) و شلاته‌کنندگی یون فرو پروتئین‌های هیدرولیزشده موردبررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد درجهٔ هیدرولیز با افزایش زمان واکنش و غلظت آنزیم‌های آلکالاز و تریپسین افزایش یافت. زمان هیدرولیز و نوع آنزیم اثر معنی‌داری بر درجهٔ هیدرولیز، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و شلاته‌کنندگی پروتئین‌های هیدرولیزشدهٔ دانهٔ باقلا داشته است ($P<۰/۰۵$). پروتئین‌های هیدرولیزشده توسط آنزیم آلکالاز در غلظت ۳ درصد و زمان ۳ ساعت بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۷۵/۴۱ درصد) و شلاته‌کنندگی یون فرو (۵۵/۹۵ درصد) را داشته است. در غلظت‌های ۱ و ۲ درصد آنزیم تریپسین بیشترین مهارکنندگی رادیکال DPPH در زمان ۴ ساعت مشاهده شد که به‌ترتیب ۴۲/۳۸ و ۵۳/۷۰ درصد بوده است. بیشترین فعالیت شلاته‌کنندگی یون فرو در تیمارهای هیدرولیزشده توسط آنزیم تریپسین در زمان واکنش ۲ ساعت مشاهده شد و پس از آن فعالیت شلاته‌کنندگی کاهش یافت. فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH و شلاته‌کنندگی یون فرو با افزایش غلظت آنزیم افزایش یافت. نتایج نشان دادند آنزیم آلکالاز در مقایسه با آنزیم تریپسین، کارایی بالاتری در تولید پپتیدهای با خاصیت آنتی‌اکسیدانی داشته است.

مقدمه

پروتئین‌های گیاهی به‌صورت آرد، کنسانتره و ایزوله در فرمولاسیون‌های غذایی به‌عنوان ترکیبات مغذی برای افزایش محتوای پروتئینی محصول نهایی مورداستفاده قرار می‌گیرند. در بین پروتئین‌های با منبع گیاهی، بقولات دارای تعادل خوبی در اسیدهای آمینهٔ ضروری هستند و به‌صورت گسترده در شکل‌های مختلف (نوشیدنی‌ها، دسرها، محصولات بافت‌داده‌شده و غیره) مورداستفاده قرار می‌گیرند (Chardigny & Walrand, 2016). باقلا که متعلق به خانوادهٔ بقولات است دارای سابقهٔ طولانی در استفاده‌های متعدد به‌عنوان غذا می‌باشد. دلیل این امر دارابودن مقادیر ارزشمندی از پروتئین و انرژی به‌طور

همزمان است (Crépon *et al*., 2010). بقولات ازجمله باقلا به‌صورت ترکیب با سایر غذاهای گیاهی برای افزایش کیفیت و کمیت پروتئین مورداستفاده قرار می‌گیرند.

اصلاح آنزیمی پروتئین‌ها با استفاده از آنزیم‌های پروتئولتیک به‌منظور شکست باندهای پپتیدی خاص و اصلاح پروتئین‌ها به‌طور گسترده در صنایع غذایی مورداستفاده قرار می‌گیرد (Mullally, O'Callaghan, FitzGerald, Donnelly, & Dalton, 1994). ویژگی پپتیدهای حاصل از هیدرولیز آنزیمی تحت‌تأثیر شرایط هیدرولیز (دما، pH، نسبت آنزیم به سوبسترا و زمان) و نوع آنزیم قرار می‌گیرد. پپتیدهای حاصل از هیدرولیز ازنظر ویژگی‌های تغذیه‌ای، عملکردی و بیولوژیکی با پروتئین‌های اولیه متفاوت هستند. مطالعه‌های انجام‌شده نشان داد علاوه‌بر ویژگی‌های تغذیه‌ای پروتئین‌های هیدرولیزشده این ترکیبات دارای چندین اثر بیولوژیکی نیز می‌باشند. این مطالعه‌ها شامل استفاده از آنزیم‌های تجاری (آلکالاز، تریپسین، فلیورزایم، پپسین، پانکراتین، کیموتریسین و غیره) در شرایط مختلف هیدرولیز ازجمله زمان، نسبت آنزیم به سوبسترا، pH مخصوص هر آنزیم و دما می‌باشد (Ahn, Je, & Cho, 2012; Alashi *et al*., 2014; Fritz, Vecchi, Rinaldi, & Añón, 2011; Onuh, Girgih, Aluko, & Aliani, 2013; Zhao *et al*., 2012).

پپتیدهای حاصل از هیدرولیز دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی (Iwaniak & Minkiewicz, 2007; Peñta-Ramos & Xiong, 2002; Zhao, Huang, Zhang, Chen, & Jiang, 2011)، ضدسرطان (Shahidi & Zhong, 2008; Silva-Sánchez *et al*., 2008)، ضدمیکروبی (Harris, Mora-Montes, Gow, & Coote, 2009) و چندین عملکرد فیزیولوژیک دیگر می‌باشند. درصورت آماده‌سازی پروتئین هیدرولیزشده برای مصارف انسانی هیدرولیز آنزیمی ترجیح داده می‌شود زیرا در شرایط ملایمی انجام می‌شود ایمن و اختصاصی‌تر عمل می‌کند و اسیدهای آمینه را تخریب نمی‌کند درحالی‌که هیدرولیز اسیدی و قلیایی می‌توانند L- اسیدآمینه‌ها را تخریب کنند و ترکیبات سمی ازجمله لایزینوآلانین[1] تولید کنند (Zhang *et al*., 2012).

پروتئین‌های هیدرولیزشده بسته به ساختار پپتید مانند اندازهٔ پپتید و توالی اسیدآمینه که تحت‌تأثیر منشأ پروتئین و شرایط هیدرولیز قرار می‌گیرند، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند (Shahidi & Zhong, 2008). فاکتورهای متعددی ویژگی آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های هیدرولیزشده را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد که می‌توان به نوع پروتئین و آنزیم، درجهٔ هیدرولیز و پیش‌تیمارهای سوبسترا اشاره کرد (Elias, Kellerby, & Decker, 2008; Pazinatto, Malta, Pastore, & Maria Netto, 2013; Polanco-Lugo, Dávila-Ortiz, Betancur-Ancona, & Chel-Guerrero, 2014). فعالیت آنتی‌اکسیدانی با یک مکانیسم خاص انجام می‌گیرد که شامل ظرفیت واحدهای اسیدآمینه در انتقال الکترون‌ها به رادیکال‌های آزاد می‌باشد. پپتیدهای زیست‌فعال دارای توانایی بالایی در کاهش فعالیت مجدد رادیکال‌های آزاد هستند که این امر به‌دلیل تماس اسیدآمینه و واکنش اثرگذارتر با این رادیکال می‌باشد (Elias *et al*., 2008).

مقایسهٔ آنزیم‌های مختلف نشان داد که آنزیم‌های مختلف روی یک سوبسترای ثابت اثرات متفاوتی داشته‌اند. پروتئین هیدرولیزشدهٔ سویا با استفاده از آنزیم‌های پپسین، پاپائین[2]، کیموتریپسین، آلکالاز، پروتامکس[3] و فلیورزایم دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند که در محدودهٔ ۲۸ تا ۶۵ درصد بوده است (Peñta-Ramos & Xiong, 2002).

ازآنجایی‌که مطالعهٔ جامعی دررابطه‌با هیدرولیز آنزیم دانهٔ باقلا[4] صورت نگرفته است هدف این پژوهش بررسی پتانسیل استفاده از آنزیم آلکالاز و تریپسین در هیدرولیز آنزیمی پروتئین دانهٔ باقلا و مطالعهٔ ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی پروتئین هیدرولیزشدهٔ حاصل می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی آرد دانهٔ باقلا

پس از حذف مواد خارجی، دانه‌های باقلا توسط آسیاب برقی آسان توس شرق (مدل ۱۰۰۰، ساخت ایران) به آرد تبدیل شد. آرد حاصل از الک با مش ۵۰ عبور داده شد سپس به مدت ۶ ساعت با حلال هگزان به نسبت ۳:۱ چربی‌گیری شد. پس از هر ۲ ساعت حلال تازه به نمونه اضافه شد. پس از حلال‌زدایی از الک با مش ۵۰ به‌منظور ایجاد پودر دانهٔ باقلا عبور داده شد. سپس در دمای اتاق

[1] Lysinoalanine

[2] Papain

[3] Protamex

[4] *Vicia faba*

خشک و تا زمان استخراج پروتئین در فریزر و دمای ۱۸- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد (Sogi, Arora, Garg, & Bawa, 2002).

استخراج پروتئین دانهٔ باقلا

به‌منظور تهیهٔ ایزولهٔ پروتئین باقلا آرد چربی‌زدایی‌شدهٔ باقلا به میزان ۱۰۰ گرم در آب‌مقطر به نسبت ۱ به ۱۰ (وزنی-حجمی) مخلوط و با استفاده از سود ۱ مولار pH آن به ۱۱ رسانده شد سپس به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق و سرعت ۵۰۰ دور بر دقیقه مزده شد. عصارهٔ قلیایی حاصل در نیروی گرانشی دورانی ۱۶۰۰ و دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از جمع‌آوری سوپرناتانت با استفاده از اسید کلریدریک ۱ مولار pH آن به ۳ رسانده شد و پروتئین رسوب‌داده‌شده با سانتریفیوژ جداسازی شد. درنهایت پروتئین حاصل در خشک‌کن انجمادی خشک گردید و تا زمان هیدرولیز در کیسه‌های پلاستیکی در فریزر و دمای ۱۸- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد (Makri, Papalamprou, & Doxastakis, 2006).

هیدرولیز پروتئین دانهٔ باقلا

به‌منظور هیدرولیز پروتئین دانهٔ باقلا، پروتئین به نسبت ۴ درصد (وزنی-حجمی) در بافر فسفات pH ۸/۵ (Kong, Chanput, Theerakulkait, & Nakai, 2009) و ۷ (Zhou, & Qian, 2007) به‌ترتیب برای آنزیم آلکالاز و تریپسین تهیه شد. هیدرولیز در دمای بهینهٔ آنزیم آلکالاز و تریپسین به‌ترتیب ۵۰ و ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد، غلظت‌های آنزیم ۱ تا ۳ درصد و محدودهٔ زمانی ۱ تا ۶ ساعت در انکوباتور شیکردار (مدل 8480-VS، ساخت کره‌جنوبی) با سرعت ۲۰۰ دور بر دقیقه انجام شد. به‌منظور غیرفعال‌کردن فعالیت آنزیم، مجدداً محلول پروتئین در حمام آب‌گرم با دمای ۸۲ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. در مرحلهٔ بعد عمل سانتریفیوژ در نیروی گرانیش دورانی ۱۰۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. به‌منظور تولید پودر پروتئین هیدرولیزشدهٔ سوپرناتانت حاصل در خشک‌کن انجمادی در دمای۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد، فشار ۴۰ میلی‌بار و زمان ۴۸ ساعت (مدل Operon FDB 5503، ساخت کره‌جنوبی) خشک و تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد (Chanput *et al*., 2009).

تعیین درجهٔ هیدرولیز (DH[1])

برای تعیین درجهٔ هیدرولیز در انتهای هر واکنش ۱۰ میلی‌لیتر از پروتئین هیدرولیزشده با ۱۰ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۰/۴۴ مولار مخلوط شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در نیروی گرانشی دورانی ۲۶۰۰ سانتریفیوژ گردید (Hoyle & Merrltt, 1994). مقدار پروتئین سوپرناتانت با روش برادفورد اندازه‌گیری شد (Bradford, 1976). به‌این‌منظور ابتدا با استفاده از غلظت‌های مختلف پروتئین آلبومین سرم گاوی منحنی استاندارد رسم شد و با رسم منحنی و تعیین معادلهٔ خط غلظت نمونه‌های مجهول محاسبه شد. درجهٔ هیدرولیز با استفاده از رابطهٔ (۱) محاسبه گردید:

رابطهٔ (۱)

$$\text{درجه هیدرولیز} = \frac{\text{میزان پروتئین موجود در تری کلرو استیک اسید ۰/۴۴ مولار}}{\text{پروتئین کل موجود در نمونه}} \times ۱۰۰$$

تعیین فعالیت مهارکنندگی رادیکال (DPPH[2])

برای تعیین فعالیت مهارکنندگی رادیکال ۲ و ۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) ۱ میلی‌لیتر از محلول پروتئین هیدرولیزشده (با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آب‌مقطر) با ۱ میلی‌لیتر محلول DPPH ۰/۱ میلی‌مولار تهیه‌شده در اتانول ۹۶ درصد مخلوط شد. سپس به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق و مکان تاریک نگهداری و درنهایت جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. در نمونهٔ شاهد به‌جای نمونهٔ پروتئین هیدرولیزشده از ۱ میلی‌لیتر آب‌مقطر استفاده شد (Bougatef *et al*., 2009). فعالیت مهارکنندگی رادیکال با استفاده از رابطهٔ (۲) محاسبه گردید:

رابطهٔ (۲)

$$\text{درصد فعالیت مهارکنندگی رادیکال (DPPH)} = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد}}{\text{جذب شاهد}} \times ۱۰۰$$

فعالیت شلاته‌کنندگی یون فرو (Fe^{2+})

برای تعیین فعالیت شلاته‌کنندگی یون فرو (Fe^{2+}) ۴/۷

[1] Degree of Hydrolysis
[2] 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

میلی‌لیتر از محلول پروتئین هیدرولیزشده (با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آب‌مقطر) با ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول ۲ میلی‌مولار کلرید آهن (II) و ۰/۲ میلی‌لیتر فروزین ۵ میلی‌مولار مخلوط گردید. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. پس از طی این زمان جذب در طول موج ۵۶۲ نانومتر خوانده شد (Nalinanon, Benjakul, Kishimura, & Shahidi, 2011). در نمونهٔ شاهد به‌جای نمونهٔ پروتئین از آب‌مقطر استفاده شد. فعالیت شلاته‌کنندگی با استفاده از رابطهٔ (۳) محاسبه گردید:

رابطهٔ (۳)

$$\text{فعالیت شلاته کنندگی (درصد)} = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد}}{\text{جذب شاهد}} \times ۱۰۰$$

تجزیه‌وتحلیل آماری

تمامی آزمون‌ها در سه تکرار انجام شد. به‌منظور آنالیز داده‌ها و بررسی اطلاعات حاصل از آزمایش از طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. جهت تعیین اختلاف بین میانگین داده‌ها پس از آنالیز واریانس (ANOVA)، از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۹۵ درصد استفاده گردید. تجزیه‌وتحلیل آماری نتایج با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخهٔ ۱۶ انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel نسخهٔ ۲۰۱۳ استفاده شد.

نتایج و بحث

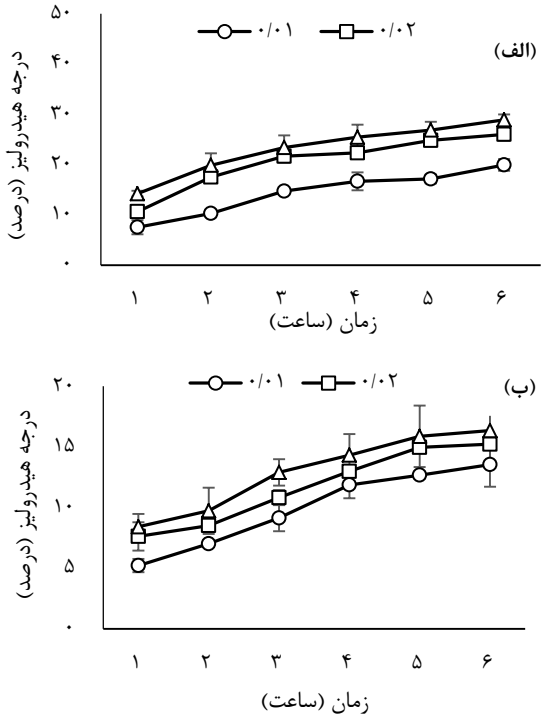
درجهٔ هیدرولیز

دانهٔ باقلای اولیه دارای درصد پروتئین ۳۰/۱۹ درصد می‌باشد. درجهٔ هیدرولیز نشان‌دهندهٔ نسبت پیوندهای پپتیدی شکسته‌شده در پروتئین هیدرولیزشده می‌باشد. بسیاری از خواص پروتئین‌های هیدرولیزشده، ازجمله اسیدهای آمینهٔ آزاد، میزان انحلال‌پذیری، وزن مولکولی پپتیدهای حاصل و خواص ضداکسایشی و سایر فعالیت‌های زیستی پپتیدهای تولیدشده وابسته به شدت و میزان درجهٔ هیدرولیز می‌باشد، بنابراین کنترل میزان پیشرفت هیدرولیز طی فرایند هیدرولیز حائز اهمیت است (Himonides, Taylor, & Morris, 2011).

تغییرات درجهٔ هیدرولیز آنزیم‌های آلکالاز و تریپسین طی زمان‌های مختلف ۶-۱ ساعت و در غلظت‌های مختلف آنزیم (۱، ۲ و ۳ درصد) در شکل (۱) نشان داده شده است. با گذشت زمان درجهٔ هیدرولیز افزایش یافت. زمان‌ها و غلظت‌های مختلف آنزیم دارای اثر قابل‌ملاحظه‌ای بر درجهٔ هیدرولیز توسط آنزیم آلکالاز و تریپسین بوده است ($P<۰/۰۵$). با افزایش غلظت آنزیم‌ها درجهٔ هیدرولیز افزایش یافت بیشترین درجهٔ هیدرولیز در غلظت ۳ درصد آنزیم آلکالاز و تریپسین مشاهده شد. نتایج نشان داد که توانایی آنزیم آلکالاز در هیدرولیز پروتئین دانهٔ باقلا بیشتر بوده است به‌طوری‌که در غلظت ۳ درصد و زمان هیدرولیز ۶ ساعت آنزیم آلکالاز و تریپسین به‌ترتیب درجهٔ هیدرولیز ۲۸/۹۱ و ۱۷/۹۰ درصد داشته‌اند. تحت‌تأثیر غلظت ۳ درصد آنزیم آلکالاز و زمان‌های واکنش ۴، ۵ و ۶ ساعت اختلاف معنی‌داری در درجهٔ هیدرولیز مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$)، اما در غلظت مشابه آنزیم تریپسین درجهٔ هیدرولیز در زمان هیدرولیز ۶ ساعت با درجهٔ هیدرولیز در زمان‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ ساعت تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P<۰/۰۵$). تریپسین یک سرین پپتیداز است و پیوندهای بعد از واحدهای با بار مثبت را می‌شکند. در واقع تریپسین پپتیدهای C- ترمینال واحدهای لیزین و آرژنین را می‌شکند. به‌بیان‌دیگر تریپسین بسیار اختصاصی عمل می‌کند و نرخ هیدرولیز در آن کمتر است (Ng & Khan, 2012). در پژوهشی اثر آنزیم‌های مختلف (آلکالاز، فلیورزایم، پپسین و تریپسین) بر میزان پیشرفت هیدرولیز پروتئین هستهٔ پالم موردمطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که آنزیم آلکالاز بیشترین توانایی را در هیدرولیز پروتئین هستهٔ پالم داشته است و با افزایش غلظت آنزیم درجهٔ هیدرولیز افزایش یافت (Ng & Khan, 2012). هیدرولیز پروتئین دانهٔ کنار[1] با استفاده از غلظت ۳ درصد آنزیم آلکالاز و زمان ۱۸۰-۰ دقیقه انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش زمان هیدرولیز درجهٔ هیدرولیز افزایش یافت به‌طوری‌که در زمان ۱۸۰ درجهٔ هیدرولیز به ۲۲/۸۲ درصد رسید (Tatontos, 2015)، درحالی‌که پروتئین هیدرولیزشدهٔ سویا توسط آنزیم آلکالاز در زمان ۱۲۰ دقیقه بیشترین درجهٔ هیدرولیز را داشته است زیرا بسته به نوع مادهٔ اولیه اثر آنزیم متفاوت است (Hrckova, Rusnakova, & Zemanovic, 2002). در پژوهش دیگری پروتئین کنجالهٔ کدو به‌وسیلهٔ آنزیم‌های آلکالاز، فلیورزایم، پروتامکس و نئوتراز[2] هیدرولیز شد. پروتئین هیدرولیزشده توسط آنزیم

[1] Lotus seed protein
[2] Neutrase

آلکالاز دارای بیشترین درجهٔ هیدرولیز (۱۴/۲۰ درصد) بوده است (Muhamyankaka, Shoemaker, Nalwoga, & Zhang, 2013). پروتئین دانهٔ گوجه‌فرنگی نیز به‌وسیلهٔ غلظت‌های ۱ و ۲ درصد آنزیم آلکالاز و فلیورزایم هیدرولیز شد. نتایج نشان داد که افزایش غلظت آنزیم‌ها سبب افزایش درجهٔ هیدرولیز گشت و غلظت ۲ درصد آنزیم آلکالاز بیشترین درجهٔ هیدرولیز را داشت (امیری‌اندی، معتمدزادگان و حسینی‌پرور، ۱۳۹۵). درجهٔ هیدرولیز ایزولهٔ پروتئین سویا با افزایش غلظت آنزیم آلکالاز افزایش یافت (اعتمادی، صادقی ماهونک، قربانی و مقصودلو، ۱۳۹۴). نتایج هیدرولیز ایزولهٔ پروتئین نخود[1] با غلظت‌های مختلف آنزیم تریپسین نشان داد که با افزایش غلظت آنزیم درجهٔ هیدرولیز افزایش یافت (Karamac, Amarowicz, & Kostyra, 2002).



شکل ۱- اثر زمان واکنش و غلظت آنزیم بر درجهٔ هیدرولیز پروتئازهای مختلف (الف): آنزیم آلکالاز (ب): آنزیم تریپسین

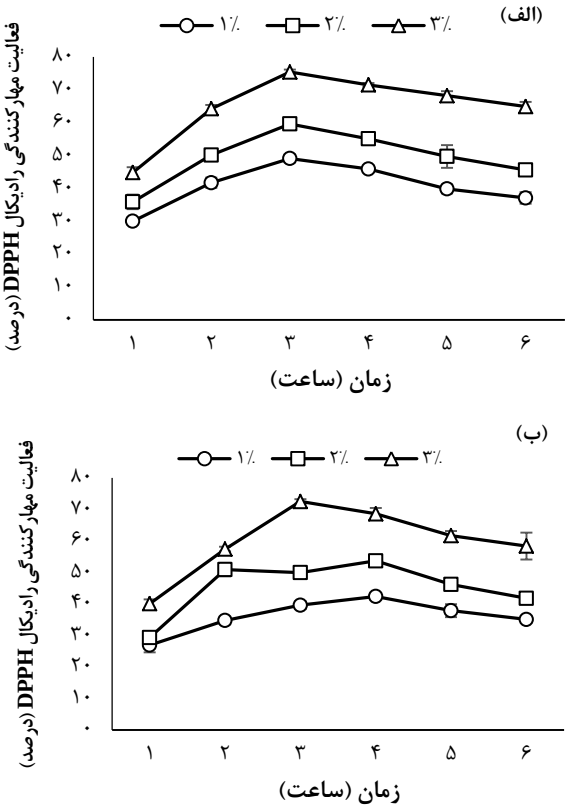
فعالیت مهارکنندگی رادیکال (DPPH)

فعالیت ضداکسایشی پروتئین هیدرولیزشدهٔ باقلا تحت‌تأثیر دو آنزیم آلکالاز و تریپسین در بازهٔ زمانی ۶-۱ ساعت در شکل (۲) نشان داده شده است. هیدرولیز آنزیمی سبب افزایش فعالیت مهارکنندگی رادیکال (DPPH) نسبت به پروتئین اولیه (۲۲/۵۴ درصد) شد ($P<۰/۰۵$).

افزایش زمان هیدرولیز تا زمان ۳ ساعت توسط آنزیم آلکالاز سبب افزایش درصد مهار رادیکال (DPPH) در پروتئین هیدرولیزشده گشت و پس از این زمان روند نزولی مشاهده شد. بیشترین مهارکنندگی رادیکال (DPPH) ۷۵/۴۱ درصد در غلظت ۳ درصد آنزیم آلکالاز و زمان واکنش ۳ ساعت بوده است که با زمان‌های ۴ و ۵ ساعت اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). در تمام تیمارها افزایش غلظت آنزیم سبب افزایش درصد مهارکنندگی رادیکال (DPPH) گشت. در غلظت‌های ۱ و ۲ درصد آنزیم تریپسین بیشترین مهارکنندگی رادیکال (DPPH) در زمان ۴ ساعت و در غلظت ۳ درصد آنزیم تریپسین بیشترین مهارکنندگی در زمان ۳ ساعت مشاهده شد که به‌ترتیب ۴۲/۳۸، ۵۳/۷۰ و ۷۲/۵۴ درصد بوده است. اثر زمان و غلظت آنزیم بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال (DPPH) معنی‌دار بوده است ($P<۰/۰۵$). میزان مهارکنندگی در پروتئین هیدرولیزشده توسط آنزیم تریپسین کمتر از پروتئین هیدرولیزشده توسط آنزیم آلکالاز بوده است این امر ممکن است به‌دلیل نوع اسیدهای آمینهٔ موجود در پپتیدهای حاصل و توالی آنها باشد (Marcuse, 1962). پروتئین‌های هیدرولیزشده بسته به ساختار پپتیدها، اندازهٔ پپتید و توالی اسیدآمینه دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی متفاوتی هستند (Shahidi & Zhong, 2008). کاهش فعالیت مهارکنندگی توسط پروتئین هیدرولیزشده با زیادشدن زمان هیدرولیز می‌تواند ناشی از پیشرفت مقدار هیدرولیز و اثر بیشتر آنزیم بر مادهٔ پروتئینی باشد که این موضوع باعث شکستن زنجیرهٔ برخی از پپتیدهای ضداکسایشی تشکیل‌شده در مراحل اولیهٔ هیدرولیز و کاهش آنها می‌شود (Wu, Chen, & Shiau, 2003). تفاوت در فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های هیدرولیزشده با درجهٔ هیدرولیز یکسان در اثر تفاوت در فعالیت کاتالیکی و اختصاصی‌بودن آنزیم می‌باشد که می‌تواند تعداد و مکان هیدرولیز باندهای پپتیدی را تحت‌تأثیر قرار دهد (Polanco-Lugo *et al.*, 2014). در تحقیقی که دررابطه‌با هیدرولیز پروتئین نان زنجبیلی با استفاده از هیدرولیز دو مرحله‌ای آنزیم‌های پپسین و تریپسین انجام شد نتایج مشابهی حاصل شد و در زمان ۱۸۰ دقیقه بیشترین فعالیت ضداکسایشی

[1] *Propulse*

مشاهده شد (Amza, Balla, Tounkara, Man, & Zhou, 2013). مطالعه‌های انجام‌شده نشان داد پروتئین هیدرولیزشدهٔ آفتاب‌گردان توسط آنزیم تریپسین در زمان‌های ۶۰ و ۱۸۰ دقیقه بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را داشته است که به‌ترتیب ۹۴/۳۲ و ۶۱/۲۱ درصد بوده است (Taha, Mohamed, Wagdy, & Mohamed, 2013).



شکل ۲- فعالیت مهارکنندگی رادیکال (DPPH) در زمان‌های واکنش و غلظت‌های مختلف آنزیم آلکالاز و تریپسین (الف): آنزیم آلکالاز (ب): آنزیم تریپسین

فعالیت شلاته‌کنندگی یون فرو (Fe^{2+})

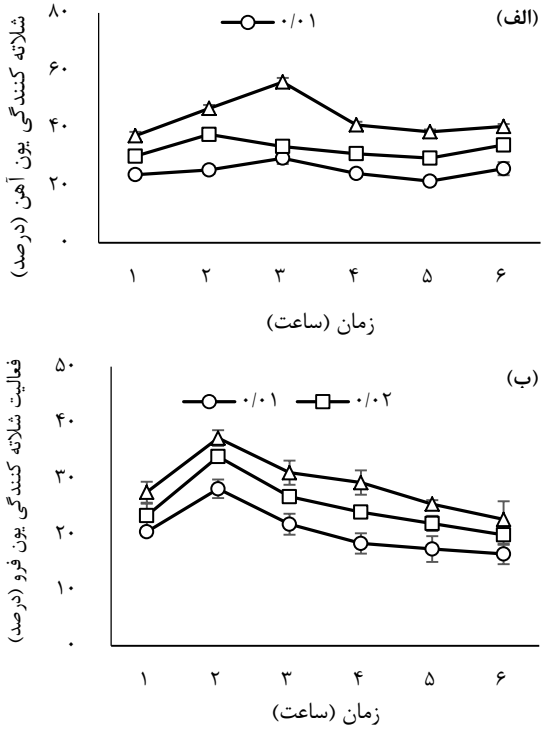
فعالیت شلاته‌کنندگی یون فرو پروتئین هیدرولیزشدهٔ دانهٔ باقلا توسط آنزیم‌های آلکالاز و تریپسین در شکل (۳) نشان داده شده است.

نتایج نشان داد که تمامی پروتئین‌های هیدرولیزشده فعالیت شلاته‌کنندگی بیشتری نسبت به پروتئین اولیهٔ باقلا (۵/۲ درصد) داشته‌اند ($P<۰/۰۵$). در تیمارهای حاصل از هیدرولیز آلکالاز با افزایش غلظت آنزیم درصد شلاته‌کنندگی یون فرو افزایش یافت. در غلظت‌های آنزیم ۱ و ۳ درصد از زمان ۱ تا ۳ ساعت روند افزایشی در مهارکنندگی یون فرو مشاهده شد سپس در زمان‌های ۴ و ۵ ساعت با افزایش درجهٔ هیدرولیز کاهش و پس از آن افزایش یافت. اگرچه بیشترین فعالیت شلاته‌کنندگی در غلظت‌ها ۱ و ۳ درصد آنزیم آلکالاز در زمان ۳ ساعت و به‌ترتیب ۲۹/۴۵ و ۵۵/۹۵ درصد بوده است اما در غلظت ۱ درصد آنزیم آلکالاز اختلاف معنی‌داری در شلاته‌کنندگی یون آهن در پروتئین هیدورلیزشده طی زمان‌های واکنش متوالی ۲ و ۳ ساعت مشاهده شد ($P>۰/۰۵$). شلاته‌کنندگی یون آهن پروتئین هیدرولیزشدهٔ حاصل از غلظت آنزیم ۳ درصد و زمان واکنش ۳ درصد با سایر زمان‌های واکنش اختلاف معنی‌داری داشته است ($P<۰/۰۵$). در غلظت ۲ درصد آنزیم آلکالاز بیشترین فعالیت مهارکنندگی در زمان ۲ ساعت (۳۷/۷۲ درصد) مشاهده شد و پس از آن روند کاهشی تا زمان ۵ ساعت ادامه یافت. فعالیت مهارکنندگی در این غلظت آنزیم آلکالاز و زمان واکنش ۲ و ۳ ساعت اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P>۰/۰۵$). اثر زمان و غلظت آنزیم بر فعالیت شلاته‌کنندگی یون فرو معنی‌دار بوده است ($P<۰/۰۵$).

در تیمارهای هیدرولیزشده توسط آنزیم تریپسین بیشترین فعالیت شلاته‌کنندگی در زمان هیدرولیز ۲ ساعت مشاهده شد و پس از آن فعالیت شلاته‌کنندگی با افزایش زمان و درجهٔ هیدرولیز کاهش یافت ($P<۰/۰۵$). بیشترین فعالیت شلاته‌کنندگی در غلظت ۳ درصد آنزیم تریپسین، ۳۷/۲۱ درصد بوده است. نتایج نشان داد پپتیدهای حاصل از هیدرولیز آنزیم آلکالاز فعالیت شلاته‌کنندگی بیشتری نسبت به پپتیدهای حاصل از آنزیم تریپسین داشته‌اند. نتایج هیدرولیز آنزیمی پروتئین دانهٔ کدو توسط غلظت‌های ۱ و ۲ درصد آنزیم تریپسین نشان داد که افزایش غلظت آنزیم سبب افزایش فعالیت شلاته‌کنندگی شد (نورمحمدی، صادقی‌ماهونک، قربانی، اعلمی و صادقی، ۱۳۹۴). فعالیت شلاته‌کنندگی پروتئین هیدرولیزشدهٔ پروتئین دانهٔ چای توسط آنزیم آلکالاز نیز در ابتدای زمان هیدرولیز افزایش و سپس کاهش یافت (Li, Shen, Deng, Li, & Ding, 2014). هیدرولیز آنزیمی سبب در معرض قرارگیری دومین‌های[1] پپتیدهای داخلی پروتئین می‌شود. اگرچه هیدرولیز زیاد سبب شکسته‌شدن پروتئین به پپتیدهای کوچک می‌شود و ساختار پپتیدهای

[1] Domains

فعال را می‌شکند و سبب کاهش فعالیت زیستی آن می‌گردد (Kristinsson & Rasco, 2000). پیشرفت هیدرولیز بسته به نوع آنزیم، درجهٔ هیدرولیز و زمان هیدرولیز بر فعالیت زیستی پپتیدهای حاصل اثرگذار است. زمان هیدرولیز پروفایل پروتئین‌های هیدرولیزشده را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد و سبب عملکردهای متفاوتی در آنها می‌شود (Klompong, Benjakul, Kantachote, & Shahidi, 2007; Liu, Kong, Xiong, & Xia, 2010).



شکل ۳- فعالیت شلاته‌کنندگی یون فرو در زمان‌های واکنش و غلظت‌های مختلف آنزیم آلکالاز و تریپسین (الف): آنزیم آلکالاز (ب): آنزیم تریپسین

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق نشان داد با تغییر شرایط هیدرولیز ازجمله نوع آنزیم، غلظت آنزیم و زمان هیدرولیز می‌توان به پروتئین‌های هیدرولیزشده با فعالیت آنتی‌اکسیدانی متفاوت دست یافت. درجهٔ هیدرولیز با افزایش زمان واکنش و غلظت آنزیم‌های آلکالاز و تریپسین افزایش یافت. اثر زمان واکنش و نوع آنزیم بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و شلاته‌کنندگی پروتئین‌های هیدرولیزشدهٔ دانهٔ باقلا توسط آنزیم آلکالاز و تریپسین معنی‌دار بوده است (P<۰/۰۵). پروتئین‌های هیدرولیزشده توسط آنزیم آلکالاز در غلظت ۳ درصد و زمان ۳ ساعت بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۷۵/۴۱ درصد) و شلاته‌کنندگی یون فرو (۵۵/۹۵ درصد) را داشته است. در غلظت‌های ۱ و ۲ درصد آنزیم تریپسین بیشترین مهارکنندگی رادیکال (DPPH) در زمان ۴ ساعت و در غلظت ۳ درصد آنزیم تریپسین بیشترین مهارکنندگی در زمان ۳ ساعت مشاهده شد که به‌ترتیب ۴۲/۳۸، ۵۳/۷۰ و ۷۲/۵۴ درصد بوده است. بیشترین فعالیت شلاته‌کنندگی یون فرو در زمان هیدرولیز ۲ ساعت مشاهده شد و پس از آن فعالیت شلاته‌کنندگی کاهش یافت. فعالیت مهارکنندگی رادیکال (DPPH) و شلاته‌کنندگی یون فرو با افزایش غلظت آنزیم افزایش یافت. آنزیم آلکالاز در مقایسه با آنزیم تریپسین، کارایی بالاتری در تولید پپتیدهای با خاصیت آنتی‌اکسیدانی داشته است.

منابع

اعتمادی، م.، صادقی ماهونک، ع.، قربانی، م.، و مقصودلو، ی. (۱۳۹۴). تولید و بررسی فعالیت شلاته‌کنندگی و قدرت احیاءکنندگی پروتئین‌های هیدرولیز شده حاصل از ایزوله پروتئین سویا. *علوم غذایی و تغذیه*، ۱۳(زمستان ۹۴)، ۶۵-۷۴.

امیری‌اندی، م.، معتمدزادگان، ع.، و حسینی‌پرور، س. (۱۳۹۵). مقایسه روش‌های قلیایی و آنزیمی استخراج در ویژگی‌ها و راندمان هیدرولیز پروتئین دانه گوجه‌فرنگی. *پژوهش های صنایع غذایی*، ۲۶(۲)، ۳۳۳-۳۴۳.

نورمحمدی، ا.، صادقی‌ماهونک، ع.، قربانی، م.، اعلمی، م.، و صادقی، م. (۱۳۹۴). بهینه‌سازی شرایط تولید پپتیدهای ضداکسایش از هیدرولیز کنسانتره پروتئینی دانه کدو توسط تریپسین به روس سطح پاسخ. *پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران*، ۱۳(۱)، ۱۴-۲۶. doi:https://doi.org/10.22067/ifstrj.v1395i0.45423

Ahn, C.-B., Je, J.-Y., & Cho, Y.-S. (2012). Antioxidant and anti-inflammatory peptide fraction from salmon byproduct protein hydrolysates by peptic hydrolysis. *Food Research International*, *49*(1), 92-98. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.002

Alashi, A. M., Blanchard, C. L., Mailer, R. J., Agboola, S. O., Mawson, A. J., He, R., . . . Aluko, R. E. (2014). Antioxidant properties of Australian canola meal protein hydrolysates. *Food Chemistry, 146*, 500-506. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.081

Amiri Andi, M., Motamedzadegan, A., & Hosseini-Parvar, S. H. (2016). Comparison of enzymatic and alkaline treatment on hydrolysis yield and properties of tomato seed protein. *Journal of Food Research, 26*(2), 333-343. (in Persian)

Amza, T., Balla, A., Tounkara, F., Man, L., & Zhou, H. (2013). Effect of hydrolysis time on nutritional, functional and antioxidant properties of protein hydrolysates prepared from gingerbread plum (Neocarya macrophylla) seeds. *International Food Research Journal, 20*(5), 2081 .

Bougatef, A., Hajji, M., Balti, R., Lassoued, I., Triki-Ellouz, Y., & Nasri, M. (2009). Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (Mustelus mustelus) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food Chemistry, 114*(4), 1198-1205. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.075

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry, 72*(1), 248-254. doi:https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3

Chanput, W., Theerakulkait, C., & Nakai, S. (2009). Antioxidative properties of partially purified barley hordein, rice bran protein fractions and their hydrolysates. *Journal of Cereal Science, 49*(3), 422-428. doi:https://doi.org/10.1016/j.jcs.2009.02.001

Chardigny, J.-M., & Walrand, S. (2016). Plant protein for food: opportunities and bottlenecks. *OCL Oilseeds and fats crops and lipids, 23*(4), 6 p. doi:https://doi.org/10.1051/ocl/2016019

Crépon, K., Marget, P., Peyronnet, C., Carrouée, B., Arese, P., & Duc, G. (2010). Nutritional value of faba bean (Vicia faba L.) seeds for feed and food. *Field Crops Research, 115*(3), 329-339. doi:https://doi.org/10.1016/j.fcr.2009.09.016

Elias, R. J., Kellerby, S. S., & Decker, E. A. (2008). Antioxidant Activity of Proteins and Peptides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 48*(5), 430-441. doi:https://doi.org/10.1080/10408390701425615

Etemadi, M., Sadeghi Mahonak, A. R., Ghorbani, M., & Maghsoudlou, Y. (2015). Production and Evaluation of Chelating Activity and Reducing Power of Protein Hydrolysates Obtained from Soy Protein Isolate. *Journal of Food Technology and Nutrition, 13*(1), 65-74. (in Persian)

Fritz, M., Vecchi, B., Rinaldi, G., & Añón ,M. C. (2011). Amaranth seed protein hydrolysates have in vivo and in vitro antihypertensive activity. *Food Chemistry, 126*(3), 878-884. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.065

Harris, M., Mora-Montes, H. M., Gow, N. A., & Coote, P. J. (2009). Loss of mannosylphosphate from Candida albicans cell wall proteins results in enhanced resistance to the inhibitory effect of a cationic antimicrobial peptide via reduced peptide binding to the cell surface. *Microbiology, 155*(4), 1058-1070 .

Himonides, A .T., Taylor, A. K., & Morris, A. J. (2011). A study of the enzymatic hydrolysis of fish frames using model systems. *Food and Nutrition Sciences, 2*(06), 575-585. doi:https://dx.doi.org/10.4236/fns.2011.26081

Hoyle, N. T., & Merrltt, J. H. (1994). Quality of Fish Protein Hydrolysates from Herring (Clupea harengus). *Journal of Food Science, 59*(1), 76-79. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1994.tb06901.x

Hrckova, M., Rusnakova, M., & Zemanovic, J. (2002). Enzymatic hydrolysis of defatted soy flour by three different proteases and their effect on the functional properties of resulting protein hydrolysates. *Czech journal of food sciences, 20*(1), 7-14 .

Iwaniak, A., & Minkiewicz, P. (2007). Proteins as the source of physiologically and functionally active peptides. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria, 6*(3), 5-15 .

Karamac, M., Amarowicz, R., & Kostyra, H. (2002). Effect of temperature and enzyme/substrate ratio on the hydrolysis of pea protein isolates by trypsin. *Czech journal of food sciences, 20*(1), 1-6 .

Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D., & Shahidi, F. (2007). Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (Selaroides leptolepis) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food Chemistry, 102*(4), 1317-1327. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.016

Kong, X., Zhou, H., & Qian, H. (2007). Enzymatic preparation and functional properties of wheat gluten hydrolysates. *Food Chemistry, 101*(2), 615-620. doi:https//:doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.01.057

Kristinsson, H. G., & Rasco, B. A. (2000). Biochemical and Functional Properties of Atlantic Salmon (Salmo salar) Muscle Proteins Hydrolyzed with Various Alkaline Proteases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48*(3), 657-666. doi:https://doi.org/10.1021/jf990447v

Li, X., Shen, S., Deng, J., Li, T., & Ding, C. (2014). Antioxidant activities and functional properties of tea seed protein hydrolysates (Camellia oleifera Abel.) influenced by the degree of enzymatic hydrolysis. *Food Science and Biotechnology, 23*(6), 2075-2082. doi:https://doi.org/10.1007/s10068-014-0282-2

Liu, Q., Kong, B., Xiong, Y. L., & Xia, X. (2010). Antioxidant activity and functional properties of porcine plasma protein hydrolysate as influenced by the degree of hydrolysis. *Food Chemistry, 118*(2), 403-410. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.013

Makri, E. A., Papalamprou, E. M., & Doxastakis, G. I. (2006). Textural properties of legume protein isolate and polysaccharide gels. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 86*(12), 1855-1862. doi:https://doi.org/10.1002/jsfa.2531

Marcuse, R. (1962). The effect of some amino acids on the oxidation of linoleic acid and its methyl ester. *Journal of the American Oil Chemists Society, 39*(2), *97-103.* doi:https://doi.org/10.1007/BF02631680

Muhamyankaka, V., Shoemaker, C., Nalwoga, M., & Zhang, X. (2013). Physicochemical properties of hydrolysates from enzymatic hydrolysis of pumpkin (Cucurbita moschata) protein meal. *International Food Research Journal, 20*(5), 2227 .

Mullally, M. M., O'Callaghan, D. M., FitzGerald, R. J., Donnelly, W. J., & Dalton, J. P. (1994). Proteolytic and Peptidolytic Activities in Commercial Pancreatic Protease Preparations and Their Relationship to Some Whey Protein Hydrolyzate Characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 42*(12), 2973-2981. doi:https://doi.org/10.1021/jf00048a062

Nalinanon, S., Benjakul, S., Kishimura, H., & Shahidi, F. (2011). Functionalities and antioxidant properties of protein hydrolysates from the muscle of ornate threadfin bream treated with pepsin from skipjack tuna. *Food Chemistry, 124*(4), 1354-1362. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.089

Ng, K., & Khan, A. M. (2012). Enzymatic preparation of palm kernel expeller protein hydrolysate (PKEPH). *International Food Research Journal, 19*(2), 721 .

Nourmohammadi, E., Sadeghi Mahoonak, A., Ghorbani, M., Alami, M., & Sadeghi, M. (2015). The optimization of the production of anti-oxidative peptides from enzymatic hydrolysis of Pumpkin seed protein. *Iranian Food Science and Technokogy Research Journal, 13*(1), 14-26. doi:https://doi.org/10.22067/ifstrj.v1395i0.45423 (in Persian)

Onuh, J. O., Girgih, A. T., Aluko, R. E., & Aliani, M. (2013). Inhibitions of renin and angiotensin converting enzyme activities by enzymatic chicken skin protein hydrolysates. *Food Research International, 53*(1), 260-267. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.05.010

Pazinatto, C., Malta, L. G., Pastore, G. M., & Maria Netto, F. (2013). Antioxidant capacity of amaranth products: effects of thermal and enzymatic treatments. *Food Science and Technology, 33*(3), 485-493 .

Peñta-Ramos, E. A., & Xiong, Y. L. (2002). Antioxidant Activity of Soy Protein Hydrolysates in a Liposomal System. *Journal of Food Science, 67*(8), 2952-2956. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08844.x

Polanco-Lugo, E., Dávila-Ortiz, G., Betancur-Ancona, D. A., & Chel-Guerrero, L. A. (2014). Effects of sequential enzymatic hydrolysis on structural, bioactive and functional properties of Phaseolus lunatus protein isolate. *Food Science and Technology, 34*(3), 441-448 .

Shahidi, F., & Zhong, Y. (2008). Bioactive peptides. *Journal of AOAC international, 91*(4), 914-931 .

Silva-Sánchez, C., de la Rosa, A. P. B., León-Galván, M. F., de Lumen, B. O., de León-Rodríguez, A., & de Mejía, E. G. (2008). Bioactive Peptides in Amaranth (Amaranthus hypochondriacus) Seed. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56*(4), 1233-1240. doi:https://doi.org/10.1021/jf072911z

Sogi, D. S., Arora, M. S., Garg, S. K., & Bawa, A. S. (2002). Fractionation and electrophoresis of tomato waste seed proteins. *Food Chemistry, 76*(4), 449-454. doi:https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00304-1

Taha, F. S., Mohamed, S. S., Wagdy, S. M., & Mohamed, G. F. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of enzymatic hydrolysis products from sunflower protein isolate. *World Applied Science Journal, 21*(5), 651-658 .

Tatontos, M. I. (2015). *Analysis on degree of hydrolysis and molecular weight of lotus seed protein isolate by alcalase enzyme*. Retrieved from

Wu, H.-C., Chen, H.-M., & Shiau, C.-Y. (2003). Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (Scomber austriasicus). *Food Research International, 36*(9), 949-957. doi:https://doi.org/10.1016/S0963-9969(03)00104-2

Zhang, H., Yu, L ,.Yang, Q., Sun, J., Bi, J., Liu, S., . . . Tang, L. (2012). Optimization of a microwave-coupled enzymatic digestion process to prepare peanut peptides. *Molecules, 17*(5), 5661-5674. doi:https://doi.org/10.3390/molecules17055661

Zhao, J., Huang, G., Zhang ,M., Chen, W., & Jiang, J. (2011). Amino acid composition, molecular weight distribution and antioxidant stability of shrimp processing byproduct hydrolysate. *Am J Food Technol, 6*(10), 904-913 .

Zhao, Q., Selomulya, C., Xiong, H., Chen, X. D., Ruan, X ,.Wang, S., . . . Zhou, Q. (2012). Comparison of functional and structural properties of native and industrial process-modified proteins from long-grain indica rice. *Journal of Cereal Science, 56*(3), 568-575. doi:https://doi.org/10.1016/j.jcs.2012.08.012

Antioxidant Activity of Faba Bean (*Vicia Faba*) Proteins Hydrolysates Produced by Alcalase and Trypsin

Seyedeh Parya Samaei[1], Mohammad Ghorbani[2*], Alireza Sadeghi Mahoonak[2], Mehran Alami[2]

1- PhD. Student, Faculty of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
2- Associate Professor, Faculty of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
* Corresponding author (m.ghorbani@gau.ac.ir)

Abstract

Enzymetic modification of proteins in order to break down specific peptide bonds and protein modification is widely used in the food industry. In this research, protein of faba bean seeds was hydrolyzed using alcalase and trypsin enzymes at three concentrations (1, 2 and 3%) and reaction times of 1-6 h at optimal temperature and pH of enzymes (50 and 37 °C, pH 8.5 and 7, respectively). Hydrolysis degree, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity, and iron chelating activity of hydrolyzed proteins were investigated. The results showed that the degree of hydrolysis increased with increasing reaction time and concentration of alcalase and trypsin enzymes. The time of hydrolysis and type of enzyme has a significant effect on the degree of hydrolysis, the antioxidant and chelating activity of the faba bean protein hydrolysates ($P<0.05$). The proteins hydrolyzed by alcalase at concentration of 3% and reaction time of 3 h had the highest antioxidant (75.41%) and metal chelating activity (55.95%). At the 1 and 2% concentration of trypsin, the highest DPPH radical scavenging activity was observed at 4 h which was 42.38 and 53.7 %, respectively. The most metal chelating activity in trypsin hydrolyzed treatments was observed in a reaction time of 2 h, after which the activity decreased. DPPH radical scavenging and metal chelating activity increased with increasing enzyme concentration. The results showed that alcalase have more efficiency in the production of anti-oxidant peptides compared to the trypsin.

Keywords: Antioxidant activity, Bioactive peptides, Enzymatic hydrolysis, Protein modification

JRIFST

مقالهٔ کامل پژوهشی

www.journals.rifst.ac.ir
نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی
سال ۱۳۹۹، جلد ۹، شماره ۱، صفحات ۱۱-۲۶
DOI: 10.22101/JRIFST.2019.09.17.e1013

بررسی ویژگی‌های ساختاری و رهایش د-لیمونن نانوپوشانی‌شده با صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی به روش الکترواسپری

خدیجه خوش‌اخلاق[1]، محبت محبی[2*]، آرش کوچکی[2]

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۲- استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
* نویسندهٔ مسئول (m-mohebbi@um.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۶/۲۹

واژه‌های کلیدی
الکترواسپری
رهایش
صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی
مدل‌سازی کینتیکی
نانوپوشانی

چکیده

در این پژوهش نانوکپسول‌های صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی حاوی د-لیمونن به روش الکترواسپری تولید شد. به‌این‌منظور امولسیون د-لیمونن (۱۰ و ۲۰ درصد) در محلول آبی صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی (۰/۵ درصد) تهیه گردید. ویژگی‌های امولسیون‌ها شامل خواص رئولوژیکی، کشش سطحی، هدایت الکتریکی و توزیع اندازهٔ ذرات ارزیابی شد و ارتباط آنها با مورفولوژی نانوکپسول‌ها بررسی گردید. نتایج نشان داد غلظت د-لیمونن بر هدایت الکتریکی و اندازهٔ قطره‌های امولسیون بیشترین تأثیر را داشت. برهمین‌اساس، مورفولوژی و اندازهٔ ذرات کپسول‌ها نیز تحت‌تأثیر غلظت لیمونن بود. تصاویر FE-SEM موفقیت روش الکترواسپری در تولید نانوکپسول‌های کروی، هموار و با توزیع اندازهٔ ذرات یکنواخت را تأیید کردند. کارایی انکپسولاسیون بالا (بیش از ۸۷ درصد) از دیگر مزایای روش مورداستفاده بود. آزمون‌های پایداری نشان دادند حداکثر اُفت د-لیمونن نانوپوشانی‌شده پس از ۳ ماه نگهداری، ۱۱/۶۷ درصد بود. در بررسی‌های رهایش طعم، آزادسازی سریع، کامل و تقریباً یکنواخت د-لیمونن به‌دلیل اندازهٔ ذرات کوچک و یکنواخت نانوکپسول‌ها مشاهده شد. با بررسی کینتیکی رهایش مشاهده گردید مدل کورسمیر-پپاس ازنظر ریاضی بهترین توصیف را برای رهایش لیمونن در دو محیط آب دیونیزه و بزاق مصنوعی فراهم آورد.

مقدمه

در دهۀ اخیر استفاده از فناوری نانو در پوشینه‌دارسازی ترکیبات زیست‌فعال به جهت ویژگی‌های منحصربه‌فرد نانوحامل‌ها بسیار موردتوجه قرار گرفته است. با کاهش اندازهٔ حامل از میکرومتر به نانومتر، نسبت سطح به حجم به شدت افزایش یافته، منجربه‌افزایش راندمان ریزپوشانی، بهبود دسترسی زیستی مادهٔ کپسوله‌شده و رهایش سریع‌تر و یکنواخت‌تر می‌شود (Ghorani & Tucker, 2015). فرایند الکترواسپری از فناوری‌های نوین در تولید نانوساختارها و نانوپوشانی ترکیبات فعال است. در این فرایند، محلول پلیمری از لولهٔ مویینه‌ای خارج و تحت میدان‌الکتریکی قوی باردار می‌شود. زمانی که نیروی الکترواستاتیک ایجادشده در محلول از کشش سطحی آن قوی‌تر باشد، قطرهٔ سیال در نوک لولهٔ مویین به سرعت به سمت صفحهٔ جمع‌کننده حرکت‌کرده-که به آن جت سیال[1] گفته می‌شود-، طی برخورد با مولکول‌های هوا، حلال تبخیر می‌شود. بر اثر تبخیر حلال، ذرات کوچک‌تر شده، درنتیجه بار الکتریکی آنها افزایش می‌یابد. افزایش دانسیتهٔ بارهای الکتریکی

[1] Fluid jet

قطره منجربه انفجار آن و تولید قطره‌های ریزتر می‌شود (Tapia-Hernández *et al.*, 2015). از مزایای این روش نسبت به روش‌های متداول ریزپوشانی، ساده‌بودن فرایند، راندمان بالا و تولید نانوذرات در شرایط معمول بدون نیاز به اعمال دماهای بالا برای حذف حلال یا دمای پایین برای تشکیل ذرات می‌باشد (López-Rubio & Lagaron, 2012).

تاکنون طیف وسیعی از پلیمرهای طبیعی و سنتزی در فرایند الکترواسپری استفاده شده است اما در کاربردهای غذایی تنها پلیمرهای ایمن شناخته‌شده[1] قابل استفاده هستند. از مهم‌ترین بیوپلیمرهای مورداستفاده به‌عنوان حامل در ریزپوشانی ترکیبات زیست‌فعال غذایی به روش الکترواسپری می‌توان به زئین (Gómez-Estaca, Balaguer, Gavara, & Hernandez-Munoz, 2012; Torres-Giner, Martinez-Abad, Ocio, & Lagaron, 2010)، پروتئین آب‌پنیر (Fabra, López-Rubio, & Lagaron, 2016; López-Rubio & Lagaron, 2012; Rocío Pérez-Masiá *et al.*, 2015) و نشاسته (Rocío Pérez-Masiá *et al.*, 2015) اشاره کرد.

هیدروکلوئیدها بیوپلیمرهایی عمدتاً خوراکی، ارزان، با وزن مولکولی بالا و دارای حلالیت زیاد در آب هستند که به سبب ویژگی‌های عملکردی متعددشان در فرمولاسیون‌های غذایی کاربرد گسترده‌ای دارند (Dickinson, 2003). قدومه‌شیرازی[2] یکی از منابع تولید هیدروکلوئیدهای گیاهی است؛ به‌طوری‌که دانه‌های قدومه‌شیرازی پس از قرارگرفتن در آب، سریعاً آب را جذب‌کرده و لعابی چسبنده و کدر تولید می‌کنند. تحقیق‌های اخیر نشان داده است که موسیلاژ حاصل از دانه‌های قدومه‌شیرازی می‌تواند به‌عنوان یک افزودنی قوام‌دهنده و تثبیت‌کنندهٔ امولسیون در صنعت غذا استفاده شود (Koocheki, Kadkhodaee, Mortazavi, Shahidi, & Taherian, 2009). بااین‌وجود تاکنون کاربرد این صمغ بومی به‌عنوان مادهٔ حامل در سیستم‌های ریزپوشانی بررسی نشده است.

نتایج Koocheki و همکاران (۲۰۰۹) حاکی از ویسکوزیتهٔ بالای محلول موسیلاژ دانهٔ قدومه‌شیرازی در سرعت‌های برشی کم بود. این ویژگی می‌تواند صمغ قدومه‌شیرازی را برای فرایند الکترواسپری مناسب سازد زیرا درصورتی‌که ویسکوزیتهٔ محلول خیلی کم باشد، ساختارهای کپسول‌شکل تشکیل نمی‌شود و ازطرف‌دیگر، ویسکوزیتهٔ بسیار بالا مانع از تشکیل جت الکترواسپری می‌شود (Rocio Pérez-Masiá, Lagaron, & López-Rubio, 2014). همچنین به‌دلیل ماهیت آنیونی این صمغ (Hesarinejad, Razavi, & Koocheki, 2015)، به نظر می‌رسد محلول آن با فراهم‌کردن دانسیته بار زیاد در میدان‌الکتریکی، فرایند تولید نانوذرات را تسهیل کند. علاوه‌بر این، صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی صمغی بی‌رنگ و بی‌بو است که قابلیت استفاده به‌عنوان حامل ترکیبات فعال را بدون ایجاد تغییر در خواص حسی محصول دارد.

د-لیمونن ترکیب اصلی اسانس مرکبات است. این ماده به‌دلیل داشتن عطر مطبوع، به‌عنوان یک افزودنی ایمن به‌طور گسترده در محصولات آرایشی و غذایی استفاده می‌گردد علاوه‌بر این، لیمونن دارای فعالیت‌های بیولوژیکی متعددی ازجمله فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی و ضدسرطانی می‌باشد (Sun, 2007). بااین‌حال، ماهیت چربی‌دوست لیمونن منجربه‌کاهش زیست‌فراهمی[3] آن و نیز محدودیت استفاده از آن در غنی‌سازی مواد غذایی می‌شود. همچنین حساسیت زیاد لیمونن به اکسیداسیون در شرایط نگهداری معمول، استفاده از آن را مشکل می‌سازد (Zahi, Liang, & Yuan, 2015). ریزپوشانی روش مناسبی برای افزایش پایداری و حلالیت این عامل طعم‌دهندهٔ شناخته شده است.

بنابرآنچه ذکر شد، هدف این پژوهش نانوپوشانی د-لیمونن به روش الکترواسپری امولسیون با استفاده از صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی و همچنین مطالعهٔ اثر نانوپوشانی بر پایداری و رهایش آن در شرایط محیطی مختلف بود.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه

د-لیمونن (۹۷ درصد) و توئین ۲۰ (HLB=۱۶/۷) به‌ترتیب از شرکت‌های سیگما آلدریچ (ساخت آمریکا)، و مرک (ساخت آلمان) تهیه شد. دانهٔ قدومه‌شیرازی از عطاری در شهر اصفهان تهیه و استخراج و خالص‌سازی صمغ به روش بهینه‌شده توسط Koocheki و همکاران (۲۰۱۰) انجام شد. صمغ استخراج‌شده با استفاده از خشک‌کن انجمادی (Christ Alpha LD، ساخت آلمان) خشک شد و پس از

[1] Generally Recognized as Safe (GRAS)
[2] *Alyssum homolocarpum*
[3] Bioavailability

آسیاب و الک‌کردن (مش ۱ میلی‌متر) در ظرف بسته در مکان خشک و خنک به‌منظور انجام آزمایش‌ها نگهداری شد. هگزان (خلوص ۹۷ درصد≥)، بی‌کربنات سدیم، کلرید سدیم، سدیم آزید، کلرید پتاسیم، کلسیم کلرید دی‌هیدرات، آنزیم آلفا-آمیلاز[1] (با منشأ پانکراس) و موسین (با منشأ معده) از شرکت سیگما آلدریچ (ساخت آمریکا) تهیه گردیدند. پتاسیم فسفات دی‌بازیک سه‌آبه از شرکت مرک آلمان خریداری شد.

آماده‌سازی امولسیون‌ها

براساس آزمون‌های مقدماتی، امولسیون‌های د-لیمونن در محلول صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی تهیه گردیدند (Khoshakhlagh, Koocheki, Mohebbi, & Allafchian, 2017; Khoshakhlagh, Mohebbi, Koocheki, & Allafchian, 2018) به‌طور خلاصه، محلول صمغ با غلظت ۰/۵ درصد وزنی/وزنی در آب دیونیزه تهیه شد و پس از انحلال کامل با استفاده از هم‌زن مغناطیسی، به مدت یک شب برای تکمیل جذب آب در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس توئین ۲۰ به میزان ۰/۱ درصد (نسبت به وزن محلول) و پس از آن، د-لیمونن به میزان ۱۰ و ۲۰ درصد براساس وزن صمغ اولیه، به محلول اضافه و با هم‌زن مغناطیسی مخلوط‌شده و سپس با استفاده از هموژنایزر اولتراتوراکس (IKA، T25 digital، ساخت آلمان) به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه هم‌زده شد. همگن‌سازی نهایی امولسیون با استفاده از هموژنایزر با سرعت برشی بالا (Heidolph، Silent Crusher M، ساخت آلمان) با دور ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۳ دقیقه استفاده شد. برای جلوگیری از افزایش دمای امولسیون طی فرایند همگن‌سازی از حمام یخ استفاده شد.

بررسی ویژگی‌های امولسیون

به‌منظور بررسی ارتباط ویژگی‌های فیزیکی امولسیون‌ها با رفتار آنها در فرایند الکترواسپری، امولسیون‌ها بلافاصله پس از تولید، ازنظر خواص رئولوژیکی، فعالیت سطحی، هدایت الکتریکی و توزیع اندازهٔ ذرات ارزیابی شدند. کلیهٔ این آزمون‌ها با سه تکرار و در دمای ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد، انجام شد.

[1] α-Amylase

خواص رئولوژیکی پایا

بررسی خواص رئولوژیکی مستقل از زمان امولسیون‌های حاوی ۱۰ و ۲۰ درصد د-لیمونن به‌وسیلهٔ دستگاه رئومتر چرخشی پارفیزیکا (مدل MCR 300، Paar Physica، Anton Paar GmbH، ساخت اتریش) با هندسهٔ مخروط-صفحه و مجهز به سیستم تنظیم دما و چرخش آب، در دامنهٔ درجهٔ برش s^{-1} ۱۰۰-۰/۰۱ انجام شد. به‌منظور توصیف رفتار جریان پایای امولسیون‌ها، داده‌های آزمون (سرعت برشی-تنش برشی) با مدل قانون توان (رابطهٔ ۱) برازش شد:

رابطهٔ (۱)

$$\tau = k\dot{\gamma}^n$$

در رابطهٔ (۱)، τ تنش برشی (Pa)، $\dot{\gamma}$ درجهٔ برش (s^{-1})، k ضریب قوام ($Pa.s^n$) و n شاخص رفتار جریان (بدون بُعد) می‌باشد.

کشش سطحی

کشش سطحی امولسیون‌های لیمونن در محلول صمغ با استفاده از دستگاه تنسیومتر (مدل Dataphysics DCAT 21، ساخت آلمان)، مجهز به سیرکولاتور حرارتی (Julabo، F12-MC، ساخت آلمان)، تعیین شد. روش صفحهٔ ویلهملی[2] با تیغه‌ای از جنس پلاتینیوم-ایریدیوم به طول ۱۰، عرض ۱۹/۹ و ضخامت ۰/۲ میلی‌متر در اندازه‌گیری فعالیت سطحی نمونه‌ها مورداستفاده قرار گرفت. قبل از هر اندازه‌گیری، پلیت دستگاه با استون و سپس توسط شعله کاملاً تمیز شد. کالیبراسیون دستگاه با آب دیونیزه در دمای ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد (۷۵/۵۲ میلی‌نیوتن بر میلی‌متر) انجام شد.

هدایت الکتریکی

برای شروع‌شدن فرایند الکترواسپری، محلول پلیمری باید بار الکتریکی کافی را بر غلبه بر کشش سطحی را به‌دست آورد. هدایت الکتریکی معیاری از چگالی بارهای الکتریکی حمل‌شده توسط جت سیال است. به‌منظور اندازه‌گیری هدایت الکتریکی امولسیون‌ها از دستگاه کنداکتیومتر (Jenway، 4510، ساخت انگلستان) استفاده شد.

[2] Wilhelmy plate

اندازهٔ ذرات امولسیون

توزیع اندازهٔ ذرات امولسیون‌ها با استفاده از دستگاه آنالیزکنندهٔ ذرات لیزر[1] (مدل Horiba LA-930، ساخت ژاپن)، مجهز به پرتو لیزر ۵ میلی‌ولت هلیوم/نئون (۶۳۵ نانومتر) اندازه‌گیری شد. برای جلوگیری از فلوکولاسیون ذرات چربی و جلوگیری از اثر پراکندگی چندگانهٔ نور، نمونه‌ها قبل از تزریق به دستگاه به نسبت ۱ به ۱۰ با آب دیونیزه رقیق شدند.

قطر متوسط ذرات براساس سطح به حجم ($D_{3,2}$) تحت عنوان عدد ساتر[2] با استفاده از رابطهٔ (۲) تعیین شد:

رابطهٔ (۲)

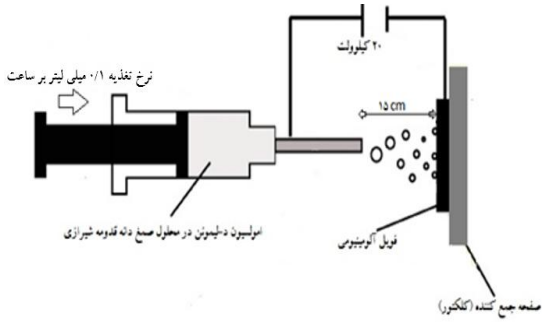
$$D_{3,2} = \frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i d_i^2}$$

در رابطهٔ (۲)، n_i تعداد قطره‌ها با قطر d_i است.

فرایند الکترواسپری

جهت تولید نانوکپسول‌های صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی به روش الکترواسپری، امولسیون تهیه‌شده در سرنگ ۱ سی‌سی با سوزن ۲۳ گیج (قطر داخلی ۰/۳۴ میلی‌متر) ریخته شد. سرنگ به‌صورت افقی روی پمپ تغذیه (MS-2200، Medifusion، ساخت کُره‌جنوبی) قرار گرفت و قطب مثبت دستگاه به سرنگ حاوی محلول و قطب منفی به صفحهٔ جمع‌کننده که یک صفحهٔ فویل آلومینیومی (با ابعاد ۱۰×۳۰ سانتی‌متر) بود، متصل گردید (شکل ۱). باتوجه‌به آزمون‌های مقدماتی، فرایند الکترواسپری در نرخ تغذیهٔ ۰/۱ میلی‌لیتر بر ساعت، ولتاژ ۲۰ کیلوولت و در فاصلهٔ نوک سوزن تا صفحهٔ جمع‌کننده ۱۵ سانتی‌متر انجام شد.

مدت زمان انجام فرایند برای بررسی مورفولوژیکی نمونه حدود ۱۵ دقیقه بود. برای سایر آزمون‌ها جهت تولید ۳۰ میلی‌گرم نانوکپسول، فرایند الکترواسپری حدود ۸ ساعت به طول انجامید. جمع‌آوری نمونه با استفاده از خراشیدن صفحهٔ جمع‌کننده به کمک کاردک مخصوصی انجام شد.



شکل ۱- شمای کلی فرایند الکترواسپری

مورفولوژی نانوساختارها

به‌منظور بررسی شکل و اندازهٔ نانوذرات تولیدشده از میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی FE-SEM (مدل TESCAN MIRA-3-XMU، ساخت چک) با بزرگ‌نمایی ۷۰۰۰۰۰ برابر استفاده شد. تصاویر پس از انجام پوشش‌دهی نمونه با طلا (به مدت ۵ دقیقه) و در ولتاژ ۲۰ کیلوولت تهیه شد. میانگین قطر ذرات با استفاده از نرم‌افزار Image J نسخهٔ ۱.۴ و برای حدود ۱۰۰ نقطه از هر تصویر تعیین گردید.

کارایی نانوپوشانی، لیمونن سطحی و ظرفیت بارگذاری

برای اندازه‌گیری مقدار د-لیمونن نانوپوشانی‌شده و بررسی حضور آن در سطح نانوحامل‌ها از روش به‌کارگرفته‌شده توسط Kaushik و Roos (۲۰۰۷) با ایجاد کمی اصلاحات استفاده شد. به‌منظور تعیین مقدار د-لیمونن انکپسوله‌شده، حدود ۳۰ میلی‌گرم نانوکپسول با ۲ میلی‌لیتر آب دیونیزه و ۱ میلی‌لیتر هگزان مخلوط گردید و پس از هم‌زدن مخلوط به مدت ۱ دقیقه با ورتکس، ۱۵ دقیقه در حمام آب‌گرم ۴۵ درجهٔ سانتی‌گراد در حال هم‌زدن قرار داده شد. پس از آن برای جداکردن فاز آلی از فاز آبی از سانتریفیوژ (Hettich EBA 270، ساخت آلمان) با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه استفاده شد. محلول رویی-هگزان حاوی لیمونن-۲۰ برابر با هگزان رقیق‌شده، جذب آن در طول موج ۲۵۲ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری (UNICO-2100 UV-Visible Spectrophotometer، ساخت آمریکا) اندازه‌گیری شد.

برای تعیین میزان لیمونن سطحی، حدود ۳۰ میلی‌گرم نانوکپسول با ۲ میلی‌لیتر هگزان مخلوط شد و پس از ۵ دقیقه هم‌زدن با استفاده از هم‌زن مغناطیسی با سرعت ۲۵۰ دور بر دقیقه، محلول از فیلتر سرسرنگی ۰/۱

[1] Laser particle Analyzer
[2] Sauter

میکرون (millipore، ساخت آمریکا) عبور داده شده، جذب محلول صاف‌شده در طول موج ۲۵۲ نانومتر قرائت شد. در هر دو آزمایش اندازه‌گیری لیمونن کل و سطحی، برای آزمون شاهد، از نمونهٔ نانوکپسول فاقد لیمونن استفاده شد و روش اندازه‌گیری مشابه با نمونهٔ اصلی بود، سپس عدد جذب شاهد از مقدار جذب نمونه کم شد.

برای تبدیل میزان جذب به غلظت لیمونن، منحنی کالیبراسیون براساس غلظت‌های مختلف لیمونن در حلال هگزان رسم شد. کارایی انکپسولاسیون با استفاده از رابطهٔ (۳) محاسبه شد. درصد لیمونن سطحی به‌صورت نسبت لیمونن ریزپوشانی‌نشده به مقدار کل لیمونن موجود در نانوکپسول‌ها گزارش گردید. ظرفیت بارگذاری با استفاده از رابطهٔ (۴) محاسبه شد:

رابطهٔ (۳)

$$\text{کارایی انکپسولاسیون} = \frac{\text{لیمونن اندازه گیری‌شده}}{\text{لیمونن استفاده‌شده در تولیدامولسیون}} \times ۱۰۰$$

رابطهٔ (۴)

$$\text{ظرفیت بارگذاری} = \frac{\text{وزن لیمونن محبوس شده در نانوکپسول}}{\text{وزن نانوکپسول}} \times ۱۰۰$$

پایداری د-لیمونن نانوپوشانی‌شده طی نگهداری

برای مطالعهٔ پایداری د-لیمونن موجود در نانوکپسول‌ها، حدود ۳۰ میلی‌گرم نانوکپسول در ویال‌های شیشه‌ای پوشانده‌شده با فویل آلومینیومی توزین و به مدت ۳ ماه در انکوباتور (Wisecube WIG-105، ساخت کره‌جنوبی) با دمای ۴ و ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد. در فواصل زمانی مشخص (روزهای ۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰)، مقدار لیمونن حفظ‌شده در کپسول‌ها به روش اسپکتروفتومتری ذکرشده در آزمون تعیین کارایی، مشخص گردید. پایداری د-لیمونن در نانوکپسول‌ها طی نگهداری با استفاده از رابطهٔ (۵) محاسبه شد:

رابطهٔ (۵)

$$\text{طعم حفظ‌شده} = [۱ - (\frac{\text{مقدار لیمونن روز آزمایش} - \text{مقدار لیمونن روز صفر}}{\text{مقدار لیمونن روز صفر}})] \times ۱۰۰$$

بررسی رهایش د-لیمونن

در این تحقیق پروفیل رهایش د-لیمونن از نانوکپسول‌های صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی در دو محیط آب خالص و بزاق شبیه‌سازی‌شده بررسی گردید. برای تولید بزاق مصنوعی از روش Van Ruth، Roozen و Cozijnsen (۱۹۹۴) استفاده شد. در این روش، ۵/۲۰۸ گرم بی‌کربنات سدیم، ۱/۳۶۹ گرم پتاسیم فسفات دی‌بازیک سه آبه، ۰/۸۷۷ گرم کلریدسدیم، ۰/۵۰۰ گرم سدیم آزید، ۰/۴۷۷ گرم کلریدپتاسیم، ۰/۴۴۱ گرم کلسیم کلرید دی‌هیدرات، ۲/۱۶۰ گرم موسین و ۲۰۰۰۰۰ واحد آنزیم آلفا-آمیلاز به ۱ لیتر آب‌مقطر اضافه شد و pH آن با استفاده از محلول‌های سود و اسید کلریدریک روی ۷ تنظیم گردید. برای حذف هرگونه مواد نامحلول، سانتریفیوژکردن به مدت ۵ دقیقه با ۶۰۰۰ دور بر دقیقه انجام شد.

به‌منظور تعیین پروفیل رهایش لیمونن، ۲۰ میلی‌گرم نانوکپسول بارگذاری‌شده (۱۰ و ۲۰ درصد لیمونن) به ۵ میلی‌لیتر از محیط رهایش (بزاق مصنوعی و یا آب دیونیزه) اضافه شد و به‌طور مداوم در دور ۱۰۰ (۱ بر ثانیه) با استفاده از همزن مغناطیسی هم‌زده شد. طی آزمون دمای محیط رهایش در ۳۷±۰/۵ درجهٔ سانتی‌گراد ثابت حفظ شد. به تعداد نمونه‌برداری‌ها در طی رهایش (۱۱ بار)، بشرهای ۵ میلی‌لیتری از مخلوط نانوکپسول و محلول رهایش (بزاق مصنوعی یا آب دیونیزه) با نسبت ذکرشده تهیه گردید و هریک از آنها به یکی از زمان‌های نمونه‌برداری اختصاص یافت. بعد از گذشت ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵، ۳، ۵، ۷، ۹، ۱۲ و ۱۵ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر از محلول محیط رهایش برداشته شده، با ۱ میلی‌لیتر هگزان شده، پس از سانتریفیوژکردن با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه، محلول رویی-هگزان حاوی لیمونن- جداشده، جذب آن در طول موج ۲۵۲ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری قرائت شد. براساس منحنی کالیبراسیون مقدار لیمونن موجود در هر میلی‌لیتر هگزان محاسبه شد و براساس وزن دقیق نانوکپسول استفاده‌شده در آزمون و مقدار لیمونن بارگذاری اولیهٔ آن، درصد لیمونن آزادشده در زمان‌های مختلف رهایش تعیین شد. درصد رهایش تجمعی لیمونن مطابق رابطهٔ (۶) از تقسیم مقدار کل لیمونن آزادشده از ابتدا تا زمان t (M_t) به وزن اولیهٔ لیمونن بارگذاری‌شده در نانوکپسول (M_0) محاسبه شد:

رابطهٔ (۶)

$$\text{درصد رهایش تجمعی} = \sum_{t=0}^{t} \frac{M_t}{M_0} \times 100$$

مدل‌سازی کینتیکی رهایش

بررسی کینتیک آزادسازی د-لیمونن از نانوکپسول‌ها، با استفاده از برازش داده‌های رهایش با مدل‌های کینتیکی مختلف شامل کورسمیر-پپاس[1]، هیگوچی[2]، درجهٔ صفر و درجهٔ اول (به‌ترتیب رابطه‌های ۷ تا ۱۰) انجام گرفت.

رابطهٔ (۷)

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_{KP} t^n$$

رابطهٔ (۸)

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_H t^{0.5}$$

رابطهٔ (۹)

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_0 t$$

رابطهٔ (۱۰)

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - e^{-k_1 t}$$

در رابطه‌های (۷) تا (۱۰)، M_t مقدار مادهٔ آزادشده در زمان t، M_∞ مقدار کل مادهٔ رهایش‌یافته، t زمان رهایش و k ثابت کینتیک است. در مدل کورسمیر-پپاس n توان نفوذ بوده که مشخص‌کنندهٔ مکانیسم رهایش بوده و وابسته به هندسهٔ سیستم رسانش است (Korsmeyer, Lustig, & Peppas, 1986).

تجزیه‌وتحلیل آماری

کلیهٔ آزمون‌ها در قالب فاکتوریل با طرح پایهٔ کاملاً تصادفی و با حداقل سه تکرار انجام شد. تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) انجام شد و برای مقایسهٔ میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح معنی‌دار ۹۵ درصد ($P<۰/۰۵$) در نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۱۸ استفاده گردید. به‌منظور برازش مدل‌های کینتیکی با داده‌های تجربی رهایش، از تولباکس cftool در نرم‌افزار MATLAB R2016b استفاده شد. ضریب تعیین (R^2) به‌عنوان شاخص ارزیابی اعتبار مدل‌های برازش‌شده بود.

نتایج و بحث

بررسی ویژگی‌های امولسیون‌ها

خواص رئولوژیک پایا

داده‌های آزمون رئولوژیکی مستقل از زمان (سرعت برشی-تنش برشی)، با مدل قانون توان (رابطهٔ ۱) برازش شدند. در هر دو نمونه ضریب تعیین بالا ($R^2>۰/۹۹$) نشان‌دهندهٔ مناسب‌بودن مدل استفاده‌شده در توصیف رفتار جریان امولسیون‌ها بود (جدول ۱).

شاخص رفتار جریان هر دو امولسیون (n) کمتر از ۱ بود که بیانگر رفتار سودوپلاستیک (تضعیف‌شونده با برش) آنهاست. کاهش شدید ویسکوزیتهٔ امولسیون‌ها با افزایش سرعت برشی، مؤید رفتار سودوپلاستیک قوی صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی بود (شکل‌ها در مقاله نشان داده نشده است). وزن مولکولی بالا و درگیری‌ها و تجمعات زنجیره‌های پلیمری ازطریق پیوندهای هیدروژنی از دلایل رفتار سودوپلاستیک صمغ‌ها می‌باشد (Vardhanabhuti & Ikeda, 2006). مطابق با داده‌های جدول (۱) غلظت لیمونن بر میزان سودوپلاستیسیتهٔ امولسیون صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی اثر معنی‌دار نداشت.

میزان ضریب قوام (به‌عنوان شاخص ویسکوزیته) امولسیون‌ها نیز تحت‌تأثیر غلظت د-لیمونن قرار نگرفت. بنابراین، براساس نتایج به‌دست‌آمده خصوصیات جریان دو امولسیون موردمطالعه تفاوت معنی‌داری نداشتند.

جدول ۱- پارامترهای مدل قانون توان امولسیون‌های د-لیمونن در دمای ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد

نمونه	k (Pa.s^n)	n	R^2
امولسیون ۱۰ درصد د-لیمونن	۰/۶۴±۰/۰۲[a]	۰/۴۰±۰/۰۲[a]	۰/۹۹
امولسیون ۲۰ درصد د-لیمونن	۰/۶۶±۰/۰۳[a]	۰/۴۰±۰/۰۱[a]	۰/۹۹

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف متفاوت از لحاظ آماری با یکدیگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ دارند.

کشش سطحی

به‌طورکلی، کشش سطحی محلول‌های آبی پلیمرها به‌دلیل کشش سطحی زیاد حلال آب بالا می‌باشد و استفاده از آنها در فرایند الکترواسپری/الکتروریسی دشوار است (Rocio Pérez-Masiá *et al.*, 2014).

ازطرف‌دیگر، بسیاری از هیدروکلوئیدها ازجمله صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی به‌دلیل ماهیت آب‌دوستی زیاد و انعطاف‌پذیری مولکولی کم، فعالیت سطحی قابل‌توجهی از خود نشان نمی‌دهند. بااین‌حال در این مطالعه به‌دلیل استفاده از سورفاکتانت غیریونی توئین ۲۰ به‌عنوان امولسیفایر، کشش سطحی امولسیون‌ها نسبتاً پایین بود (جدول ۲). براساس نتایج جدول (۲)، غلظت د-لیمونن بر کشش سطحی امولسیون‌ها اثر معنی‌داری نداشت.

[1] Korsmeyer-Peppas
[2] Higuchi

جدول ۲-کشش سطحی، هدایت الکتریکی و اندازهٔ ذرات امولسیون‌های لیمونن در محلول صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی

نمونه	قطر متوسط ذرات (میکرومتر)	کشش سطحی (میلی‌نیوتن بر متر)	هدایت الکتریکی (میکروزیمنس)
امولسیون ۱۰ درصد د-لیمونن	۵/۹۹±۰/۷۰[a]	۴۲/۷۵±۰/۰۱[a]	۱۴۳/۷۷±۱/۰۳[a]
امولسیون ۲۰ درصد د-لیمونن	۸/۲۰±۰/۵۵[b]	۴۰/۵۶±۰/۰۰[a]	۱۳۰/۵۴±۱/۵۲[b]

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف متفاوت از لحاظ آماری با یکدیگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ دارند.

هدایت الکتریکی

مقادیر هدایت الکتریکی امولسیون‌های د-لیمونن در محلول صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی در جدول (۲) ارائه شده است. هدایت الکتریکی نمونه‌ها به‌دلیل ماهیت آنیونی صمغ مورداستفاده، نسبتاً بالا بود. با افزایش غلظت د-لیمونن از ۱۰ به ۲۰ درصد، کاهش معنی‌دار هدایت الکتریکی امولسیون مشاهده شد. در مطالعه‌ای توسط Lević و همکاران (۲۰۱۵) نیز کاهش هدایت الکتریکی محلول آلژینات با افزودن د-لیمونن مشاهده شد. این محققین بیان کردند لیمونن قادر به کاهش نیروی دافعهٔ میان مولکول‌های پلی‌آنیونی صمغ است.

اندازهٔ ذرات

اندازهٔ ذرات فاز پراکنده از خصوصیات مهم امولسیون‌هاست که بر بسیاری از خواص امولسیون ازجمله پایداری آن تأثیر زیادی دارد. براساس جدول (۲) با افزایش غلظت د-لیمونن به ۲۰ درصد، قطر متوسط ذرات امولسیون ($D_{3,2}$) به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طور معمول استفاده از غلظت بیشتر روغن در امولسیون منجربه‌افزایش تعداد برخورد بین قطره‌ها و نزدیک‌شدن آنها به هم و درنتیجه تولید قطره‌های بزرگ‌تر می‌شود (Sun & Gunasekaran, 2009).

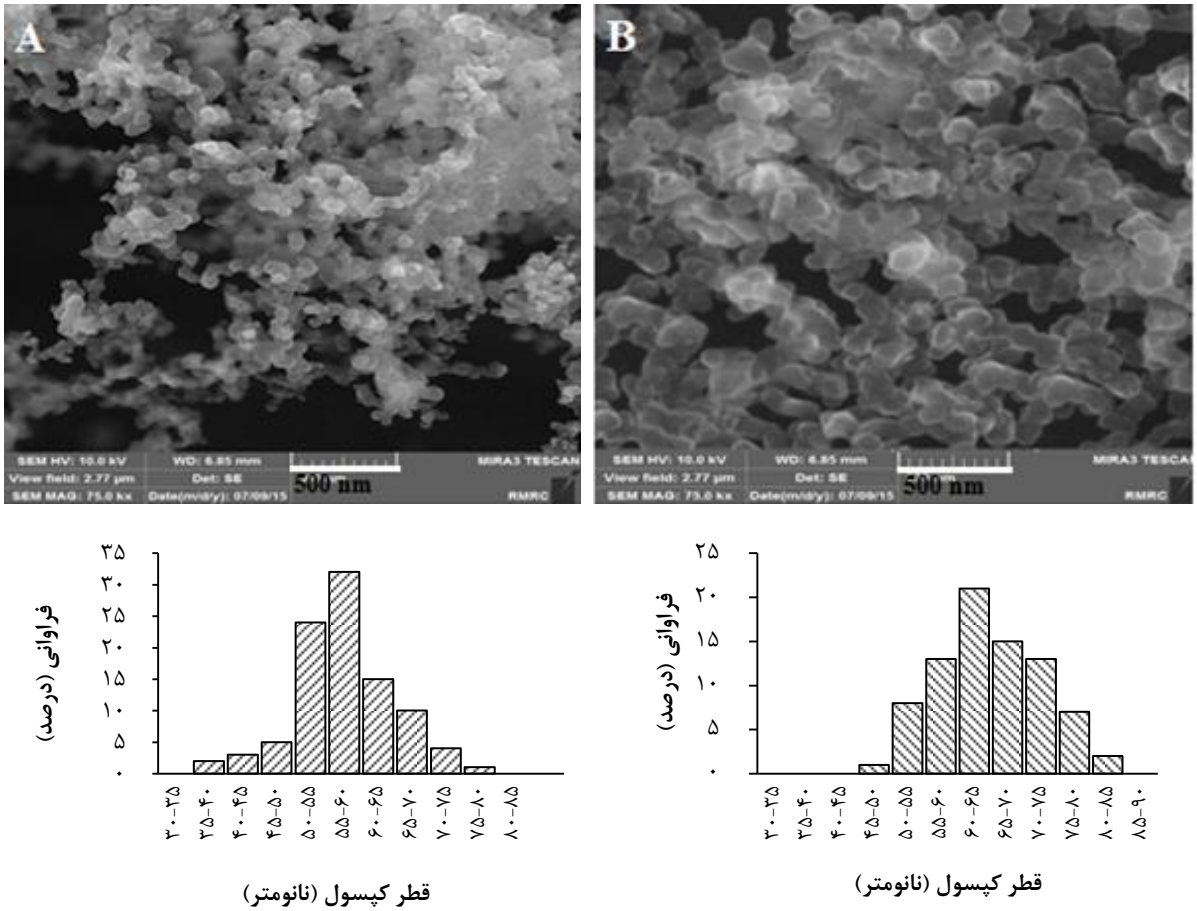
مورفولوژی نانوذرات

تصاویر FE-SEM نانوکپسول‌های صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی حاوی ۱۰ و ۲۰ درصد لیمونن همراه با نمودار توزیع اندازهٔ ذرات آنها در شکل (۲) نشان داده شده است. براساس این تصاویر هر دو امولسیون قادر به تولید ذرات کروی و متراکم بودند. بنابراین وجود درگیری‌های زنجیره‌ای پلیمری کافی در محلول ۰/۵ درصد صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی برای تشکیل ساختارهای متراکم و با مورفولوژی مناسب تأیید شد.

از الکترواسپری امولسیون حاوی ۱۰ درصد لیمونن، ذرات تقریباً کروی اما با حالت توده‌ای و چروکیدگی کمی حاصل شد. محدودهٔ اندازهٔ ذرات این نانوکپسول‌ها ۸۰-۳۵ نانومتر و قطر متوسط آنها ۵۴/۱۳ نانومتر بود (شکل ۲-الف). نانوکپسول‌های ۲۰ درصد بارگذاری‌شده شکل منظم‌تر، کروی و هموارتری داشتند و حالت توده‌ای در آنها دیده نشد (شکل ۲-ب). دلیل این امر می‌تواند هدایت الکتریکی بالاتر امولسیون حاوی ۱۰ درصد لیمونن نسبت به امولسیون ۲۰ درصد باشد (جدول ۲) (Alborzi, Lim, & Kakuda, 2013).

با افزایش غلظت د-لیمونن در امولسیون به ۲۰ درصد، نمودار توزیع اندازهٔ نانوکپسول‌ها نسبت به ذرات ۱۰ درصد بارگذاری‌شده کمی به سمت راست منتقل شد (۸۵-۴۵ نانومتر). میانگین قطر کپسول‌های حاوی ۲۰ درصد لیمونن ۶۵/۶۸ نانومتر بود. افزایش قطر نانوکپسول‌ها با افزایش غلظت د-لیمونن احتمالاً به تفاوت در ویژگی‌های این امولسیون‌ها مربوط است. ازآنجاکه ویژگی‌های رئولوژیکی و نیز کشش سطحی این امولسیون‌ها تفاوت معنی‌داری نشان نداد، فاکتورهای دیگر شامل هدایت الکتریکی و اندازهٔ ذرات امولسیون‌ها را باید موردبررسی قرار داد. Bock، Dargaville و Woodruff (۲۰۱۲) گزارش کرده‌اند که هرچه هدایت الکتریکی محلول بیشتر باشد تجزیهٔ محلول در میدان الکتریکی آسان‌تر و تولید ذرات کوچک‌تر تسهیل می‌شود. براین‌اساس، قطر بیشتر ذرات حاصل از امولسیون ۲۰ درصد لیمونن که هدایت الکتریکی کمتری نسبت به امولسیون ۱۰ درصد داشت، قابل توجیه است.

ازطرف‌دیگر، افزایش قطر نانوکپسول با افزایش غلظت لیمونن در امولسیون اولیه، می‌تواند به‌دلیل اندازهٔ قطره‌های بزرگ‌تر امولسیون ۲۰ درصد د-لیمونن نسبت به امولسیون ۱۰ درصد باشد (جدول ۲) (Hosseini *et al.*, 2013).



شکل ۲- تأثیر غلظت د-لیمونن بر مورفولوژی و نمودار توزیع اندازهٔ ذرات نانوذرات صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی الکترواسپری‌شده: الف) ۱۰ درصد و ب) ۲۰ درصد د-لیمونن

کارایی نانوپوشانی، لیمونن سطحی و ظرفیت بارگذاری

مطابق جدول (۳) کارایی انکپسولاسیون در نانوکپسول‌های حاوی ۱۰ درصد لیمونن (نسبت لیمونن به دیواره: ۱ به ۱۰)، ۹۳/۲۴ درصد اندازه‌گیری شد که از این مقدار لیمونن منتقل‌شده به کپسول، تنها ۱/۰۷ درصد آن در سطح کپسول قرار گرفته است. این راندمان بالا به این معنی است که بخش اعظم لیمونن افزوده‌شده به امولسیون به‌طور کارآمدی وارد کپسول شده است.

با افزایش غلظت لیمونن به ۲۰ درصد (نسبت هسته به دیواره: ۲ به ۱۰)، راندمان انکپسولاسیون کاهش و مقدار لیمونن سطحی نانوکپسول‌ها افزایش معنی‌داری یافت. دلیل این مسأله می‌تواند ناکافی‌بودن مواد دیواره برای پوشش مادهٔ انکپسوله‌شونده درصورت بالابودن نسبت هسته به دیواره باشد (Eltayeb, Stride, & Edirisinghe, 2015). علاوه‌بر این، ازآنجاکه غلظت توئین ۲۰ در هر دو امولسیون‌ها ثابت بود (۰/۱ درصد)، کاهش راندمان انکپسولاسیون و افزایش روغن سطحی با افزایش غلظت لیمونن، می‌تواند نشان‌دهندهٔ ناکافی‌بودن امولسیفایر برای پوشش کامل قطره‌های بیشتر روغن و درنتیجه امولسیون‌شدن ناکامل و وجود روغن امولسیفیه‌نشده باشد.

براساس نتایج به‌دست‌آمده، کارایی نانوپوشانی در این تحقیق بالاتر از مطالعه‌های گزارش‌شده برای انکپسولاسیون د-لیمونن با استفاده از دیگر روش‌های ریزپوشانی همچون خشک‌کردن انجمادی و خشک‌کردن پاششی بود (Kaushik & Roos, 2007; Ordoñez & Herrera, 2014). دلیل این مسأله می‌تواند پایداری د-لیمونن در امولسیون تهیه‌شده با صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی و نیز انجام فرایند الکترواسپری در شرایط دمایی محیط و یا عدم استفاده از حلال‌های شیمیایی طی تولید نانوکپسول باشد.

جدول ۳- اثر غلظت د-لیمونن بر کارایی انکپسولاسیون، د-لیمونن سطحی و ظرفیت بارگذاری

نمونه	کارایی انکپسولاسیون (درصد)	لیمونن سطحی (درصد)	ظرفیت بارگذاری (درصد)
نانوکپسول ۱۰ درصد د-لیمونن	۹۳/۲۴±۲/۰۶[a]	۱/۰۷±۰/۸۲[a]	۹/۲۱±۲/۵۱[a]
نانوکپسول ۲۰ درصد د-لیمونن	۸۷/۳۸±۴/۷۶[b]	۶/۱۹±۱/۵۵[b]	۱۶/۰۴±۲/۲۰[b]

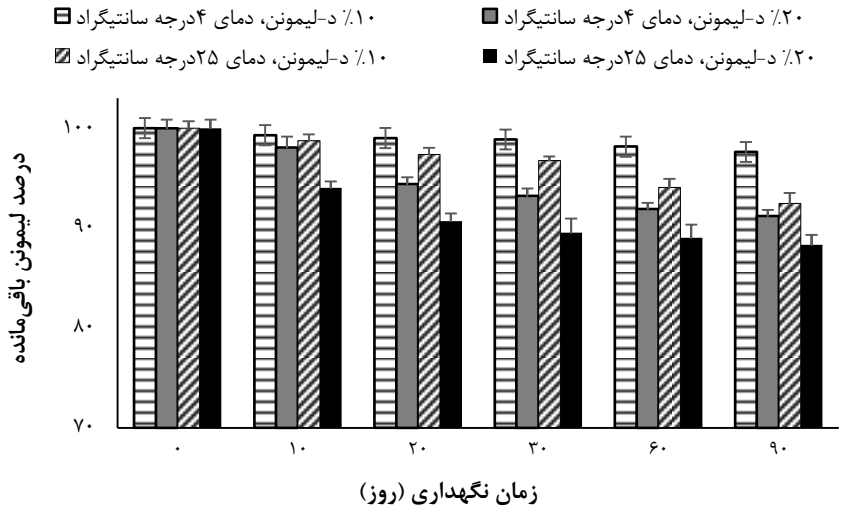
در هر ستون میانگین‌های دارای حروف متفاوت از لحاظ آماری با یکدیگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ دارند.

در جدول (۳) ظرفیت بارگذاری نانوکپسول‌ها که از نسبت لیمونن محصورشده در کپسول به وزن نانوکپسول تعیین شد، مشاهده می‌شود. باتوجه‌به داده‌های جدول (۳)، با افزایش غلظت لیمونن در امولسیون، ظرفیت بارگذاری انکپسولاسیون نیز افزایش یافت. البته ظرفیت بارگذاری اندازه‌گیری‌شده در نانوکپسول‌های ۲۰ درصد لیمونن از میزان تئوری آن کمتر بود (۱۶/۰۴ درصد در برابر ۲۰ درصد)، که دلیل آن افزایش لیمونن انکپسوله‌نشده در سطح نانوکپسول، با افزایش غلظت اولیهٔ هسته است.

ارزیابی پایداری د-لیمونن نانوپوشانی‌شده طی نگهداری

میزان طعم حفظ‌شده در نانوکپسول‌های حاوی ۱۰ و ۲۰ درصد د-لیمونن طی ۹۰ روز نگهداری در شکل (۳) نشان داده شده‌است. براساس شکل (۳)، در هر دو نانوکپسول مقدار د-لیمونن حفظ‌شده با سرعت کمی طی نگهداری کاهش یافت. کاهش د-لیمونن کپسوله‌شده احتمالاً ناشی از دو مکانیسم فرایند نفوذ طعم از دیوارهٔ کپسول و اکسیداسیون لیمونن در معرض هواست (Soottitantawat *et al.*, 2004). بیشترین میزان حفظ لیمونن طی ۳ ماه نگهداری، مربوط به کپسول‌های ۱۰ درصد بارگذاری‌شده در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد (۹۷/۶۱ درصد) و کمترین میزان پایداری د-لیمونن در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد مربوط به نانوکپسول‌های ۲۰ درصد (۸۷/۳۳ درصد) بود.

پایداری کمتر نانوکپسول‌های حاوی ۲۰ درصد لیمونن می‌تواند با میزان لیمونن سطحی بیشتر در این نمونه‌ها نسبت به کپسول‌های ۱۰ درصد لیمونن و درنتیجه اکسیداسیون سریع آن در مجاورت با هوا مرتبط باشد. ازطرف‌دیگر نسبت مادهٔ دیواره به هسته، در نانوکپسول‌های ۱۰ درصد بیشتر از ۲۰ درصد بوده و درنتیجه نفوذ لیمونن در مادهٔ دیواره را کاهش داده است. سومین عامل پایداری بیشتر نانوکپسول‌های ۱۰ درصد نسبت به ۲۰ درصد ممکن است با مورفولوژی نانوذرات مرتبط باشد. باتوجه‌به تصاویر FE-SEM (شکل ۲) نانوکپسول‌های ۱۰ درصد تا حدی توده‌ای و چسبیده به هم بودند. این ویژگی ممکن است منجربه‌کاهش سطح در معرض هوای نانوذرات و حتی بسته‌شدن منافذ احتمالی موجود در سطح آنها و درنتیجه کاهش خروج لیمونن شده باشد.



شکل ۳- اثر دمای نگهداری (۴ و ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد) و میزان بارگذاری هسته (۱۰ و ۲۰ درصد) بر پایداری د-لیمونن ریزپوشانی‌شده طی ۹۰ روز نگهداری

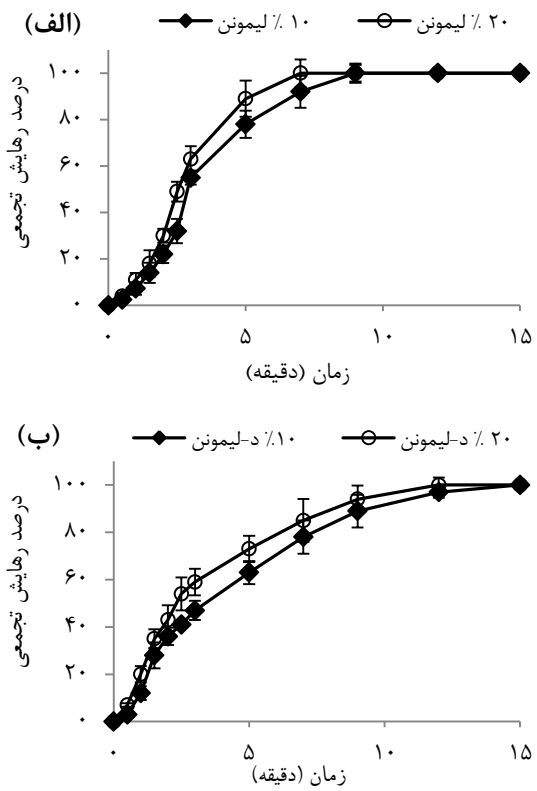
رهایش د-لیمونن

پروفیل‌های رهایش لیمونن از نانوکپسول‌های حاوی ۱۰ و ۲۰ درصد لیمونن در محیط‌های رهایش آب دیونیزه و بزاق مصنوعی در شکل (۴) نمایش داده شده است. در هر ۴ آزمون، رهایش کامل و نسبتاً سریع لیمونن مشاهده شد به‌طوری‌که پس از حداکثر ۱۵ دقیقه، کل طعم بارگذاری‌شده به محیط رهایش آزاد گردید. این مشاهده‌ها می‌تواند ناشی از آب‌دوستی زیاد صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی و حل‌شدن آن در محیط‌های آبی باشد.

در هر دو محیط آب و بزاق مصنوعی، شاهد سرعت رهایش کمتر لیمونن از نانوکپسول‌های ۱۰ درصد بارگذاری‌شده در مقایسه با نانوکپسول‌های ۲۰ درصد بودیم. ازآنجاکه اندازهٔ ذرات نانوکپسول‌های ۱۰ درصد کوچک‌تر از ذرات حاوی ۲۰ درصد لیمونن بود (شکل ۲)، انتظار می‌رفت نانوکپسول‌های ۱۰ درصد به‌دلیل نسبت سطح به حجم بیشتر و طول مسیر کوتاه‌تر برای نفوذ لیمونن به محیط رهایش، سرعت رهایش بیشتری نسبت به نانوکپسول‌های ۲۰ درصد داشته باشند.

سرعت کمتر رهایش لیمونن از نانوکپسول‌های حاوی ۱۰ درصد لیمونن، احتمالاً با نسبت هسته به دیوارهٔ کمتر در این نانوکپسول‌ها (۱ به ۱۰) نسبت به نمونه‌های ۲۰ درصد لیمونن (۲ به ۱۰) مرتبط است؛ به‌طوری‌که سهم بیشتر صمغ در ترکیب کپسول ۱۰ درصد در مقایسه با نمونهٔ ۲۰ درصد، ممانعت بیشتری نسبت به خروج لیمونن ایجاد کرده است. همچنین به‌دلیل نسبت وزنی بالاتر صمغ در نانوکپسول‌های ۱۰ درصد لیمونن، زمان لازم برای بازشدن زنجیره‌های پلیمری افزایش و به تبع آن سرعت تخریب ماتریس کاهش می‌یابد. علاوه‌بر این، افزایش سرعت رهایش با افزایش میزان بارگذاری لیمونن می‌تواند به گرادیان غلظت بیشتر مولکول‌های طعم در داخل و خارج نانوکپسول‌های ۲۰ درصد نسبت داده شود (Hosseini *et al.*, 2013).

باتوجه‌به عدم ارتباط اندازهٔ ذرات و طول مسیر انتشار لیمونن با سرعت رهایش احتمال داده شد که مکانیسم رهایش پیچیده بوده و نفوذ به تنهایی عامل رهایش لیمونن در هر دو محیط بزاق و آب نمی‌باشد.



شکل ۴- پروفیل رهایش د-لیمونن از نانوکپسول‌های صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی در محیط آب دیونیزه (الف) و بزاق مصنوعی (ب) با دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد

در هر ۴ آزمون انجام‌شده، در زمان‌های اولیهٔ رهایش سرعت آزادشدن لیمونن نسبتاً کم بود. مقدار کم لیمونن در سطح نانوکپسول‌ها می‌تواند دلیل سرعت کم در ابتدای رهایش باشد. علاوه‌بر این، براساس نتایج آزمون گرماسنجی روبشی تفاضلی (DSC) در مطالعهٔ قبلی (Khoshakhlagh *et al.*, 2017)، دمای انتقال شیشه‌ای نانوکپسول‌های صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی نسبتاً بالا (بیش از ۴۷ درجهٔ سانتی‌گراد) برآورد گردید. ازآنجاکه دمای محیط رهایش (۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد) پایین‌تر از دمای انتقال شیشه‌ای نانوکپسول‌ها بود، ماتریس کپسول در ابتدای رهایش حالت شیشه‌ای داشته و حجم آزاد محدودی برای نفوذ لیمونن به خارج و ورود مولکول‌های آب به داخل ماتریس موجود بوده است که منجربه کُندشدن سرعت رهایش و ایجاد فاز تأخیری در ابتدای فرایند گردیده است (Lee & Peppas, 1987).

با گذشت زمان و جذب آب توسط صمغ، دمای انتقال شیشه‌ای ماتریس کپسول کاهش می‌یابد، تاجایی‌که

ماتریس هیدروکلوئیدی به حالت لاستیکی و منعطف درخواهد آمد و حجم آزاد کافی برای انتشار لیمونن در ماتریس نانوکپسول ایجاد می‌کند. بااین‌حال، با نفوذ آب و هیدراته‌شدن صمغ، نانوکپسول‌ها شروع به تورم کرده و منجربه‌افزایش اندازهٔ ذرات می‌شود، درنتیجه طول مسیر نفوذ لیمونن به محیط افزایش و سرعت خروج آن کاهش می‌یابد (Arifin, Lee, & Wang, 2006). بنابراین به‌دلیل آب‌دوستی صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی، با قرارگرفتن نانوکپسول‌ها در محیط آبی چندین پدیدهٔ فیزیکی پیچیده بروز می‌نماید.

با گذشت زمان بیشتر و جذب آب تا حد اشباع توسط ماتریس هیدروکلوئیدی، فرایند تورم پایان‌یافته و مرحلهٔ جدیدی به نام فرسایش نانوکپسول آغاز می‌شود. در این مرحله در اثر هیدرولیز، پیوندهای ماتریس پلیمری شکسته‌شده، زنجیره‌های کوتاه‌تر و با درجهٔ درهم‌تنیدگی کمتر ایجاد می‌شود. زنجیره‌های کوچک‌تر از ماتریس به محیط رهایش خارج‌شده و شبکهٔ پلیمری به‌طور دینامیک بازتر شده و لیمونن باقی‌مانده در اثر تخریب نانوکپسول آزاد می‌شود (Siepmann, Kranz, Bodmeier, & Peppas, 1999).

علاوه‌بر تأثیر میزان بارگذاری هسته، نوع محیط رهایش نیز بر سرعت رهایش مؤثر بود. به‌طوری‌که در محیط آب دیونیزه شیب تندتر منحنی و خروج ناگهانی لیمونن مشاهده شد. درصورتی‌که آزادشدن لیمونن در بزاق مصنوعی به‌صورت تدریجی و پیوسته رخ داد. رهایش ناگهانی و سریع لیمونن در آب دیونیزه نشان‌دهندهٔ جذب سریع‌تر آب توسط ماتریس هیدروکلوئیدی و سرعت تخریب زیاد نانوکپسول‌ها در این محیط نسبت به بزاق مصنوعی است (Arifin *et al.*, 2006). دلیل این امر احتمالاً ویسکوزیتهٔ بالاتر بزاق مصنوعی به‌دلیل حضور موسین بوده که تحرک کمتر مولکول‌های آب و درنتیجه سرعت نفوذ آب کمتر و فرسایش کُندتر نانوکپسول را در این محیط نسبت به آب خالص به دنبال داشته است.

بررسی کینتیکی رهایش د-لیمونن

به‌منظور بررسی مکانیسم رهایش لیمونن از نانوکپسول‌های صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی، مدل‌های کینتیکی مختلفی با داده‌های آزمون‌های رهایش برازش شدند. پارامترهای مربوط به هریک از این مدل‌ها در جدول (۴) ارائه شده است. در بین مدل‌های کینتیکی مورداستفاده، مدل کورسمیر-پپاس بالاترین ضریب تعیین (R^2≥۰/۹۶) را با داده‌های ۴ پروفیل رهایش نشان داد. ازآنجاکه مدل کورسمیر-پپاس هر دو فرایند انتشار ترکیب فعال و فرسایش پلیمر را توصیف می‌کند، بالاتربودن ضریب تعیین این مدل در برازش با داده‌های آزمایشگاهی قابل انتظار بود.

به‌منظور تعیین مکانیسم رهایش، توان رهایش (n) در مدل کورسمیر-پپاس بررسی شد. در یک ژئومتری کروی اگر مقدار n≤۰/۴۳ باشد، نفوذ فیک مکانیسم غالب رهایش مادهٔ هسته است. درصورتی‌که ۰/۴۳<n<۰/۸۵ تعیین شود انتقال از نوع غیرعادی یا غیرفیک[1] بوده که در آن ترکیب مکانیسم‌های نفوذ و فرسایش زنجیره‌های پلیمری در رهایش هسته تأثیرگذار است. در شرایطی که n>۰/۸۵ باشد انتقال از نوع دو بوده که به معنی غالب‌بودن اثر انحلال و فرسایش پلیمر بر حرکت نفوذی مولکول‌های مادهٔ زیست‌فعال در ماتریس است (Korsmeyer *et al.*, 1986).

براساس جدول (۴) مقدار n در همهٔ آزمون‌ها بزرگ‌تر از ۰/۴۳ محاسبه شد که نشان می‌دهد در هیچ یک از شرایط رهایش لیمونن از نانوکپسول‌های صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی، مکانیسم نفوذ فیک غالب نبوده است. به‌طورکلی، زمانی رهایش هسته از کپسول صرفاً توسط انتشار کنترل می‌شود که سیستم غیرقابل تجزیه بوده و یا نفوذ آب در آن قابل صرف‌نظرکردن است که در این صورت مولکول‌های مادهٔ بیواکتیو تنها براساس گرادیان غلظت به محیط رهایش انتشار می‌یابند (Arifin *et al.*, 2006).

مقدار n در رهایش لیمونن از نانوکپسول‌های ۱۰ و ۲۰ درصد در محیط آب بزرگ‌تر از ۰/۸۵ بود که به معنی غالب‌بودن نفوذ آب به ماتریس پلیمر بر فرایند نفوذ مولکول‌های لیمونن در ماتریس هیدروکلوئیدی است. در مقابل، مقدار n درمورد رهایش در بزاق، برای هر دو نوع نانوکپسول ۰/۴۳<n<۰/۸۵ محاسبه شد که نشان‌دهندهٔ

[1] Anomalous or non-Fickian diffusion

انتقال غیرعادی (غیرفیک) در محیط بزاق مصنوعی بود. این مکانیسم درمورد سیستم‌هایی با ویژگی‌های حدواسط سیستم‌های کنترل‌شده با نفوذ فیک و سیستم‌های دارای مکانیسم انحلال پلیمر مشاهده می‌شود و در آنها فرایندهای انتشار و انحلال به‌طور تقریباً هم‌زمان اتفاق می‌افتد. براساس آنچه در بخش رهایش د-لیمونن نتیجه‌گیری شد سرعت جذب آب و به تبع آن سرعت فرسایش صمغ در بزاق نسبت به محیط آب دیونیزه کمتر است. این مسأله می‌تواند دلیل حاکم‌شدن مکانیسم ترکیبی انتشار و فرسایش بر رهایش لیمونن در محیط بزاق باشد. برخلاف این، تخریب ناگهانی و سریع نانوکپسول‌ها در آب خالص باعث پیروی رهایش از مکانیسم انتقال نوع دو گردید. به‌همین‌دلیل پروفیل‌های رهایش طعم در محیط آب دیونیزه، از قانون هیگوچی انحراف زیاد و ضریب تعیین کمی نشان دادند زیرا مدل هیگوچی در شرایط رهایش کنترل‌شده با انتشار فیک بهترین همبستگی را دارد.

براساس ضریب تعیین، مدل درجهٔ صفر داده‌های مربوط به رهایش لیمونن از هر دو نانوکپسول ۱۰ و ۲۰ درصد را در محیط آب دیونیزه بهتر از رهایش طعم در بزاق مصنوعی مدل‌سازی کرد. درحالی‌که مدل درجهٔ اول با داده‌های رهایش در بزاق همبستگی بالاتری نسبت به رهایش در آب نشان داد. به‌طورکلی، مدل درجهٔ صفر با شرایط رهایش مبتنی بر انحلال ماتریس کپسول مرتبط بوده، درحالی‌که مدل درجهٔ اول در شرایطی که مکانیسم ترکیبی انحلال و نفوذ غالب باشد، همبستگی بالایی با داده‌های تجربی نشان می‌دهد (Machín, Isasi, & Vélaz, 2013).

جدول ۴- پارامترهای مدل‌های کینتیکی برازش‌شده با پروفیل رهایش د-لیمونن از نانوکپسول صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی

مدل	پارامترهای رهایش	نوع کپسول و محیط رهایش			
		۱۰ درصد لیمونن، آب دیونیزه	۱۰ درصد لیمونن، بزاق مصنوعی	۲۰ درصد لیمونن، آب دیونیزه	۲۰ درصد لیمونن، بزاق مصنوعی
درجهٔ صفر	K_0 (min^{-1})	۰/۱۳±۰/۰۳^{a}	۰/۰۹±۰/۰۱^{a}	۰/۱۶±۰/۰۵^{b}	۰/۱۱±۰/۰۲^{a}
	R^2	۰/۹۳۶	۰/۷۷۶	۰/۹۴۴	۰/۶۸۸
درجهٔ اول	K_1 (min^{-1})	۰/۲۲±۰/۰۲^{a}	۰/۲۱±۰/۰۳^{a}	۰/۲۷±۰/۰۴^{b}	۰/۲۸±۰/۰۲^{b}
	R^2	۰/۸۹۷	۰/۹۸۸	۰/۸۹۸	۰/۹۹۲
هیگوچی	K_H (min^{-1})	۰/۲۹±۰/۰۲^{a}	۰/۲۷±۰/۰۳^{a}	۰/۳۲±۰/۰۲^{b}	۰/۳۱±۰/۰۲^{ab}
	R^2	۰/۸۰۴	۰/۹۵۳	۰/۸۱۱	۰/۹۵۹
کورسمیر-پپاس	K_{Kp} (min^{-n})	۰/۰۵±۰/۰۰^{a}	۰/۱۸±۰/۰۱^{b}	۰/۱۰±۰/۰۱^{c}	۰/۲۵±۰/۰۰^{d}
	n	۲/۲۵±۰/۰۲^{a}	۰/۸۱±۰/۰۴^{b}	۱/۷۲±۰/۰۴^{c}	۰/۷۲±۰/۰۲^{b}
	R^2	۰/۹۹۰	۰/۹۶۰	۰/۹۹۶	۰/۹۶۹

در هر ردیف حروف متفاوت نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار بین ۴ نمونه می‌باشد (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری

این پژوهش با هدف نانوپوشانی د-لیمونن با استفاده از صمغ بومی دانهٔ قدومه‌شیرازی به روش فرایند الکترواسپری انجام گرفت. نتایج نشان داد صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی در غلظت پایین (۰/۵ درصد) قادر به تولید نانوکپسول‌های متراکم و با مورفولوژی کروی و هموار است. در شرایط فرایند اعمال‌شده، نانوکپسول‌های صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی قطر بسیار کم (۸۵-۳۵ نانومتر) و با توزیع اندازهٔ باریک داشتند. تولید کپسول‌های با قطر بسیار کوچک و یکنواخت یکی از مزایای روش الکترواسپری است، زیرا نانوکپسول‌ها، علاوه‌بر اینکه حداقل تأثیر را بر بافت و ظاهر محصولات غذایی دارند، رهایش سریع‌تر و یکنواخت‌تری نیز در مقایسه با ساختارهای بزرگ‌تر فراهم می‌کنند. کارایی انکپسولاسیون بالا (بیش از ۸۷ درصد) از دیگر مزایای استفاده از این روش برای نانوپوشانی د-لیمونن بود. نانوکپسول‌های صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی پایداری مناسبی طی نگهداری در دو دمای ۴ و ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد نشان دادند، به‌طوری‌که حداکثر اُفت لیمونن کپسوله‌شده پس از ۳ ماه نگهداری، ۱۱/۶۷ درصد بود. آزمون‌های رهایش طعم نشان داد لیمونن کپسوله‌شده به‌طور سریع، کامل و تقریباً یکنواخت در دو محیط آب خالص و بزاق مصنوعی آزاد می‌گردد. این مشاهده‌ها ناشی

از آب‌دوستی ماتریس هیدروکلوئیدی کپسول‌ها و همچنین اندازهٔ ذرات کوچک و یکنواخت آنها بود. نتایج بررسی کینتیکی رهایش نشان داد دو مکانیسم نفوذ و فرسایش کپسول در آزادسازی لیمونن نقش دارند. رهایش سریع طعم از نانوکپسول‌های تولیدشده در محیط آبی و شرایط شبیه‌سازی‌شدهٔ دهانی، قابلیت استفاده از آنها را در محصولات غذایی همچون کیک‌ها و یا پودرهای نوشیدنی ممکن می‌کند. ازاین‌رو، در ادامهٔ تحقیق‌ها، کاربرد نانوکپسول صمغ دانهٔ قدومه‌شیرازی در محصولات غذایی و بررسی پروفیل رهایش لیمونن پیشنهاد می‌گردد.

منابع

Alborzi, S., Lim, L.-T., & Kakuda, Y. (2013). Encapsulation of folic acid and its stability in sodium alginate-pectin-poly (ethylene oxide) electrospun fibres. *Journal of microencapsulation, 30*(1), 64-71. doi:https://doi.org/10.3109/02652048.2012.696153

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

Bock, N., Dargaville, T. R., & Woodruff, M. A. (2012). Electrospraying of polymers with therapeutic molecules: State of the art. *Progress in Polymer Science, 37*(11), 1510-1551. doi:https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2012.03.002

Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids, 17*(1), 25-39. doi:https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00120-5

Eltayeb, M., Stride, E., & Edirisinghe, M. (2015). Preparation, characterization and release kinetics of ethylcellulose nanoparticles encapsulating ethylvanillin as a model functional component. *journal of functional foods, 14*, 726-735. doi:https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.02.036

Fabra, M. J., López-Rubio, A., & Lagaron, J. M. (2016). Use of the electrohydrodynamic process to develop active/bioactive bilayer films for food packaging applications. *Food Hydrocolloids, 55*, 11-18. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.10.026

Ghorani, B., & Tucker, N. (2015). Fundamentals of electrospinning as a novel delivery vehicle for bioactive compounds in food nanotechnology. *Food Hydrocolloids, 51*, 227-240. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.05.024

Gómez-Estaca, J., Balaguer, M. P., Gavara, R., & Hernandez-Munoz, P. (2012). Formation of zein nanoparticles by electrohydrodynamic atomization: Effect of the main processing variables and suitability for encapsulating the food coloring and active ingredient curcumin. *Food Hydrocolloids, 28*(1), 82-91. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.11.013

Hesarinejad, M. A., Razavi, S. M., & Koocheki, A. (2015). Alyssum homolocarpum seed gum: Dilute solution and some physicochemical properties. *International journal of biological macromolecules, 81*, 418-426. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.08.019

Hosseini, S. M., Hosseini, H., Mohammadifar, M. A., Mortazavian, A. M., Mohammadi, A., Khosravi-Darani, K., . . . Khaksar, R. (2013). Incorporation of essential oil in alginate microparticles by multiple emulsion/ionic gelation process. *International journal of biological macromolecules, 62*, 582-588. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.09.054

Kaushik, V., & Roos, Y. H. (2007). Limonene encapsulation in freeze-drying of gum Arabic–sucrose–gelatin systems. *LWT-Food Science and Technology, 40*(8), 1381-1391. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.10.008

Khoshakhlagh, K., Koocheki, A., Mohebbi, M., & Allafchian, A. (2017). Development and characterization of electrosprayed Alyssum homolocarpum seed gum nanoparticles for encapsulation of d-limonene. *Journal of colloid and interface science, 490*, 562-575. doi:https://doi.org/10.1016/j.jcis.2016.11.067

Khoshakhlagh, K., Mohebbi, M., Koocheki, A., & Allafchian, A. (2018). Encapsulation of D-limonene in Alyssum homolocarpum seed gum nanocapsules by emulsion electrospraying: morphology characterization

and stability assessment. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 16*, 43-52. doi:https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2018.03.001

Koocheki, A., Kadkhodaee, R., Mortazavi, S. A., Shahidi, F., & Taherian, A. R. (2009). Influence of Alyssum homolocarpum seed gum on the stability and flow properties of O/W emulsion prepared by high intensity ultrasound. *Food Hydrocolloids, 23*(8), 2416-2424. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.06.021

Koocheki, A., Mortazavi, S., Shahidi, F., Razavi, S., Kadkhodaee, R., & Milani, J. (2010). Optimization of mucilage extraction from Qodume Shirazi seed (*Alyssum homolocarpum*) using response surface methodology. *Journal of Food Process Engineering, 33*, 861-882. doi:https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2008.00312.x

Korsmeyer, R. W., Lustig, S. R., & Peppas, N. A. (1986). Solute and penetrant diffusion in swellable polymers. I. Mathematical modeling. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics, 24*(2), 395-408. doi:https://doi.org/10.1002/polb.1986.090240214

Lee, P. I., & Peppas, N. A. (1987). Prediction of polymer dissolution in swellable controlled-release systems. *Journal of Controlled Release, 6*(1), 207-215. doi:https://doi.org/10.1016/0168-3659(87)90077-0

Lević, S., Pajić Lijaković, I., Đorđević, V., Rac, V., Rakić, V., Šolević Knudsen, T., . . . Nedović, V. (2015). Characterization of sodium alginate/d-limonene emulsions and respective calcium alginate/d-limonene beads produced by electrostatic extrusion. *Food Hydrocolloids, 45*, 111-123. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.10.001

López-Rubio, A., & Lagaron, J. M. (2012). Whey protein capsules obtained through electrospraying for the encapsulation of bioactives. *Innovative Food Science & Emerging Technologies, 13*, 200-206. doi:https://doi.org/10.1016/j.ifset.2011.10.012

Machín, R., Isasi, J. R., & Vélaz, I. (2013). Hydrogel matrices containing single and mixed natural cyclodextrins. Mechanisms of drug release. *European polymer journal, 49*(12), 3912-3920. doi:https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2013.08.020

Ordoñez, M., & Herrera, A. (2014). Morphologic and stability cassava starch matrices for encapsulating limonene by spray drying. *Powder technology, 253*, 89-97. doi:https://doi.org/10.1016/j.powtec.2013.11.005

Pérez-Masiá, R., Lagaron, J. M., & López-Rubio, A. (2014). Development and optimization of novel encapsulation structures of interest in functional foods through electrospraying. *Food and Bioprocess Technology, 7*(11), 3236-3245. doi:https://doi.org/10.1007/s11947-014-1304-z

Pérez-Masiá, R., López-Nicolás, R., Periago, M. J., Ros, G., Lagaron, J. M., & López-Rubio, A. (2015). Encapsulation of folic acid in food hydrocolloids through nanospray drying and electrospraying for nutraceutical applications. *Food Chemistry, 168*, 124-133. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.051

Siepmann, J., Kranz, H., Bodmeier, R., & Peppas, N. (1999). HPMC-matrices for controlled drug delivery: a new model combining diffusion, swelling, and dissolution mechanisms and predicting the release kinetics. *Pharmaceutical research, 16*(11), 1748-1756. doi:https://doi.org/10.1023/A:1018914301328

Soottitantawat, A., Yoshii, H., Furuta, T., Ohgawara, M., Forssell, P., Partanen, R., . . . Linko, P. (2004). Effect of water activity on the release characteristics and oxidative stability of D-limonene encapsulated by spray drying. *Journal of agricultural and food chemistry, 52*(5), 1269-1276. doi:https://doi.org/10.1021/jf035226a

Sun, C., & Gunasekaran, S. (2009). Effects of protein concentration and oil-phase volume fraction on the stability and rheology of menhaden oil-in-water emulsions stabilized by whey protein isolate with xanthan gum. *Food Hydrocolloids, 23*(1), 165-174. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.12.006

Sun, J. (2007). D-Limonene: safety and clinical applications. *Alternative Medicine Review, 12*(3), 259.

Tapia-Hernández, J. A., Torres-Chávez, P. I., Ramírez-Wong, B., Rascón-Chu, A., Plascencia-Jatomea, M., Barreras-Urbina, C. G., . . . Rodríguez-Félix, F. (2015). Micro-and nanoparticles by electrospray: advances and applications in foods. *Journal of agricultural and food chemistry, 63*(19), 4699-4707. doi:https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01403

Torres-Giner, S., Martinez-Abad, A., Ocio, M. J., & Lagaron, J. M. (2010). Stabilization of a nutraceutical omega-3 fatty acid by encapsulation in ultrathin electrosprayed zein prolamine. *Journal of food science, 75*(6), N69-N79. doi:https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01678.x

Van Ruth, S., Roozen, J., & Cozijnsen, J. (1994). Comparison of dynamic headspace mouth model systems for flavour release from rehydrated diced bell peppers. In D. G. v. d. H. H. Maarse (Ed.), *Flavour Release From Dried Vegetables* (pp. 59-64): Elsevier Science.

Vardhanabhuti, B., & Ikeda, S. (2006). Isolation and characterization of hydrocolloids from monoi (Cissampelos pareira) leaves. *Food Hydrocolloids, 20*(6), 885-891. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2005.09.002

Zahi, M. R., Liang, H., & Yuan, Q. (2015). Improving the antimicrobial activity of D-limonene using a novel organogel-based nanoemulsion. *Food Control, 50*, 554-559. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.10.001

The Evaluation of Structural Properties and Release Behavior of D-limonene Nanoencapsulated with *Alyssum Homolocarpum* Seed Gum Applying Electrospraying

Khadije Khoshakhlagh[1], Mohebbat Mohebbi[2*], Arash Koocheki[2]

1- PhD. 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 (m-mohebbi@um.ac.ir)

Abstract

In this study *alyssum homolocarpum* seed gum (AHSG) nanocapsules containing D-limonene were fabricated by electrospraying process. For this purpose, D-limonene emulsions with constant AHSG (0.5% w/w) and two different flavor concentrations (10 or 20% based on gum weight) were prepared. The effects of physical properties of emulsions (rheological properties, droplet size, surface tension and electrical conductivity) on the morphology of capsules were studied. The results indicated that the droplet size and electrical conductivity of emulsions was mainly affected by concentration of D-limonene. Consequently, morphology and particle size of nanocapsules obtained from two emulsions, were somewhat different due to their difference in flavor content. FE-SEM images confirmed the success of electrospraying process for production of round and smooth AHSG nanocapsules with narrow size distribution. AHSG nanocapsules showed high encapsulation efficiency (more than 87%). Stability assay revealed a relatively good storage stability of encapsulated D-limonene and the maximum loss in 90 days was 11.67%. The release of D-limonene from AHSG nanocapsules was performed quickly, completely and fairly uniform due to the small and uniform size of particles. The kinetic modeling indicated that the data of D-limonene release in both artificial saliva and deionized water media were well fitted to the Korsmeyer-Peppas models.

Keywords: *Alyssum homolocarpum* seed gum, Electrospraying, Kinetic modelling, Nanoencapsulation, Release

JRIFST
مقالهٔ کامل پژوهشی

www.journals.rifst.ac.ir
نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی
سال ۱۳۹۹، جلد ۹، شماره ۱، صفحات ۲۷-۴۰
DOI: 10.22101/JRIFST.2019.09.17.e1031

خواص فیزیکوشیمیایی، ضدمیکروبی و محتوی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بره‌موم کندوهای زنبورعسل استان خراسان رضوی

بی‌بی مرضیه رضوی‌زاده[1*]، راضیه نیازمند[2]، سمیه حاجی‌نژاد[3]، احسان اکبری[3]

۱- دانشیار، گروه ایمنی و کنترل کیفیت مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران
* نویسندهٔ مسئول (m.razavizadeh@rifst.ac.ir)
۲- دانشیار، گروه شیمی مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران
۳- دانشجوی دکتری، گروه شیمی مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۱۰

واژه‌های کلیدی
بره‌موم
ترکیبات فنلی
ترکیبات فلاونوئیدی
فعالیت ضدمیکروبی
کروماتوگرافی

چکیده

در این تحقیق ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ضدمیکروبی بره‌موم حاصل از کندوهای زنبورعسل شمال شهر مشهد و نیز محتوی ترکیبات مؤثرهٔ موجود در بره‌موم به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) به‌طور کمّی و کیفی تعیین گردیده است. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نمونهٔ بره‌موم (مانند خاکستر، رطوبت، مواد جامد محلول و نامحلول و عناصر فلزی موجود) اندازه‌گیری شدند. مقدار ترکیبات فنلی کل و فلاونوئیدی در عصارهٔ اتانولی بره‌موم به‌ترتیب ۴۰/۲۱۶ میلی‌گرم بر گرم (برحسب اسید گالیک) و ۲۶/۴۰ میلی‌گرم بر گرم (برحسب کوئرستین) به‌دست آمد. آزمون‌های ضدمیکروبی نشان داد که حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره در برابر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود درحالی‌که در غلظت به‌کاررفته برای باکتری *اشرشیاکلی* MIC به‌دست نیامد. همچنین، نتایج آزمون حداقل غلظت کشندگی (MBC) حاکی از آن بود که عصارهٔ بره‌موم روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* تنها اثر مهارکنندگی دارد. ارزیابی محتوی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در عصارهٔ بره‌موم به کمک HPLC نشان داد ترکیبات فلاونوئیدی شناسایی‌شده شامل فلاون‌ها (۱۳/۳۵۰ میلی‌گرم بر گرم)، فلاونوئیدها (۶/۳۷۵ میلی‌گرم بر گرم)، فلاونل‌ها (۸/۲۳۵ میلی‌گرم بر گرم) و فلاونون‌ها (۱۶/۸۲۵ میلی‌گرم بر گرم) بودند. براساس نتایج به‌دست‌آمده می‌توان از بره‌موم در صنایع مختلف غذایی و دارویی استفاده کرد.

مقدمه

بره‌موم از تولیدات زنبورعسل است، حالت آن خمیری‌شکل و چسبناک می‌باشد، بویی مطبوع دارد و رنگ آن از سبز تا قهوه‌ای تیره متغیر است. بره‌موم به‌عنوان مادهٔ ضدعفونی‌کننده و عاملی مؤثر در پیشگیری از ورود و شیوع بیماری‌ها در کندو بشمار می‌آید (Kumazawa, Hamasaka, & Nakayama, 2004؛ اشراقی و والافر، ۱۳۸۲؛ اونق، توکمهچی، حسامی، و ابراهیم‌زاده، ۱۳۸۹؛ مؤمن‌بیت‌الهی و همکاران، ۱۳۸۸). این ماده حاوی صمغ یا رزین گیاهان، موم، اسیدهای چرب ضروری، گردهٔ گل، ترکیبات آلی، ویتامین‌ها و عناصر معدنی است. مقدار و نوع ترکیبات بره‌موم بسته به مکان و زمان جمع‌آوری و روش تولید آن متفاوت است (Kumazawa *et al*., 2004).

بره‌موم در الکل اتیلیک، استن و بنزن حل می‌شود و

الکل می‌تواند مواد قابل حل آن را جدا نماید. بخش بزرگی از بره‌موم که به‌راحتی در آب یا حلال‌های آلی محلول نیست، احتمالاً شامل مواد طبیعی پلیمری است. ترکیب شیمیایی بره‌موم بسیار متغیر است و به شدت به منابع گیاهی موجود دردسترس زنبورها در مکان‌های مختلف بستگی دارد و این مسئله تحت‌تأثیر منشأ جغرافیایی و شرایط آب‌وهوایی آن منطقه بستگی دارد. به‌عنوان مثال، در بره‌موم مناطق معتدل، بیشترین ترکیبات فعال بیولوژیکی پلی‌فنل‌ها، ازجمله اسیدهای فنلیک و فلاونوئیدها هستند (Socha *et al.*, 2011; Tosic, Stojanović, Mitic, Pavlović, & Alagić, 2017; Uzel *et al.*, 2005). مهم‌ترین اجزای فعال فارماکولوژیکی موجود در بره‌موم عبارتند از فلاون‌ها[1]، فلاونول‌ها[2]، فلاونون‌ها[3] (که جمعاً فلاونوئیدها نامیده می‌شوند) و سایر ترکیبات فنلیک و آروماتیک هستند. برای استخراج این ترکیبات مؤثره باید با استفاده از حلال مناسب، مواد زائد و بی‌فایده حذف گردد و پس از خالص‌سازی عصارهٔ آن تهیه شود (Kumazawa *et al.*, 2004; Socha *et al.*, 2011; Tosi, Ré, Ortega, & Cazzoli, 2007).

استفادهٔ تجاری اصلی بره‌موم به‌عنوان یک مکمل غذایی و درمانی می‌باشد. همچنین ویژگی آنتی‌اکسیدانی، فعالیت‌های ضدمیکروبی و ضدقارچ بره‌موم فرصت‌هایی را در تکنولوژی مواد غذایی ایجاد می‌کند (Bankova, Castro, & Marcucci, 2000; Kumazawa et al., 2004; Lima, Lopes, Rossetto, & Vianello, 2009; Uzel *et al.*, 2005؛ اونق و همکاران، ۱۳۸۹؛ نشوه و ناظر، ۱۳۹۳). استفادهٔ روزافزون از بره‌موم نیاز به روش‌های مناسب برای تعیین کمّی اجزای فعال آن دارد و ازاین‌رو، روش‌های کروماتوگرافی امکان جداسازی و اندازه‌گیری تمام اجزای آن را میسر می‌سازد (اونق و همکاران، ۱۳۸۹؛ رضوی‌زاده و نیازمند، ۱۳۹۷؛ Bruschi, Franco, & Gremião, 2003؛ Kartal, Kaya, & Kurucu, 2002).

برخی از تحقیق‌های انجام‌شده روی اجزاء بره‌موم نشان می‌دهد که مجموعه‌ای از ترکیبات جداشده از بره‌موم به‌طور قابل‌توجهی با ترکیبات موجود در گیاهانی که زنبورعسل از آنها تغذیه می‌کند مربوط هستند. ازآنجاکه بزرگ‌ترین گروه از ترکیبات موجود در گیاه رنگدانه‌های فلاونوئیدی هستند، انتظار می‌رود که همان ترکیبات از نمونه‌های مختلف بره‌موم جداسازی شوند، به‌ویژه که اکثر آنها فلاون، فلاونون و فلاونول هستند. تحقیق‌ها نشان‌داده است که میان مقدار کل فلاونوئیدها و فعالیت بیولوژیکی و ضدمیکروبی در بره‌موم همبستگی معنی‌داری وجود دارد (Banskota, Tezuka, & Kadota, 2001; Kujumgiev *et al.*, 1999). علاوه‌بر این، مشخص شده است که فعالیت ضدمیکروبی تنها به یک جزء (یا یک ترکیب فلاونوئیدی) مرتبط نمی‌باشد (Kujumgiev *et al.*, 1999; Serra Bonvehí, Ventura-Coll, & Escolà Jordà, 1994). بلکه، به‌نظر می‌رسد که مقدار ترکیبات فعال به گروه‌هایی که یک ساختار شیمیایی مشابه یا نزدیک دارند بهتر با فعالیت بیولوژیکی همبستگی دارند (Banskota *et al.*, 2001; Kujumgiev *et al.*, 1999; Serra Bonvehí *et al.*, 1994).

هدف از این تحقیق، بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ضدمیکروبی بره‌موم حاصل از کندوهای زنبورعسل منطقهٔ شمال مشهد (استان خراسان رضوی) و نیز شناسایی ترکیبات مؤثرهٔ آن به روش کروماتوگرافی است.

مواد و روش‌ها

بره‌موم از مناطق اطراف مشهد (منطقهٔ شمال مشهد، کوه‌های هزارمسجد، خراسان رضوی) تهیه گردید. پوشش گیاهی غالب کوه‌های هزارمسجد گَوَن است و علاوه‌برآن شامل گیاهانی ازجمله خارشتر، آنغوزه، بومادران، موسیر و کاکوتی می‌رویند (ضیایی‌لائین، ۱۳۹۱؛ علی، ۱۳۹۵). الکل اتیلیک (اتانول) با درجهٔ تجاری ۹۶ درصد (شرکت تقطیر خراسان، ساخت ایران) خریداری شد. معرف فولین-سی‌کالچیو[4] و اسید گالیک از شرکت سیگما-آلدریچ سفارش داده شدند. استانداردهای معتبر اسیدهای فنلی و فلاونوئیدها برای کروماتوگرافی از شرکت سیگما-آلدریچ خریداری شدند.

محیط‌های کشت مولر هینتون آگار[5] و کشت مولر هینتون براث[6] (شرکت Himedia، ساخت فرانسه) خریداری گردید. بانک باکتری‌ها شامل باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*[7] (PTCC 1764) و *اشرشیاکلی*[8] (PTCC 1330)، از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های ایران (سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی) تهیه شد.

[1] Flavons
[2] Flavonols
[3] Flavonones
[4] Folin-Ciocaltue
[5] Muller Hinton Agar (MHA)
[6] Muller Hinton Broth (MHB)
[7] *Staphylococcus Aureus*
[8] *Escherichia Coli*

آماده‌سازی بره‌موم

بره‌موم خام با استفاده از آسیاب برقی (مدل T8300، توس شکن خراسان، ساخت ایران) پودر شد و از الک با مش ۴۰ عبور داده شد. پودر به‌دست‌آمده برای استفاده‌های بعدی در ظرف در بسته و در یخچال (دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد) نگهداری شد.

تهیهٔ عصارهٔ اتانولی بره‌موم

مقدار ۳۰ گرم از بره‌موم خام پودرشده به یک ارلن با ظرفیت ۵۰۰ میلی‌لیتر منتقل شد و ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد به آن اضافه شد. دهانه و اطراف ارلن کاملاً با فویل آلومینیومی پوشیده شد و ارلن همراه با محتویاتش روی هم‌زن مغناطیسی برای مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت. بعد از مدت زمان اعمال‌شده، مخلوط تهیه‌شده توسط کاغذ صافی واتمن شمارهٔ ۱ و به کمک پمپ خلأ دو بار صاف گردید. محلول صاف‌شده در ظروف پتری‌دیش ریخته شد و این ظروف در محل تاریک و دور از نور و در دمای محیط قرار داده شد تا حلال حذف گردد. عصارهٔ خشک‌شده برای استفاده‌های بعدی در ظرف شیشه‌ای تیره و در یخچال با دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد (Popova, Silici, Kaftanoglu, & Bankova, 2005).

تعیین ویژگی‌های بره‌موم

تعیین ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی

برای تعیین رطوبت بره‌موم، ۵ گرم بره‌موم خام پودرشده در یک گرم‌کن الکتریکی (Memert، مدل UF55، ساخت آلمان) در دمای ۱۰۵ درجهٔ سانتی‌گراد برای ۱ ساعت خشک شد (Dias, Pereira, & Estevinho, 2012). بعد از این مدت، آن را تا دمای اتاق خنک و توزین‌کرده و دوباره عملیات گرم‌خانه‌گذاری تا رسیدن به وزن ثابت تکرار شد. محتوی رطوبت براساس رابطهٔ (۱) تعیین گردید:

رابطهٔ (۱)

$$\text{رطوبت}\ (\text{درصد}) = ۱۰۰ \times (A1 - A2)/A1$$

در رابطهٔ (۱)، A1: وزن نمونه و A2: وزن نمونهٔ خشک‌شده می‌باشد.

مقدار مواد جامد محلول و نامحلول در نمونهٔ بره‌موم با حلال اتانول تعیین شد (Dias *et al.*, 2012). به‌این‌ترتیب که به ۱ گرم از پودر بره‌موم خام ۲۵۰ میلی‌لیتر اتانول اضافه شد. مخلوط با یک همزن مغناطیسی (IKA، RH.basic2، ساخت آلمان) هم‌زده شد و پس از ۳۰ دقیقه، محلول صاف‌شده و مواد جامد نامحلول وزن شدند. مواد جامد محلول (SS) با اختلاف وزن بین نمونه (SW) و مواد نامحلول (IW) تعیین شدند و نتیجه به درصد براساس رابطه‌های (۲) و (۳) به‌دست آمد.

رابطهٔ (۲)

$$SS(\%) = 100 \times \frac{SW - IW}{SW}$$

رابطهٔ (۳)

$$IS = 100 \times \frac{IW}{SW}$$

pH بره‌موم به کمک pHمتر (Adwa، AD8000، ساخت رومانی) در محلول تهیه‌شده با ۱۰ گرم بره‌موم خام پودرشده در ۷۵ میلی‌لیتر متانول، با استفاده از متانول به‌عنوان کنترل اندازه‌گیری شد (Dias *et al.*, 2012). کالیبراسیون با سه محلول بافر استاندارد انجام شد.

برای تعیین محتوای خاکستر بره‌موم (شامل مواد معدنی و مواد غیرمعدنی دیگر)، مقدار ۵ گرم بره‌موم خام پودرشده در یک ظرف پلاتینی خشک گردید (Dias *et al.*, 2012). برای انجام این کار، نمونه در دمای ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت تا رسیدن به وزن ثابت و حذف کامل رطوبت نگهداری شد، سپس در کورهٔ الکتریکی (Exction، مدل TZ4ST، ساخت ایران) در دمای ۵۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد تا زمانی که کاملاً به خاکستر سفید تبدیل شد. محتوای خاکستر کل، به‌صورت درصد باقی‌مانده پس از اکسیداسیون خشک از رابطهٔ (۴) محاسبه شد.

رابطهٔ (۴)

$$\text{خاکستر}\ (\%) = [\frac{m1 - m2}{m0}] \times 100$$

در رابطهٔ (۴)، m1: جرم ظرف و خاکستر، m2: جرم ظرف پلاتین قبل از کلسینه‌کردن و m0: جرم بره‌موم اولیه است.

اندازه‌گیری عناصر فلزی در خاکستر نمونه توسط دستگاه جذب اتمی (GBC، Sens AA Dual، ساخت استرالیا) انجام گردید (Tosic *et al.*, 2017).

برای تعیین مقدار موم، به ۲۵ گرم از نمونه بره‌موم خام پودرشده ۷۵ میلی‌لیتر متانول اضافه شد. مخلوط در فریزر (۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد) یک شب کامل قرار گرفت. پس از آن، محلول فیلتر شد تا موم به‌دست آید. مقدار موم با استفاده از نمونهٔ وزن (SW) و وزن موم (WW) و مطابق

با رابطهٔ (۵) برحسب درصد وزنی محاسبه گردید (Dias *et al.*, 2012).

رابطهٔ (۵)

$$\text{موم}\ (\text{درصد}) = \frac{WW}{SW} \times 100$$

تعیین ترکیبات فنلی کل

میزان ترکیبات فنلی کل براساس روش رنگ‌سنجی فولین-سیوکالچیو و برحسب اسید گالیک اندازه‌گیری شد. برای‌این‌منظور، ابتدا محلول‌های استاندارد با غلظت‌های (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر گرم) از اسید گالیک در اتانول ۷۰ درصد تهیه و از آنها ۰/۵ میلی‌لیتر برداشته با ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین -سی‌کالچیو مخلوط و طی مدت ۰/۵ تا ۸ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد (وزنی/حجمی) به آن اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری و سپس جذب نوری آنها به‌وسیلهٔ دستگاه اسپکتروفوتومتر (Hach، DR5000، ساخت آمریکا) در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد و نمودار استاندارد رسم شد (Association of Official Analytical & Helrich, 1990; Lima *et al.*, 2009). سپس، مقدار ۰/۰۵ گرم از عصارهٔ خشک‌شدهٔ بره‌موم در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد حل شد و سپس ۱ میلی‌لیتر از محلول تهیه‌شده تا حجم ۱۰ میلی‌لیتر رقیق‌سازی شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از این محلول با ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم و ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین-سی‌کالچیو مخلوط شد و به مدت ۱ تا ۸ دقیقه در تاریکی نگهداری و سپس جذب آن در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد و مقدار ترکیبات فنلی برحسب میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصارهٔ خشک محاسبه گردید (Lima *et al.*, 2009).

اندازه‌گیری ترکیبات فلاونوئیدی

سنجش فلاونوئیدها براساس آزمون رنگ‌سنجی صورت گرفت (Popova *et al.*, 2005). بدین‌ترتیب‌که ابتدا ۰/۵ میلی‌لیتر از عصارهٔ اتانولی بره‌موم تهیه‌شدهٔ نهایی در قسمت ترکیبات فنلی کل به ۱ میلی‌لیتر از محلول ۲ درصد کلرید آلومینیوم ($AlCl_3.6H_2O$) اضافه شد و پس از ۱۵ دقیقه نگهداری در محل تاریک جذب آن در طول موج ۴۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. در این روش از کوئرستین (محلول آبی کوئرستین با غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر گرم) به‌عنوان استاندارد استفاده شد. منحنی استاندارد رسم و نتایج براساس میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصارهٔ خشک بیان گردید.

تعیین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی

۰/۲۵ گرم از عصاره را وزن‌کرده و با اتانول ۷۰ درصد به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. به ۲ میلی‌لیتر از محلول آماده‌شده ۲ میلی‌لیتر معرف ۲و۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل‌هیدرازیل[1] (DPPH) اضافه شد و دور لوله با فویل آلومینیومی پوشانده شد و برای ۳۰ دقیقه در جای تاریک قرار داده شد. بعد از این جذب نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. برای نمونهٔ شاهد نیز دقیقاً به‌همین‌صورت عمل گردید با این تفاوت که به‌جای نمونه از اتانول ۷۰ درصد استفاده گردید. محتوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از رابطهٔ (۶) محاسبه گردید (Wang, Sun, Cao, Tian, & Li, 2008).

رابطهٔ (۶)

$$\text{ترکیبات آنتی اکسیدانی}\ (\text{درصد}) = \left[\frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد}}{\text{جذب شاهد}}\right] \times ۱۰۰$$

تعیین خاصیت ضدمیکروبی بره‌موم

طبق تعریف کمترین غلظتی از بره‌موم که مانع رشد میکروارگانیسم مورد آزمایش گردد (غلظت آخرین چاهکی که در آن هیچ کدورتی ایجاد نشده باشد) حداقل غلظت مهارکنندگی[2] (MIC) نامیده می‌شود. در این مطالعه از روش براث میکرو دایلوشن[3] برای تعیین MIC استفاده شد. به‌این‌ترتیب که از هریک از سویه‌های باکتریایی *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی* در محیط مولر هینتون براث کدورتی معادل ۰/۵ مک‌فارلند تهیه شد تا سوسپانسیونی با غلظت ۱×۱۰^{۶} (واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر[4]) به‌دست آید. همچنین، از عصارهٔ الکلی بره‌موم با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر رقت‌های متوالی در محیط براث تهیه شد و در میکروپلیت ۹۶ خانه ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های مختلف عصاره ریخته شد. سپس ۹۵ میکرولیتر از محیط کشت براث و ۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری اضافه شد. همچنین دو چاهک به‌عنوان کنترل منفی درنظرگرفته شدند که یکی حاوی ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت براث با حلال (اتانول ۷۰

[1] 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
[2] Minimum Inhibition Concentration
[3] Broth micro dilution method
[4] Colony Forming Unit

درصد) و باکتری و دیگری شامل ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت و باکتری بودند و نیز یک چاهک حاوی محیط کشت، باکتری و آنتی‌بیوتیک (آمپی‌سیلین) به‌عنوان کنترل مثبت درنظرگرفته شد. سپس میکروپلیت‌ها پوشیده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌راد گرم‌خانه‌گذاری شدند. پس از ۲۴ ساعت، کدورت در طول موج ۶۳۰ نانومتر به کمک الایزاریدر (AWARENESS Technologies INC، Stat fax 2100، ساخت آمریکا) خوانده شد و نتایج ثبت گردید (Aamer, Abdul-Hafeez, & Sayed, 2014; Ristivojević *et al.*, 2016)

بعد از تعیین MIC، آزمون تعیین حداقل غلظت کشندگی[1] (MBC) (حداقل غلظتی از برهموم که ۹۹/۹ درصد از تراکم اولیهٔ باکتری را کاهش دهد) نیز انجام شد. برای‌این‌منظور ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک‌ها برداشته و در پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. این پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شدند و پس از این مدت عدم رشد باکتری نشان‌دهندهٔ MBC است (Aamer *et al.*, 2014; Ristivojević *et al.*, 2016؛ اونق و همکاران، ۱۳۸۹؛ تیموری، ۱۳۸۸).

تعیین محتوی ترکیبات فنلی به روش کروماتوگرافی

جداسازی و شناسایی ترکیبات فنلی عصارهٔ برهموم به کمک دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا[2] (HPLC) (Agilent، HPLC 1100، ساخت آمریکا) همراه با آشکارساز آرایه دیودی[3] در ۲۶۰ نانومتر انجام شد. برای‌این‌منظور ۳۰۰ میکرولیتر از محلول به دستگاه کروماتوگرام تزریق شد. فاز متحرک شامل آب/اسید استیک (به نسبت ۱/۱۹ حجمی/حجمی) (حلال A) و متانول (حلال B) با سرعت جریان ثابت ۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود. گرادیان با ۳۰ درصد حلال B شروع شد و با ۶۰ درصد در ۴۵ دقیقه، ۷۵ درصد در ۸۵ دقیقه، ۹۰ درصد در ۹۵ دقیقه و بازگشت به ۳۰ درصد در ۱۰۵ دقیقه ادامه پیدا کرد. دمای ستون در ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد ثابت نگه‌داشته شد و پردازش کروماتوگرام‌ها با استفاده از نرم‌افزار رایانهٔ کروماتوگرافی کِم‌استیت[4] (Agilent، NIST chromatography data base، ساخت آمریکا) انجام گردید (Mello, Petrus, & Hubinger, 2010).

تحلیل آماری

برای تجزیه‌وتحلیل آماری از طرح کاملاً تصادفی ساده در قالب آزمایش‌های فاکتوریل استفاده شد و تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار مینی‌تب[5] نسخهٔ ۱۶,۲,۴ انجام شد. مقایسهٔ میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی[6] در سطح اطمینان ۹۵ درصد، ($P<۰/۰۵$) صورت گرفت. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Microsoft Excel نسخهٔ ۲۰۱۰ رسم شد. لازم به ذکر است که کلیهٔ آزمون‌ها در سه تکرار انجام شدند.

نتایج و بحث

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی برهموم

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی برهموم اطلاعاتی را فراهم می‌سازد که برای تشخیص هر نمونه متناسب با منشأ جغرافیایی آن قابل استفاده است. ازآنجایی‌که هر نمونه برهموم همراه با مقادیر و منابع متفاوتی از ترکیبات شیمیایی است، لذا ویژگی‌های متفاوتی مانند رنگ، عطر و نیز اثر ضدمیکروبی به‌جا می‌گذارد. این ویژگی‌ها به مقدار و مبدأ تولید این محصول بستگی دارد (Dias *et al.*, 2012؛ اونق و همکاران، ۱۳۸۹). ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی برهموم مورداستفاده در این مطالعه در جدول (۱) خلاصه شده است.

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی به‌دست‌آمده از نمونهٔ برهموم مورداستفاده ازقبیل رطوبت، خاکستر، مواد جامد محلول و نامحلول و pH قابل‌مقایسه با نتایج گزارش‌شده ازسوی‌دیگر محققین است (Saturnino da Silva AraÚJo *et al.*, 2016; Socha *et al.*, 2011). این ویژگی‌ها نشان‌دهندهٔ نوع منشأ گیاهی مورداستفاده و نیز خصوصیات منطقهٔ آب‌وهوایی و جغرافیایی محصول برهموم است. Dias و همکاران (۲۰۱۲) مقدار خاکستر ۴ نوع برهموم جمع‌آوری‌شده از مناطق مختلف پرتغال را به‌دست آوردند که نتایج آنها بین ۱/۹ تا ۲/۲ درصد تعیین گردید. این گروه از محققین مقدار موم موجود در نمونه‌های

[1] Minimum Bactericidal Concentration
[2] High Performance Liquid Chromatography
[3] Diode Array
[4] Chemstate
[5] Minitab
[6] Tukey

برەموم را بین ۴/۶ تا ۱۶ درصد، محتوای رطوبت را بین ۳/۴ تا ۵/۴ درصد، مواد جامد محلول را ۶۰ تا ۷۱ درصد و pH را ۴/۷ تا ۵/۳ به‌دست آوردند. Woisky و Salatino (۱۹۹۸) مقدار خاکستر نمونه‌های برەموم برزیل (۴ منطقهٔ مختلف سان‌پائولو) را بین ۱/۸۷ تا ۳/۷۴ درصد وزنی و مقدار موم را بین ۴/۶۳ تا ۷/۸۲ درصد وزنی گزارش کردند.

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نمونهٔ برەموم (میانگین±انحراف استاندارد)

ویژگی	مقدار
رطوبت (درصد)	۲/۴۱±۰/۲۵
pH	۵/۲۹±۰/۰۶
خاکستر (درصد)	۳/۲۸±۰/۰۷
مواد جامد محلول (درصد)	۴۶/۸۵±۰/۹۰
مواد جامد نامحلول (درصد)	۵۳/۱۵±۰/۹۱
موم (درصد)	۳۶/۳۶±۰/۹۴
فنل کل (میلی‌گرم بر گرم)	۴۰/۲۲±۰/۸۷
محتوی فلاونوئیدها (میلی‌گرم بر گرم)	۲۶/۴۰±۰/۵۹
محتوی آنتی‌اکسیدان (درصد)	۶۰/۶۹±۰/۹۳

همچنین محتوی عناصر فلزی در خاکستر نمونه‌ها بررسی گردید و مقادیر آنها در جدول (۲) درج شده است. ملاحظه می‌گردد که فلزات کلسیم، منیزیم، آهن، پتاسیم و سدیم بیشترین مقادیر را در میان عناصر تعیین‌شده دارند. این مقادیر در توافق با مقادیر اعلام‌شده ازسوی‌دیگر محققین می‌باشد (Tosic *et al.*, 2017). Lima و همکاران (۲۰۰۹) در در مطالعهٔ خود روی نمونه‌های ۶ منطقهٔ مختلف آرژانتین گزارش کردند که محتوی فلزی کلسیم، پتاسیم، آهن، سدیم، و منیزیم در مقادیر زیاد بود اما مقدار روی و منگنز در آنها پایین بود. گروه دیگری از محققین برای اولین بار از طیف‌سنجی مادون‌قرمز نزدیک[1] کار کیفی روی تعداد ۹۱ نمونه برەموم (۵۲ نمونه از شیلی و ۳۹ نمونه از اسپانیا) انجام دادند و گسترهٔ وسیعی از مواد معدنی و نیز مواد سمی موجود را در آن شناسایی کردند (González-Martín *et al.*, 2015). نتایج آنها نشان داد که عناصر آلومینیوم، کلسیم، آهن، پتاسیم و فسفر دارای بیشترین مقدار در این نمونه‌ها می‌باشد درحالی‌که عناصری مانند کروم، مس، روی، نیکل و سرب به مقدار بسیار ناچیز بودند.

جدول ۲- محتوی کاتیون‌های فلزی در نمونهٔ برەموم (میانگین±انحراف استاندارد)

کاتیون فلزی	مقدار (میلی‌گرم در کیلوگرم)
کلسیم (Ca)	۱۹۸۳/۲۹±۲۳۳/۰۰
منیزیم (Mg)	۵۷۰/۲۳±۵۸/۶۰
آهن (Fe)	۴۸۳/۰۴±۴۶/۳۰
پتاسیم (K)	۴۲۸/۲۹±۶۸/۷۰
سدیم (Na)	۳۷۱/۷۱±۱۱/۳۴
روی (Zn)	۱۲/۶۰±۰/۵۲
مس (Cu)	۶/۷۳±۰/۰۶
سرب (Pb)	۱/۰۹±۰/۶۸

ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و آنتی‌اکسیدانی

فنل‌ها و فلاونوئیدها در بسیاری از ترکیبات طبیعی و ازجمله برەموم یافت می‌شوند. این ترکیبات نه تنها اثرات آنتی‌اکسیدانی بالایی دارند بلکه بر میکروارگانیسم‌ها نیز می‌توانند اثر گذاشته و باعث تخریب یا ممانعت از رشد آنها گردند. میزان کل ترکیبات فنلی و نیز محتوی ترکیبات فلاونوئیدی در نمونهٔ برەموم مورداستفاده به‌ترتیب ۴۰/۲۲ میلی‌گرم بر گرم (برحسب اسید گالیک) و ۲۶/۴۰ میلی‌گرم بر گرم (برحسب کوئرستین) به‌دست آمد (جدول ۱). مقدار کل فنل و فلاونوئیدها پارامترهای مهمی برای ارزیابی کمی و ظرفیت بیولوژیکی محصول هستند (Moreira, Dias, Pereira, & Estevinho, 2008). میزان ترکیبات فنلی برەموم و درنتیجه ویژگی ضدمیکروبی آن به شدت وابسته به شرایط آب‌وهوایی و جغرافیایی محل‌هایی است که گیاه در آن ناحیه رشد می‌کند. Dias و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که نمونه‌هایی که محتوی فنلی و فلاونوئیدی بیشتر از ۲۳ درصد داشتند مربوط به سرزمین‌های گرم بودند. نتایج آنها با نتایج دیگر محققین (Choi *et al.*, 2006; Silva, Rodrigues, Feás, & Estevinho, 2012) قابل مقایسه بود. همچنین، Socha و همکاران (۲۰۱۱) مقادیر ترکیبات فنلی کل و نیز فلاونوئیدی برەموم از مناطق مختلف لهستان را اندازه‌گیری کردند که به‌طور میانگین مقدار ۱۷۳/۶۰ میلی‌گرم بر گرم و ۴۸/۸۴ میلی‌گرم بر گرم را به‌ترتیب برای ترکیبات فنلی کل و فلاونوئیدها به‌دست آوردند. آنها نتیجه گرفتند که رابطهٔ خطی میان مقدار این ترکیبات و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و نیز ضدمیکروبی

[1] Near Infrared (NIR)

این ماده وجود دارد. Kalogeropoulos، Konteles، Troullidou، Mourtzinos و Karathanos (۲۰۰۹) گزارش کردند که محدودهٔ گسترده‌ای از فلاونوئید کل در برەموم مناطق مختلف یونان و قبرس دارای محتوی ۲/۵ تا ۱۷۶ میلی‌گرم بر گرم می‌باشد. همچنین، Kumazawa و همکاران (۲۰۰۴) مقدار کل فلاونوئید در برەموم اوکراین را به مقدار ۶۳/۷ میلی‌گرم بر گرم تعیین نمودند.

ازسوی‌دیگر محتوی آنتی‌اکسیدانی برەموم موردمطالعه ۶۰/۶۹ درصد به‌دست آمد (جدول ۱). این مقدار قابل‌مقایسه با مقادیر گزارش‌شده ازسوی‌دیگر محققین است. Lima و همکاران (۲۰۰۹) ویژگی‌های شیمیایی برەموم ازجمله ظرفیت مهار رادیکال آزاد در نمونه‌های ۶ منطقهٔ مختلف آرژانتین را بررسی کردند. مقدار فعالیت مهار رادیکال آزاد که برحسب بی‌رنگ‌شدن DPPH اندازه‌گیری شد در محدودهٔ ۴۶/۶۰ تا ۸۹/۵۰ در ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر متغیر بود. ازسوی‌دیگر، Kumazawa و همکاران (۲۰۰۴) فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی برەموم مناطق مختلف جغرافیایی، یعنی آرژانتین، استرالیا، برزیل، بلغارستان، شیلی، چین، مجارستان، نیوزیلند، آفریقای جنوبی، تایلند، اوکراین، اروگوئه، ایالات متحده آمریکا و ازبکستان را مقایسه نمودند. نتایج نشان داد نمونه‌های آرژانتین، استرالیا، چین، مجارستان و نیوزیلند فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی نسبتاً قوی داشتند و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی با محتوای کلی پلی‌فنل‌ها و فلاونوئیدها همبستگی داشت.

مقایسهٔ نتایج گزارش‌شده ازسوی‌دیگر محققین با مقادیر گزارش‌شده در مقالهٔ حاضر بیانگر مقدار پایین ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی موجود در نمونهٔ برەموم موردمطالعه است. باتوجه‌به اینکه برەموم موردمطالعه از منطقهٔ کوه‌های هزارمسجد جمع‌آوری شده است و همچنین توجه به این نکته که استان خراسان رضوی در سال‌های اخیر با کاهش بارش و نزولات جوی روبه‌رو بوده است، احتمال داده می‌شود که شرایط آب‌وهوایی و جغرافیایی استان خراسان رضوی در سال‌های اخیر بر خصوصیات برەموم‌های منطقه تأثیر گذاشته باشد.

ویژگی‌های ضدمیکروبی عصارهٔ برەموم

آزمون‌ها نشان دادند که MIC برای عصارهٔ الکلی برەموم در برابر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود درحالی‌که در غلظت به‌کاررفته برای باکتری *اشرشیاکلی* MIC به‌دست نیامد. همچنین با انجام آزمون MBC برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* عدم رشد باکتری مشاهده نگردید. نتایج این آزمون‌ها بیانگر این مطلب بود که عصارهٔ الکلی برەموم بر باکتری گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*) نسبت به باکتری گرم منفی (*اشرشیاکلی*) تأثیر بیشتری گذاشته است و همچنین نتیجه گرفته شد که عصارهٔ برەموم روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* تنها اثر مهارکنندگی دارد و اثر کشندگی ندارد.

بررسی منابع حاکی‌از این است که حداقل غلظت کشندگی (MIC) عصارهٔ الکلی برەموم باتوجه‌به نوع میکروارگانیسم (باکتری، مخمر و کپک) متفاوت است و حتی در بین میکروارگانیسم‌های یک خانواده بسته به جنس و گونه ممکن است، متفاوت باشد (Kim, Pant, Sim, Lee, & Kim, 2014؛ ضیا، منانی، محمودی و بیات، ۱۳۸۸؛ مؤمن‌بیت‌الهی و همکاران، ۱۳۸۸؛ هاتفی، مهرابیان، نوحی و رفیعی‌طباطبایی، ۱۳۸۷). اونق و همکاران (۱۳۸۹) مقدار MIC را در نمونه‌های برەموم منطقهٔ آذربایجان برای میکروارگانیسم‌های *اشرشیاکلی* و *آسپیرجیلوس نایجر*[1] به‌ترتیب ۲۵۰ و ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آوردند. درهمین‌راستا، شاهدی (۱۳۹۰) اثر ضدباکتریایی عصارهٔ الکلی برەموم به‌دست‌آمده از کندوهای منطقهٔ شهرکرد را روی ۶ باکتری مهم مولد عفونت و مسمومیت غذایی شامل *سالمونلا تیفی موریم*[2]، *اشرشیاکلی*، *سودوموناس آئروجینوزا*[3]، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا مونوسیتوژنز*[4] و *باسیلوس سرئوس*[5] موردبررسی قرار دادند (شاهدی، ۱۳۹۰).

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که عصارهٔ الکلی برەموم روی باکتری‌های گرم مثبت تأثیر قابل‌توجهی داشت و تقریباً رشد همهٔ باکتری‌های موردآزمایش را به‌صورت معنی‌داری مهار کرد ($P<۰/۰۵$). برخلاف باکتری‌های گرم مثبت، برەموم بر رشد باکتری‌های گرم منفی تأثیر معنی‌داری نداشت ($P>۰/۰۵$). Uzel و همکاران (۲۰۰۵) عصارهٔ اتانولی ۴ نمونه برەموم آناتولی را

[1] *Aspergillus niger*
[2] *Salmonella Typhimurium*
[3] *Pseudomonas aeruginosa*
[4] *Listeria monocytogenes*
[5] *Bacillus cereus*

مطالعه کردند و فعالیت ضدمیکروبی آن برحسب MIC تعیین شد. آنها دریافتند که هرچند نمونه‌های بره‌موم از مناطق مختلف آناتولی جمع‌آوری‌شده بودند، اما همهٔ نمونه‌ها فعالیت ضدمیکروبی مشابهی علیه باکتری‌های گرم مثبت و مخمرها نشان دادند و بنابراین نتیجه گرفتند که بره‌موم می‌تواند از پوسیدگی دندان جلوگیری کند؛ زیرا فعالیت ضدمیکروبی قابل‌توجهی را علیه میکروارگانیسم‌هایی مانند *استرپتوکوک موتانس*[1]، *استرپتوکوکوس سوبرینوس*[2] و *کاندیدا آلبیکنس*[3] نشان می‌دهد که شامل بیماری‌های دهانی می‌شوند. این در حالی است که مقدار MIC تعیین‌شده برای عصارهٔ الکلی بره‌موم در این مطالعه در مقایسه با نتایج دیگر محققین بسیار بالاتر است و این امر می‌تواند به پایین‌بودن محتوی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی موجود در این نمونه مربوط باشد.

تعیین ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی با HPLC

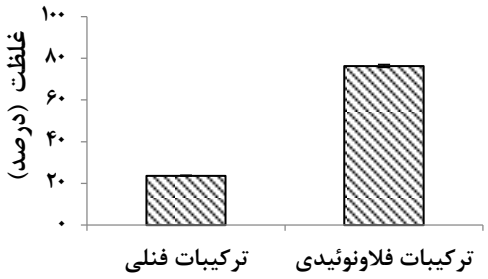
شناسایی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصارهٔ بره‌موم با کروماتوگرافی HPLC انجام شد. جدول (۳) ترکیبات جداسازی و شناسایی‌شدهٔ موجود را در عصارهٔ بره‌موم نشان می‌دهد. تعداد ترکیبات استخراج‌شده از عصارهٔ بره‌موم ۱۵ ترکیب بود. مقدار کل ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی شناسایی‌شده در کروماتوگرام عصارهٔ بره‌موم ۵۸/۶۸۵ میلی‌گرم بر گرم به‌دست آمد. براساس داده‌های به‌دست‌آمده از HPLC در جدول (۳) مشاهده می‌گردد که بیشترین مادهٔ استخراج‌شده در عصاره مربوط به پینوسمبرین[4] (پیک شمارهٔ ۱۴) می‌باشد که مقدار ۸/۶۵۰ میلی‌گرم بر گرم (۱۴/۷۴ درصد) به‌دست آمد. نارینجنین[5] (پیک شمارهٔ ۹) که به لحاظ مقداری دومین ترکیب موجود در عصارهٔ بره‌موم بود نیز دارای مقدار ۸/۱۷۵ میلی‌گرم بر گرم (۱۳/۹۳ درصد) به‌دست آمد. دو ترکیب اسید فرولیک (پیک شمارهٔ ۵) و گالانجین[6] (پیک شمارهٔ ۱۵) در ردیف‌های ۳ و ۴ و به‌ترتیب با مقادیر ۵/۷۰ و ۵/۲۶ میلی‌گرم بر گرم (به‌ترتیب ۹/۷۱ و ۸/۹۵ درصد) قرار گرفتند و در رتبهٔ پنجم کرایسین[7] (پیک شمارهٔ ۱۳) با مقدار ۴/۹۲ میلی‌گرم بر گرم (۸/۳۸ درصد) قرار گرفت.

جدول ۳- ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی جداسازی و شناسایی‌شده با روش HPLC در عصارهٔ بره‌موم (میانگین±انحراف استاندارد)

مجموعهٔ ترکیبات		نام ترکیب	شمارهٔ پیک	غلظت (میلی‌گرم برگرم)
ترکیبات فنلی		گالیک اسید	۱	۱/۳۶±۰/۰۶
		کافئیک اسید	۲	۴/۸۷±۰/۰۲
		کاتکین	۳	۱/۹۸±۰/۵۰
		فرولیک اسید	۵	۵/۷۰±۰/۰۲
ترکیبات فلاونوئیدی	فلاونوئید	اپی‌کاتکین	۴	۱/۸۹±۰/۰۱
		کوماریک اسید	۸	۴/۴۹±۰/۱۰
	فلاون	کوئرستین- ۳- متیل- اتر	۷	۱/۷۰±۰/۰۳
		آپی‌جنین	۱۰	۴/۶۴±۰/۰۳
		لوتئولین	۱۲	۲/۱۰±۰/۰۴
		کرایسین	۱۳	۴/۹۲±۰/۲۰
	فلاونون	نارینجنین	۹	۸/۱۸±۰/۰۶
		پینوسمبرین	۱۴	۸/۶۵±۰/۱۱
	فلاونول	کوئرستین	۶	۱/۸۳±۰/۰۳
		کامفرول	۱۱	۱/۱۶±۰/۰۶
		گالانجین	۱۵	۵/۲۶±۰/۰۲

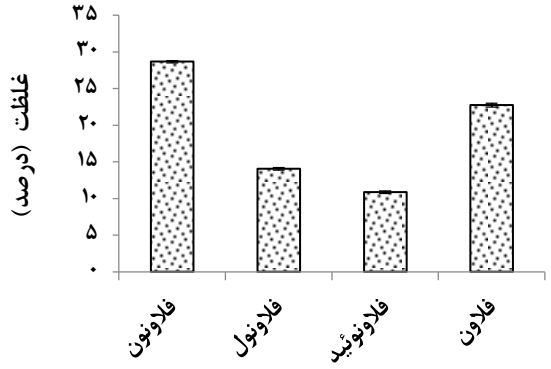
[1] *Streptococcus mutans*
[2] *Streptococcus sobrinus*
[3] *Candidate Albicans*
[4] Pinocembrin
[5] Naringenin
[6] Galangin
[7] Chrysin

شکل (۱) مجموعهٔ ترکیبات شناسایی‌شده در عصارهٔ اتانولی برەموم را با روش HPLC نشان می‌دهد. همان‌طورکه در شکل (۱) مشاهده می‌گردد بیشترین مقدار ترکیبات شناسایی‌شده به‌این‌وسیله مربوط به مجموعهٔ ترکیبات فلاونوئیدی (شامل فلاونون‌ها، فلاون‌ها، فلاونول‌ها و فلاونوئیدها) (۷۶/۳۲ درصد) می‌باشد درحالی‌که مقدار مجموعهٔ ترکیبات فنلی (شامل کاتکین و اسیدهای گالیک، فرولیک و کافئیک) ۲۳/۶۸ درصد به‌دست آمد. براساس این داده‌ها، مقدار ترکیبات فلاونوئیدی کمی بیشتر از سه برابر ترکیبات فنلی موجود در نمونهٔ برەموم بود. لازم به ذکر است که تعدادی از ترکیبات موجود در هریک از این دو مجموعه دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بودند که شامل کاتکین به‌عنوان ترکیب فنلی و اپی‌کاتکین و پینوسمبرین به‌عنوان ترکیبات فلاونوئیدی می‌باشند. این ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در مجموع دارای مقداری در حدود ۲۱/۳۲ درصد بودند.



شکل ۱- مجموعهٔ ترکیبات شناسایی‌شده در عصارهٔ اتانولی برەموم به روش HPLC

در شکل (۲) مجموعهٔ ترکیبات فلاونوئیدی شناسایی‌شده با HPLC برحسب مقدارشان به تفکیک نشان داده شده‌اند. همان‌طورکه قبلاً اشاره شد این مجموعه شامل ۴ دسته ترکیبات (فلاون، فلاونوئید، فلاونل و فلاونون) بودند (جدول ۳). از شکل (۲) ملاحظه می‌گردد که بیشترین مقدار ترکیبات تشکیل‌دهندهٔ مجموعهٔ ترکیبات فلاونوئیدی، فلاونون‌ها با مقدار ۲۸/۶۷ درصد هستند که شامل پینوسمبرین و نارینجنین می‌شوند. گروه بعدی فلاون‌ها با مقدار ۲۲/۷۵ درصد هستند. این دسته شامل ۴ ترکیب می‌شود که کرایسین و آپی‌جنین به‌ترتیب بیشترین مقدار را در این گروه دارند. در مرتبهٔ سوم گروه ترکیبات فلاونولی با مقدار ۱۴/۰۳ درصد قرار می‌گیرند و شامل ۳ ترکیب گالانجین، کوئرستین و کامفرول می‌باشد. در آخر رتبهٔ گروه فلاونوئیدها با مقدار ۱۰/۸۶ درصد هستند و شامل ۲ ترکیب کاتکین و اسید کوماریک می‌شوند. (جدول ۳).



شکل ۲- گروه‌های تشکیل‌دهندهٔ مجموعهٔ ترکیبات فلاونوئیدی شناسایی‌شده با HPLC

نتایج به‌دست‌آمده از شناسایی ترکیبات به روش HPLC برای عصارهٔ برەموم موردمطالعه در این تحقیق با نتایج دیگر محققین قابل‌مقایسه است. Yang و همکاران (۲۰۱۳) ترکیبات فنلی عصاره‌های برەموم چینی به کمک کروماتوگرافی HPLC جداسازی و شناسایی نمودند. براساس داده‌های آنها ترکیب‌های شناسایی‌شده (به‌ترتیب بیشترین مقدار بازیابی‌شده) عبارت است از گالانجین (۲/۷۸ میلی‌گرم بر گرم)، لوتئولین (۱/۱۷ میلی‌گرم بر گرم)، جنستئین (۰/۸۴ میلی‌گرم بر گرم)، کوئرستین (۰/۶۴ میلی‌گرم بر گرم)، روتین (۰/۴۰ میلی‌گرم بر گرم) و کورکومین (۰/۰۱ میلی‌گرم بر گرم) بودند. Kosalec، Bakmaz، Pepeljnjak و Vladimir-Knezevis (۲۰۰۴) عصارهٔ اتانولی برەموم از ناحیهٔ آدریاتیک کرواسی را به روش HPLC موردبررسی قرار دادند. این گروه فلاونوئیدهای پینوسمبرین، اسیدکافئیک، گالانجین و کرایسین را آنالیز کردند. نتایج آنها نشان داد که فلاونوئید غالب در تمامی نمونه‌ها پینوسمبرین است و مقدار آن از ۰/۰۳ تا ۶/۱۴ درصد گزارش شد. براساس یافته‌های این گروه نمونه‌های برەموم مناطق مختلف کرواسی محتوای فلاونوئیدهای کرایسین، پینوسمبرین، نارینجنین و گالانجین تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای نداشتند اما در مقدار اسیدکافئیک متفاوت بودند. همچنین، Bruschi و همکاران (۲۰۰۳) روشی بر پایهٔ HPLC و آشکارساز فرابنفش برای تعیین مقدار ترکیبات موجود در عصارهٔ برەموم توسعه داد. براساس روش آنها ناحیهٔ خطی جواب‌ها بر پایهٔ سنجش کرایسین در محدودهٔ ۰/۲۴ تا ۲/۴

میلی‌گرم بر گرم قرار می‌گرفت و نتایج بیانگر صحت، دقت و کارایی روش آنها بود. Pellati، Prencipe، Bertelli و Benvenuti (۲۰۱۳) با روش HPLC مقدار ترکیبات فنلی ۰/۵ تا ۰/۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ترکیبات فلاونوئیدی ۱/۲ تا ۳/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آوردند، درحالی‌که ازطریق استخراج با مایکروویو مقدار ترکیبات فنلی کل از ۵/۰ تا ۱۲۰/۸ میلی‌گرم بر گرم و ترکیبات فلاونوئیدی کل از ۲/۵ تا ۱۶۸/۰ میلی‌گرم بر گرم به‌دست آمد.

تحقیق‌ها نشان می‌دهد که فعالیت ضدمیکروبی برەموم به‌وجود ترکیبات فلاونوئیدی و فنلی موجود در آن بستگی دارد. به‌عنوان مثال Popravko، Gurevich و Kolosov (۱۹۶۹) دریافتند که فلاون‌های گالانجین و پینوسمبرین مشابه هم عمل می‌کنند و فعالیت ضدباکتری بالایی را نسبت به *باسیلوس سابتیلیس*[1]، *پروتئوس ولگاریس*[2] و *باسیلوس آلویه*[3] نشان داده‌اند درحالی‌که اثر آنها در مقایسه با *سالمونلا گالیناروم*[4]، *سالمونلا پولروم*[5] و *سالمونلا دوبلین*[6] کمتر و نسبت به سویه‌های مختلف *اشرشیاکلی* ناچیز بود. در واقع این محققین پی‌بردند که، گالانجین در غلظت‌های ۰/۰۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، باکتری *باسیلوس سابتیلیس* را به مدت ۱۲ ساعت مهار کرد. سطوح بالاتر (۰/۰۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) باعث کاهش رشد *ب. آلویه* برای ۲۴ ساعت و *پروتئوس ولگاریس* برای ۱۲ ساعت شد. اگرچه، این غلظت برای مهار *سالمونلا گالانیروم*[7] برای ۲۴ ساعت موردنیاز بود. همچنین، گروهی از محققین بیان کردند که پینوسمبرین باکتری *باسیلوس سابتیلیس* را به مدت ۲۴ ساعت در ۰/۰۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر مهار می‌کند (Ghisalberti, 1979) و دارای فعالیت ضدمیکروبی قابل‌توجهی نسبت به قارچ *آلترناریا*[8] است (Kosalec, Bakmaz, & Pepeljnjak, 2003; Kosalec *et al*., 2004). ازسوی‌دیگر گزارش شده است اسید کافئیک و اسید فرولیک دارای فعالیت ضدباکتری در برخی از میکروارگانیسم‌های گرم مثبت و گرم منفی هستند (Ghisalberti, 1979; Popravko *et al*., 1969).

براساس وجود بیشترین ترکیبات شناسایی‌شده در مطالعهٔ حاضر انتظار می‌رود که تأثیر ضدمیکروبی این نمونه برەموم بر بعضی از میکروارگانیسم‌ها برجسته‌تر باشد. باتوجه‌به اینکه بیشترین ترکیب‌های شناسایی‌شده در نمونهٔ برەموم موردمطالعه در این تحقیق پینوسمبرین و نارینجنین بود، لذا انتظار می‌رود که این نمونه نسبت به باکتری‌های اشاره‌شده (*باسیلوس سابتیلیس*، *پروتئوس ولگاریس* و *ب. آلویه*) و نیز برخی قارچ‌ها تأثیر مشابهی را نشان دهد. در واقع نمونهٔ برەموم موردمطالعه در این پژوهش نسبت به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر خاصیت ضدمیکروبی (MIC) نشان داد که این تأثیر به‌وجود پینوسمبرین در نمونه می‌تواند مرتبط باشد (Ghisalberti, 1979).

نتیجه‌گیری

در مطالعهٔ حاضر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ضدمیکروبی و نیز محتوی ترکیبات مؤثره در نمونهٔ برەموم ارزیابی شد. براساس نتایج به‌دست‌آمده مهم‌ترین عناصر فلزی موجود در نمونهٔ برەموم حاصل از کندوهای استان خراسان رضوی شامل کلسیم، منیزیم، آهن، پتاسیم و سدیم بودند. مقدار ترکیبات فنلی کل و فلاونوئیدی موجود در نمونهٔ برەموم موردمطالعه به‌ترتیب ۴۰/۲۲ میلی‌گرم بر گرم و ۲۶/۴۰ میلی‌گرم بر گرم به‌دست آمد. همچنین، حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره در برابر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد درحالی‌که در غلظت به‌کاررفته برای باکتری *اشرشیاکلی* MIC به‌دست نیامد. براین‌اساس، نمونهٔ برەموم موردمطالعه اثر ضدمیکروبی بیشتری روی باکتری‌های گرم مثبت از خود نشان داد. این نتایج بیانگر این است که فعالیت ضدمیکروبی برەموم تحت‌تأثیر مقدار ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی موجود در نمونهٔ موردمطالعه بوده است. به‌طورکلی این مطالعه نشان داد برەموم پتانسیل بالایی جهت استفاده به‌عنوان افزودنی ضدمیکروبی یا نگهدارنده در مواد غذایی و همچنین مکمل‌های آنتی‌بیوتیکی غذایی و غذا-داروها دارد.

سپاسگزاری

نویسندگان از صندوق حمایت از پژوهشگران معاونت علمی ریاست جمهوری برای حمایت‌های مالی پروژهٔ مرتبط (با شمارهٔ ۹۳۰۴۲۳۶۵) تشکر می‌کنند.

[1] *Bacillus subtilis*
[2] *Proteus vulgaris*
[3] *B. alvei*
[4] *Salmonella gallinarum*
[5] S. *pullorum*
[6] S. *dublin*
[7] *S. gallinarum*
[8] *Alternalia*

منابع

اشراقی، س.س. و والافر، ش. (۱۳۸۲). بررسی اثرات ضدباکتریایی بره موم (Propolis) کندوی عسل بر گونه های بیماریزای نوکاردیا. *مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی شهید صدوقی یزد*، ۱۱(۲)، ۴۲-۴۸.

اونق، ع.، توکمهچی، ا.، حسامی، م.ا. و ابراهیم‌زاده، س.ا. (۱۳۸۹). GC-MS مطالعه تاثیر عصاره الکلی بره موم (پروپولیس) حاصل از کندوهای زنبور عسل آذربایجان غربی علیه رشد قارچهای درماتوفیت و غیر درماتوفیت و آنالیز ترکیبات سازنده آن با روش GC-MS. *مجله پزشکی ارومیه*، ۲۱(۳)، ۲۰۶-۲۱۴.

تیموری، م. (۱۳۸۸). تجزیه اسانس و بررسی اثر ضد باکتریایی گیاه مرزه Satureja bachtiarica (Bunge.) در استان اردبیل. *فیزیولوژی محیطی گیاهی (پژوهش های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران)*، ۴(۲)، ۱۹-۲۶.

رضوی زاده، ب.ب.م. و نیازمند، ر. (۱۳۹۷). تاثیر روش‌های استخراج خیساندن و فراصوت بر محتوای ترکیبات فنلی بره موم. *فناوری‌های نوین غذایی*، ۶(۲)، ۲۹۳-۳۰۴. doi:https://doi.org/10.22104/jift.2019.3161.1766

شاهدی، م. (۱۳۹۰). بررسی اثر ضد باکتری عصاره الکلی بره موم بر برخی باکتری های بیماری زای غذازاد، (رساله دکتری منتشرنشده). دانشگاه شهرکرد، دانشگده دامپزشکی.

ضیایی‌لائین، ا. (۱۳۹۱). گیاهان دارویی هزار مسجد (مشاهده شده در ۱۰ دی ۱۳۹۷)، قابل دسترسی در درگاه الکترونیکی http://haval.blogfa.com/category

ضیا، م.ع.، منانی، ر.، محمودی، م. و بیات، م. (۱۳۸۸). بررسی تاثیر عصاره الکلی بره موم (پروپولیس) حاصل از کندوهای زنبور عسل ایران بر رشد تریکوفیتون منتاگروفایتیس، تریکوفیتون روبروم و تریکوفیتون وروکوزوم. *مجله دانشکده پزشکی اصفهان*، ۲۷(۹۵)، ۲۳۲-۲۴۱.

علی. (۱۳۹۵). معرفی بعضی از گیاهان دارویی منطقه کلات نادر (مشاهده شده در ۱۰ دی ۱۳۹۷)، قابل دسترسی در درگاه الکترونیکی http://koohnavardforood.blogsky.com

مؤمن‌بیت‌الهی، ج.، بهرامی، ن.، منصوریان، آ.، اسماعیلی، م.، امانلو، م. و محمدنیا، ع. (۱۳۸۸). بررسی اثر ضد میکروبی عصاره بره موم (Propolis) بر شایع‌ترین میکروارگانیسم های آسیب زای دهان (*کاندیدا آلبیکانس*، *استرپتوکوک موتانس*، *اکتینوباسیلوس*) در شرایط آزمایشگاهی. *مجله دندانپزشکی (جامعه اسلامی دندانپزشکان ایران)*، ۲۱(۱)، ۳۳-۳۹.

نشوه، م. و ناظری، س. (خرداد، ۱۳۹۳). فعالیت ضد باکتریایی عصاره اتانولی بره موم بر ضد باکتریهای بیماریزای انسانی. ارائه شده در اولین کنگره ملی زیست شناسی و علوم طبیعی ایران، تهران، ۳-۵ خرداد، مشاهده شده در https://www.civilica.com/Paper-BSCONF01-BSCONF01_594.html.

هاتفی، م.، مهرابیان، ص.، نوحی، ا.ا. و رفیعی‌طباطبایی، ر. (۱۳۸۷). بررسی خواص ضدجهش زایی عصاره الکلی بره‌موم به وسیله سالمونلا تیفی‌موریوم و میکروزوم. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک، ۱۱(۲)، ۱۰۲-۱۱۰.

Aamer, A., Abdul-Hafeez, M., & Sayed, S. M. (2014). Minimum Inhibitory and Bactericidal Concentrations (MIC and MBC) of Honey and Bee Propolis against Multi-Drug Resistant (MDR) Staphylococcus sp. Isolated from Bovine Clinical Mastitis. *Alternative & Integrative Medicine, - 3*(4), 1-5.

Ali. (2016). Introduction of Some Medicinal Herbs of Kalate Nader region Retrieved from http://koohnavardforood.blogsky.com (in Persian)

Association of Official Analytical, C., & Helrich, K. (1990). *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Arlington, VA: The Association.

Bankova, V. S., Castro, S. L. d., & Marcucci, M. C. (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, *31*(1), 3-15. doi:https://doi.org/10.1051/apido:2000102

Banskota, A. H., Tezuka, Y., & Kadota, S. (2001). Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytother Res*, *15*(7), 561-571. doi:https://doi.org/10.1002/ptr.1029

Bruschi, M. L., Franco, S. L., & Gremião, M. P. D. (2003). Application of an HPLC Method for Analysis of Propolis Extract. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, *26*(14), 2399-2409. doi:https://doi.org/10.1081/JLC-120023254

Choi, Y. M., Noh, D. O., Cho, S. Y., Suh, H. J., Kim, K. M., & Kim, J. M. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT - Food Science and Technology*, *39*(7), 756-761. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.05.015

Dias, L. G., Pereira, A. P., & Estevinho, L. M. (2012). Comparative study of different Portuguese samples of propolis: Pollinic, sensorial, physicochemical, microbiological characterization and antibacterial activity. *Food and Chemical Toxicology*, *50*(12), 4246-4253. doi:https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.08.056

Eshraghi, S., & Valafar, S. (2003). Stugy of antibacterial effects of propolis honeybee hive on Nocardia pathogens. *Journal Of Shahid Sadoughi University Of Medical Sciences And Health Services*, *11*(2), 42-48 .(in Persian)

Ghisalberti, E. L. (1979). Propolis: A Review. *Bee World*, *60*(2), 59 .84- doi:https://doi.org/10.1080/0005772X.1979.11097738

González-Martín, M. I., Escuredo, O., Revilla, I., Vivar-Quintana, A. M., Coello, M. C., Riocerezo, C. P., & Moncada, G. W. (2015). Determination of the Mineral Composition and Toxic Element Contents of Propolis by Near Infrared Spectroscopy. *Sensors (Basel, Switzerland)*, *15*(11), 27854-27868. Retrieved from doi:https://doi.org/10.3390/s151127854

Hatefi, M., Mehrabian, S., Nouhi, A., & Rafiee Tabatabaee, R. (2008). Survey of antimutagenic effects of ethanolic extract of propolis by Salmonella typhymurium/microsome *Journal of Arak University of Medical Sciences*, *11*(2), 102-110 .(in Persian)

Kalogeropoulos, N., Konteles, S. J., Troullidou, E., Mourtzinos, I., & Karathanos, V. T. (2009). Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. *Food Chemistry*, *116*(2), 452-461. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.060

Kartal, M., Kaya, S., & Kurucu, S. (2002). *GC-MS Analysis of Propolis Samples from Two Different Regions of Turkey*, 57(9-10), 905-909.

Kim, J. I., Pant, H. R., Sim, H. J., Lee, K. M., & Kim, C. S. (2014). Electrospun propolis/polyurethane composite nanofibers for biomedical applications. *Materials Science and Engineering: C*, *44*(Supplement C),52-57 doi:https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.07.062

Kosalec, I., Bakmaz, M., & Pepeljnjak, S. (2003). Analysis of propolis from the continental and Adriatic regions of Croatia. *Acta Pharm*, *53*(4), 275-285 .

Kosalec, I., Bakmaz, M., Pepeljnjak, S., & Vladimir-Knezevis, S. (2004). Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Acta Pharmaceutica*, *54*, 65-72 .

Kujumgiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., Christov, R., & Popov, S. (1999). Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *Journal Ethnopharmacol*, *64*(3), 235-240. doi:https://doi.org/10.1016/S0378-8741(98)00131-7

Kumazawa, S., Hamasaka, T., & Nakayama, T. (2004). Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry*, *84*(3), 329-339. doi:https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00216-4

Lima, G., Lopes, T., Rossetto, M. R., & Vianello, F. (2009). *Nutritional composition, phenolic compounds, nitrate content in eatable vegetables obtained by conventional and certified organic grown culture subject to thermal treatment* (Vol. 44).

Mello, B. C. B. S., Petrus, J. C. C., & Hubinger, M. D. (2010). Concentration of flavonoids and phenolic compounds in aqueous and ethanolic propolis extracts through nanofiltration. *Journal of Food Engineering*, *96*(4), 533-539. doi:https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.08.040

Moemen Beitullah, J., Mansourian, A., Ismaili, M., Amanluo, M., Mohammadnia, A., & Bahrami, N. (2008). Study of Antimicrobial activity of Propolis extract on the most common oral pathogen microorganisms (*Candida albicans, Streptococcus mutans, Actinobacillus*) in vitro. *Journal of Dentistry (Islamic Society of Iranian Dentists)*, *21*(1), 33-39 .(in Persian)

Moreira, L., Dias, L. G., Pereira, J. A., & Estevinho, L. (2008). Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, *46*(11), 3482-3485. doi:https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.08.025

Nashveh, M., & Nazeri, S. (2015, May). *Antibacterial activity of ethanolic extract of propolis against human pathogenic bacteria*. Paper presented at the 1st National Congress of Biology and Natural Sciences of Iran, 24-26 May 2015, Tehran, Iran. https://www.civilica.com/Paper-BSCONF01-BSCONF01_594.html (in Persian)

Onogh, A ,.Tokmehchi, A., Adib Hesami, M., & Ebrahimzadeh, S. (2010). Study of the effect of alcoholic extract of propolis from west azarbaijan honeybee hives on growth of dermatophytes and non-dermatophytes fungis and analysis of its compound by method.of GC-MS .*Urmia Medical Journal*, *21*(3), 206-214 .(in Persian)

Pellati, F., Prencipe, F. P., Bertelli, D., & Benvenuti, S. (2013). An efficient chemical analysis of phenolic acids and flavonoids in raw propolis by microwave-assisted extraction combined with high-performance liquid chromatography using the fused-core technology. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *81-82*, 126-132. doi:https://doi.org/10.1016/j.jpba.2013.04.003

Popova, M., Silici, S., Kaftanoglu, O., & Bankova, V. (2005). Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition. *Phytomedicine, 12*(3), 221-228. doi:https://doi.org/10.1016/j.phymed.2003.09.007

Popravko, S. A., Gurevich, A. I., & Kolosov, M. N. (1969). Flavonoid components of propolis. *Chemistry of Natural Compounds, 5*(6), 397-401. doi:https://doi.org/10.1007/BF00568574

Razavizadeh, B. M., & Niazmand, R. (2019). The Effect of Maceration and Ultrasound Extraction Methods on the Content of Phenolic Compounds of Propolis. *Innovative Food Technologies, 6*(2), 293-304. doi:https://doi.org/10.22104/jift.2019.3161.1766 (in Persian)

Ristivojević, P., Dimkić, I., Trifković, J., Berić, T., Vovk, I., Milojković-Opsenica, D., & Stanković, S. (2016). Antimicrobial Activity of Serbian Propolis Evaluated by Means of MIC ,HPTLC, Bioautography and Chemometrics. *PLOS ONE, 11*(6), e0157097. doi:https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157097

Saturnino da Silva AraÚJo, K., Francisco dos Santos JÚNior, J., Sato, M., Abadio Finco, F., Soares, I., dos Santos Barbosa, R., . . . Maria Botelho Mariano, S. (2016). *Physicochemical properties and antioxidant capacity of propolis of stingless bees (Meliponinae) and Apisfrom two regions of Tocantins, Brazil* (Vol. 46).

Serra Bonvehí, J., Ventura-Coll, F., & Escolà Jordà, R. (1994). *The composition, active components and bacteriostatic activity of propolis in dietetics* (Vol. 71).

Shahedi, M. (2012). *Antibacterial effect of propolis on some food borne pathogen bacteria.* (Unpublished doctoral dissertation), Shahrekord University, Faculty of Veterinary Medicine. (in Persian)

Silva, J. C., Rodrigues, S., Feás, X., & Estevinho, L. M. (2012). Antimicrobial activity, phenolic profile and role in the inflammation of propolis. *Food and Chemical Toxicology, 50*(5), 1790-1795. doi:https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.02.097

Socha, R., Juszczak, L., Pietrzyk, S., Gałkowska, D., Fortuna, T., & Witczak, T. (2011). Phenolic profile and antioxidant properties of Polish honeys. *International Journal of Food Science & Technology, 46*(3), 528-534. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02517.x

Teimori, M. (2009). Essential oil analysis and antibacterial activity of Satureja bachtiarica Bunge. in Ardebile province. *Journal on Plant Science Researches, 4*(2), 19-26 .(in Persian)

Tosi, E. A., Ré, E., Ortega, M. E., & Cazzoli, A. F. (2007). Food preservative based on propolis: Bacteriostatic activity of propolis polyphenols and flavonoids upon Escherichia coli. *Food Chemistry, 104*(3), 1025-1029. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.011

Tosic, S., Stojanović, G., Mitic, S ,.Pavlović, A., & Alagić, S. (2017). *Mineral Composition of Selected Serbian Propolis Samples* (Vol. 61).

Uzel, A., Sorkun, K. y., Önçağ, Ö., Çoğulu, D., Gençay, Ö., & Sali ̇h, B. r. (2005). Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. *Microbiological Research, 160*(2), 189-195. doi:https://doi.org/10.1016/j.micres.2005.01.002

Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y., & Li, X. (2008). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry, 106*(2), 804-810. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.062

Woisky, R. G., & Salatino, A. (1998). Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal of Apicultural Research, 37*(2), 99-105. doi:https://doi.org/10.1080/00218839.1998.11100961

Yang, L., Yan, Q.-H., Ma, J.-Y., Wang, Q., Zhang, J.-W., & Xi, G.-X. (2013). High performance liquid chromatographic determination of phenolic compounds in propolis. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 12*(5), 771-776. doi:https://doi.org/10.4314/tjpr.v12i5.17

Ziae, M. A., Mannany, R., Mahmoudi, M., Bayat, M., & Mohaghegh, F. (2008). The effects of alcoholic extract of propolis obtained from iran bee hives on the growth of trichophyton mentagrophytis, trichophyton rubrum and trichophyton verrucosum. *Journal of Isfahan Medical School, 27*(95), 232-241 .(in Persian)

Ziaei, A. (2012). Medicinal Plants of Hezar Masjed region. Retrieved from http://haval.blogfa.com/category (in Persian)

Physicochemical and Antimicrobial Properties and Determination of Phenols and Flavonoids Content of Propolis from Bee Hives in Khorasan Razavi Province

BiBi Marzieh Razavizadeh[1*], Razieh Niazmand[2], Somayeh Hajinezhad[3], Ehsan Akbari[3]

1- Associate Professor, Department of Food Safety and Quality Control, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran
*Corresponding author (m.razavizadeh@rifst.ac.ir)
2- Associate Professor, Department of Food Chemistry, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran
3- PhD. Student, Department of Food Chemistry, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran

Abstract

In this research, the physicochemical and antimicrobial properties of propolis from honeybee beehives around Mashhad and the content of active compounds in propolis were determined by high pressure liquid chromatography (HPLC) both quantitatively and qualitatively. Physicochemical properties of the propolis sample (such as ash, moisture, soluble solids and insoluble solids and existing metal elements) were measured. The total phenolic and flavonoids compounds in the ethanolic extract of propolis were 40.126 mg/g (gallic acid) and 26.46 mg/g (quercetin), respectively. Antimicrobial tests showed that the minimum inhibitory concentration (MIC) of the extract against *Staphylococcus aureus* was 100 mg/mL, while in the applied concentration MIC did not achieve against *Escherichia coli*. Also, the results of the minimum bactericidal concentration (MBC) test indicated that propolis extract on *Staphylococcus aureus* had only inhibitory effects. Evaluation of the content of phenolic and flavonoid compounds in propolis extract by HPLC indicated that the flavonoid compounds included flavones (13.33 mg/g), flavonoids (6.375 mg/g), flavonols (8.235 mg/g) and flavanones (16.825 mg/g). Based on the results, propolis can be used in various food and pharmaceutical industries.

Keywords: Antimicrobial activity, Chromatography, Flavonoids, Phenolic compounds, Propolis

JRIFST
مقالهٔ کامل پژوهشی

www.journals.rifst.ac.ir
نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی
سال ۱۳۹۹، جلد ۹، شماره ۱، صفحات ۴۱-۵۶
DOI: 10.22101/JRIFST.2019.08.06.e1081

بهینه‌یابی فرمولاسیون ماست پروبیوتیک حاوی پورهٔ بادمجان براساس روش تحلیل سلسله مراتبی

حسین جوینده[1*]، محمد نوشاد[2]، کوثر کاکایی[3]، میترا قدسی شیخ‌جان[4]

۱- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
* نویسندهٔ مسئول (hosjooy@asnrukh.ac.ir)
۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
۳- دانش‌آموختهٔ کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
۴- دکتری دامپزشکی (حرفه‌ای)، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۵/۱۵

واژه‌های کلیدی
پورهٔ بادمجان
روش تحلیل سلسله مراتبی
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس
لاکتوباسیلوس رامنوسوس
ماست پروبیوتیک

چکیده

هدف از انجام پژوهش، بررسی تأثیر افزودن پورهٔ بادمجان (۴۵-۰ درصد) بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی (pH، اسیدیته، رنگ و میزان آب‌اندازی)، خواص حسی (عطروطعم، رنگ و بافت) و قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در ماست بادمجان پروبیوتیک پس از ۱، ۴، ۷، ۱۰ و ۱۴ روز نگهداری در یخچال بود. همچنین از روش تحلیل سلسله مراتبی (APH) باتوجه‌به ویژگی‌های موردبررسی به‌منظور انتخاب بهترین فرمولاسیون استفاده شد. نتایج نشان داد با افزایش غلظت پورهٔ بادمجان میزان اسیدیته، آب‌اندازی و شاخص روشنایی (L^*) نمونه‌ها کاهش یافت، درحالی‌که میزان pH افزایش یافت. همچنین افزودن پورهٔ بادمجان سبب کاهش قابل‌توجه باکتری‌های پروبیوتیک در ابتدای زمان انبارمانی در نمونه‌ها شد. درهرحال، با افزایش مدت زمان انبارمانی، این روند معکوس گردید به‌طوری‌که نمونه‌های حاوی درصد بالاتر پورهٔ بادمجان با اختلاف معنی‌داری از میانگین شمارش باکتری پروبیوتیک بالاتری برخوردار بودند که دلیل آن احتمالاً اثر پری‌بیوتیکی پورهٔ بادمجان و pH پایین‌تر نمونه‌های ماست بود. ارزیابی داده‌ها توسط روش APH نشان داد محصول حاوی ۳۰ درصد بادمجان با وزن ۰/۱۷۱ بالاتر از سایر محصولات قرار گرفت. همچنین، میزان نرخ ناسازگاری ۰/۰۸ بود و باتوجه‌به اینکه این مقدار کمتر از ۰/۱ می‌باشد، نتایج از اعتبار بالا و قابلیت اتکای مناسبی برخوردار بود. براساس نتایج این تحقیق، ماست پروبیوتیک حاوی پورهٔ بادمجان به‌دلیل دارابودن خواص حسی و وپروبیوتیکی مطلوب می‌تواند به‌عنوان یک محصول فراسودمند معرفی گردد. به‌علاوه، به‌دلیل قابلیت کاربرد بادمجان به‌عنوان مادهٔ پری‌بیوتیکی، می‌توان از آن در تولید سایر محصولات پروبیوتیک استفاده نمود.

مقدمه

ماست به‌علت ویژگی خاص فیزیکی و داشتن خواص بی‌شمار تغذیه‌ای، پروبیوتیکی و حسی که دارد، از محبوب‌ترین محصولات لبنی می‌باشد (Hunter, 2008). این محصول طی فرایند تخمیر شیر توسط باکترهای آغازگر و ازطریق تبدیل لاکتوز شیر به اسید لاکتیک و کاهش pH و ایجاد ژل پروتئینی ضعیف تشکیل می‌شود. ماست به‌دلیل ارزش غذایی بالا و اثرات سلامت‌بخشی که بر انسان دارد از محصولات محبوب می‌باشد (Hayaloglu, Karabulut, Alpaslan, & Kelbaliyev, 2007). این محصول غنی از

کلسیم، فسفر، ریبوفلاوین، ویتامین B_{12} و B_5، روی و منیزیم می‌باشد (Tamime & Robinson, 2007). امروزه محصولات ازقبیل ماست‌های یخزده و ماست‌های نوشیدنی بخشی از انواع ماست‌های تجاری را تشکیل می‌دهند و به‌طور فزاینده‌ای محبوب شده‌اند (Lourens-Hattingh & Viljoen, 2001). اساساً، ماست را می‌توان به دو گروه تقسیم کرد: ماست با محیط کشت استاندارد و ماست پروبیوتیک (Pandey, Du, Sanromán, Soccol, & Dussap, 2016). ماست به‌عنوان یکی از محصولات موردتوجه برای منتقل‌کردن پروبیوتیک‌ها به افراد می‌باشد. مصرف مداوم ماست پروبیوتیک در کاهش التهاب روده‌ها، عفونت، اسهال، میزان تحریک‌پذیری روده و کلسترول مؤثر می‌باشد (Jaster *et al.*, 2018). درحقیقت، پروبیوتیک‌ها مخلوطی از یک یا چند میکروارگانسیم زنده می‌باشند که با فعالیت زیستی خود که عمدتاً ازطریق حفظ و بهبود توازن فلور میکروبی میان میکروارگانیسم‌های سودمند و زیان‌بخش می‌باشد، دارای اثرات سلامتی‌بخش بر میزبان خود هستند (Hosono, Kitazawa, & Yamaguchi, 1997; Turgut & Cakmakci, 2009). درهرحال، مطابق انجمن نوشابه‌های اسید لاکتیک و شیرهای تخمیری در ژاپن[1] برای تأثیر ویژگی‌های سلامت‌بخشی محصولات پروبیوتیک، باید تعداد این باکتری‌ها در هنگام مصرف بیش از 10^7 واحد تشکیل کلنی[2] در هر گرم/میلی‌لیتر از محصول باشد (Jay, Loessner, & Golden, 2008).

بادمجان[3] یکی از محبوب‌ترین محصولات گیاهی در نقاط مختلف جهان و متعلق به خانوادهٔ *Solanaceae* است. بادمجان همچنین با نام‌های برینگال[4]، اوبرجین[5]، ملانزین[6] و برنجنا[7] شناخته شده است. تولید اولیه و اصلی این محصول در هند بوده است و گونه‌های دیگر آن در جنوب شرقی آسیا دیده شده است (Ranil *et al.*, 2017). میوهٔ این گیاه کشیده و باریک و یا گرد است که به رنگ‌های بنفش، سیاه، زرد و سفید دیده می‌شود (ناطقی، انصاری و شهاب‌لواسانی، ۱۳۹۶). پژوهش‌های اخیر نشان می‌دهد که بادمجان می‌تواند باعث کاهش کلسترول خون شود. بادمجان حاوی فیبرهای رژیمی، ویتامین‌ها (به‌ویژه B_1 و B_2)، مواد معدنی پتاسیم و منیزیم، و ترکیبات پلی‌فنولی می‌باشد (Okmen *et al.*, 2009). همچنین غنی از سایر مواد معدنی مانند کلسیم، آهن، روی، مس و نیز اسیدهای چرب می‌باشد (Ranil *et al.*, 2017). در سال‌های اخیر بادمجان به‌دلیل دارابودن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی بالا به‌عنوان یک غذای کارآمد موردتوجه زیادی قرار گرفته است. پوست و گوشت آن به‌ترتیب غنی از ترکیبات فلاونوئیدی به‌ویژه آنتوسیانین و اسیدهای فنولیک می‌باشد (Okmen *et al.*, 2009). مشتق‌های دلفینیدین‌ها[8] و ایزومرهای کلاروژنیک اسید[9] از ترکیبات فنولی اصلی تشکیل‌دهندهٔ این سبزی می‌باشند (Niño-Medina, Urías-Orona, Muy-Rangel, & Heredia, 2017). در طب سنتی برای درمان اختلالات مختلفی مثل آسم، برونشیت و دیابت از بادمجان استفاده می‌گردد (انصاری و حجتی، ۱۳۹۷).

باتوجه‌به اینکه عوامل متعددی بر ویژگی‌های کیفی محصولی نظیر ماست بادمجان تأثیر دارد، بنابراین انتخاب فرمول بهینه که براساس تصمیم‌گیری چندمعیاره صورت بگیرد به‌دلیل پیچیدگی به‌راحتی امکان‌پذیر نمی‌باشد؛ به‌ویژه آنکه اغلب معیارهای موردنظر با یکدیگر تعارض داشته، به‌طوری‌که افزایش مطلوبیت یکی می‌تواند باعث کاهش مطلوبیت برای دیگری شود. به‌همین‌دلیل روش‌هایی تحت عنوان تصمیم‌گیری چندمعیاره توسعه داده شده‌اند که به حل این مسائل کمک می‌کنند. در این روش‌ها چندین گزینه براساس چندین معیار مختلف با هم مقایسه شده، بهترین گزینه یا ترتیب گزینه‌های مناسب انتخاب می‌شوند. در میان روش‌های تصمیم‌گیری چندشاخصه، روش تحلیل سلسله مراتبی (AHP[10]) به‌عنوان روشی کارآمد، به‌دلیل درنظرگرفتن شرایط و متغیرهای کمّی و کیفی مسئله به‌طور هم‌زمان بیشتر موردتوجه قرار گرفته است (Noshad, Savari, & Roueita, 2018). روش AHP یکی از جامع‌ترین روش‌های طراحی‌شده برای تصمیم‌گیری با معیارهای چندگانه است زیرا در آن امکان درنظرگرفتن معیارهای مختلف کمّی و کیفی وجود دارد. به‌طور خلاصه، اساس این روش بر مبنای مقایسهٔ زوجی بنا شده است و نمونه‌ها از نظر ویژگی‌های

[1] Fermented Milks and Lactic Acids Beverages Association
[2] Colony Forming Unit
[3] *Solanum melongena* L.
[4] Bringal
[5] Aubergine
[6] Melanzane
[7] Berenjena
[8] Delphinidins
[9] Chlorogenic acid (CGA)
[10] Analytic Hierarchy Process

کیفی و کمّی مشخص‌شده در طرح دوبه‌دو با هم مقایسه می‌شوند. سپس با استفاده از روش برداری، نتایج ارزیابی‌ها آنالیز و وزن نسبی برای مقایسه‌های زوجی انجام می‌شود. با ضرب بردار در ماتریس مقایسهٔ زوجی، سازگاری ماتریس مقایسه‌های زوجی بررسی‌شده و پس از محاسبهٔ وزن‌های نسبی، با تعیین رتبه هریک از معیارها و با درنظرگرفتن وزن رتبه، وزن نهایی محاسبه و نتیجهٔ ارزیابی اعلام می‌شود.

باتوجه‌به اثرات سلامت‌بخشی ماست پروبیوتیک و ویژگی‌های عمل‌گرایی منحصربه‌فرد بادمجان، هدف از این تحقیق تولید و بررسی ویژگی‌های ماست پروبیوتیک حاوی بادمجان به‌عنوان محصولی عمل‌گرا و انتخاب بهترین فرمولاسیون براساس روش AHP بود.

مواد و روش‌ها

مواد

شیرخام از ایستگاه دامپروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان تهیه گردید. بادمجان، موسیر و سبزی‌های خشک‌شدهٔ معطر و نمک طعام از بازار محلی خریداری شد. آغازگر ماست یومیکس[1] ۵۳۲ محتوی سویه‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*[2] و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیرگونهٔ *بولگاریکوس*[3] (شرکت لبنی دانیسکوی، ساخت آلمان) خریداری شد. سویه‌های میکروبی پروبیوتیک (*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*[4] PTCC ۱۶۴۳ و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*[5] PTCC۱۶۳۷) به‌صورت آمپول لیوفیلیزه از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های ایران، PTCC[6]) خریداری گردید.

آماده‌سازی مایهٔ کشت پروبیوتیک

به‌منظور فعال‌سازی سویه‌های پروبیوتیک مطابق دستورالعمل شرکت تولیدکننده، محتویات آمپول‌های لیوفیلیزهٔ حاوی سویه‌های *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (PTCC ۱۶۳۷) درون لوله‌های آزمایش حاوی محیط‌کشت براث MRS و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (PTCC ۱۶۴۳) درون محیط‌کشت دمن روگوسا شارپ (MRS[7]) براث حاوی ۰/۰۵ درصد ال-سیستئین هیدروکلرید[8] منتقل گردید و محیط‌کشت‌های یادشده به‌ترتیب در شرایط هوازی و بی‌هوازی (استفاده از جار بی‌هوازی) به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت، با کمک سوآپ سویه‌های میکروبی روی محیط‌کشت MRS آگار منتقل و به‌صورت سطحی کشت داده شدند و به مدت ۴۸ ساعت درون انکوباتور ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد مجدداً در شرایط هوازی و بی‌هوازی گرم‌خانه‌گذاری شدند. بعد از سپری‌شدن مدت زمان لازم، کلنی‌های تشکیل‌شده توسط لوپ (آنس) استریل جمع‌آوری و به درون میکروتیوب‌های حاوی محیط‌کشت MRS براث به‌همراه ۲۰ درصد (حجمی/حجمی) گلیسرول به‌عنوان محافظ سرما انتقال یافتند و در دمای ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند. در هنگام تولید ماست، سویه‌های جمع‌آوری‌شده به نسبت ۵ درصد و در دو مرحله در لوله‌های فالکون حاوی ۵۰ سی‌سی محیط‌کشت MRS براث تلقیح و در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت کشت داده شدند (Hernandez-Mendoza, Garcia, & Steele, 2009). پس از گذشت زمان لازم، به‌منظور جداسازی باکتری‌ها (پلت باکتریایی[9]) از محیط‌کشت، لوله‌های فالکون به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰ درجهٔ سانتی‌گراد توسط دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار (Eppendorf AG 22331، ساخت آلمان) در شتاب ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و سوپرناتانت آن دور ریخته شد. در ادامه، سوسپانسیون میکروبی از رسوب تهیه شد و ازطریق اندازه‌گیری میزان جذب آن و مقایسه با محلول مک‌فارلند، شمارش بار باکتریایی رسوب تعیین شد. جهت تولید نمونه‌های ماست پروبیوتیک، مقدار رسوب باکتریایی افزوده‌شده به‌گونه‌ای انتخاب گردید که تعداد باکتری‌های پروبیوتیک (به شکل مجزا یا مخلوط دو سویه) در هر نمونه به حدود 5×10^{8} واحد تشکیل کلنی در هر گرم ماست برسد (Elsanhoty, Salam, Ramadan, & Badr, 2014).

تولید ماست

تولید ماست طبق روش یدملت، جوینده و حجتی (۱۳۹۶) با اندکی تغییرات انجام شد. به‌این‌صورت که ابتدا شیر خام به دمای ۹۰ درجهٔ سانتی‌گراد رسانیده شد و ۱۰ دقیقه در

[1] YO-MIX
[2] *Streptococcus thermophilus*
[3] *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*
[4] *Lactobacillus acidophilus*
[5] *Lactobacillus rhamnosus*
[6] Persian Type Culture Collection
[7] De Man, Rogosa, Sharpe
[8] L-Cysteine hydrochloride
[9] Bacterial pellet

این دما نگهداشته شد. سپس شیر تا دمای ۴۵ درجهٔ سانتی‌گراد خنک گردید و سویه‌های میکروبی پروبیوتیک (*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* یا مخلوط مساوی از هر دو سویه) و آغازگر ماست (۰/۰۵ درصد پودر استارتر) در این دما به شیر اضافه شدند و به مدت حدود ۳ ساعت تا رسیدن pH به ۴/۶ در انکوباتور نگهداری شد. پس از نگهداری ماست‌های آماده‌شده به مدت یک شب در یخچال (دمای ۵ درجهٔ سانتی‌گراد)، بادمجان کبابی‌شده به‌صورت پوره‌شده در درصدهای ۱۵، ۳۰ و ۴۵ درصد به‌همراه موسیر چرخ‌شده (۱ درصد)، نمک (۰/۵ درصد) و مخلوط پودر سبزیجات معطر (شوید، پونه، آویشن و نعنا به مقدار ۲ درصد) به ماست اضافه شد. سطوح متغیر یادشده براساس آزمون‌های مقدماتی و باتوجه‌به نتایج ارزیابی حسی و ویژگی‌های کیفی ماست بادمجان تعیین گردید. نمونهٔ ماست ساده فاقد سبزیجات و پورهٔ بادمجان نیز به‌عنوان نمونهٔ شاهد درنظرگرفته شد. نمونه‌ها در ظروف پلی‌پروپیلن ۸۰ گرمی در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند و در پایان، آزمایش‌های ماست در زمان‌های نگهداری ۱، ۴، ۷، ۱۰ و ۱۴ روز انجام شد.

اندازه‌گیری pH

pH نمونه‌ها با استفاده از روش AOAC (۲۰۰۰)، با استفاده از دستگاه pHمتر (مدل Metrohm 691، ساخت سوئیس) با قراردادن پروب pHمتر درون نمونه‌های ماست انجام شد.

اندازه‌گیری اسیدیته

اسیدیتهٔ ماست توسط روش AOAC (۲۰۰۰) اندازه‌گیری و به‌صورت درصد اسید لاکتیک بیان شد. ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر ماست با ۲۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر به‌خوبی با یکدیگر مخلوط و از معرف فنول فتالئین[1] به‌عنوان شناساگر استفاده شد. سپس مخلوط با استفاده از سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به رنگ صورتی ضعیف تیتر شد (AOAC, 2000).

سینرزیس[2]

آب‌اندازی نمونه‌ها با استفاده از روش Farnsworth، Li، Hendricks و Guo (۲۰۰۶) با اندکی تغییرات انجام شد. برای اندازه‌گیری درصد آب‌اندازی نمونه‌ها، از دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار (مدل 5804R، ساخت آلمان) استفاده شد. برای اندازه‌گیری درصد سینرزیس از دور ۲۵۰۰ و زمان ۱۵ دقیقه استفاده شد؛ به‌این‌صورت‌که ابتدا ۵ گرم از نمونه در لولهٔ فالکون توزین شد و سپس با استفاده از دستگاه یادشده سوپرناتانت نمونه‌ها جدا شد. پس از جداسازی و توزین، درصد آب‌اندازی با استفاده از رابطهٔ (۱) محاسبه گردید (Farnsworth *et al.*, 2006):

رابطهٔ (۱)

$$\text{درصد سینرزیس} = \frac{\text{وزن سوپرناتانت}}{\text{وزن اولیهٔ نمونه}} \times ۱۰۰$$

آزمون رنگ‌سنجی

برای اندازه‌گیری میزان روشنایی نمونه‌های ماست از دستگاه رنگ‌سنج (Konica Minolta، مدل CR-۴۰۰، ساخت ژاپن) استفاده شد. قبل از اندازه‌گیری، نمونه‌ها به‌خوبی هم‌زده شد و ارتفاع نمونه‌ها در ظروف نسبت به دستگاه در یک حد ثابت تنظیم گردید (Jooyandeh, Nooshkam, & Davari, 2016).

شمارش باکتری پروبیوتیک در ماست

جهت شمارش باکتری‌های آغازگر ماست از محیط‌کشت MRS آگار و برای شمارش پروبیوتیک‌ها از محیط‌کشت MRS آگار حاوی ۰/۱۵ درصد نمک صفراوی به روش کشت آمیخته یا پورپلیت استفاده گردید (ترابی، جوینده، نوشاد و برزگر، ۱۳۹۸). پس از رقت‌سازی توسط پپتون واتر، پلیت‌ها به انکوباتور با دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد منتقل شد و باتوجه‌به دستورالعمل شرکت تولیدکننده به مدت ۴۸ ساعت در شرایط هوازی (جهت شمارش *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*) و بی‌هوازی (جهت شمارش *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*) گرم‌خانه‌گذاری گردید. میانگین شمارش باکتریایی برحسب واحد تشکیل کُلنی در هر گرم گزارش شد.

آنالیز آماری

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت پذیرفت. از آزمون دانکن جهت مقایسهٔ میانگین داده‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخهٔ ۲۰) استفاده شد. همچنین تمام آزمایش‌ها در سه بار تکرار انجام شد.

---
[1] Phenolphthalein
[2] Syneresis

بهینه‌یابی

در این پژوهش از روش تحلیل سلسله مراتبی برای اولویت‌بندی و انتخاب بهترین نمونهٔ تولیدشده استفاده شد. برای‌این‌منظور، ابتدا گزینه‌ها و معیارهای موردتحلیل که ازطریق بررسی‌های اولیه به‌دست‌آمده بودند در تحلیل سلسله مراتبی و براساس درخت سلسله مراتبی (شامل ۴ گزینه و ۷ معیار) تدوین شد. برای تحلیل داده‌های حاصل، از نرم‌افزار Expert Choice استفاده شد. روش تحلیل سلسله مراتبی که در این پژوهش استفاده شده است، می‌تواند با به‌کارگیری هم‌زمان معیارهای کیفی و کمّی و در شرایطی که معیارهای تصمیم‌گیری متعدد شرایط انتخاب را با مشکل مواجه می‌سازد، مؤثر واقع‌شده و سلسله مراتب اهمیت و نحوهٔ اولویت‌بندی بین معیارهای مختلف را تعیین کند. مراحل تحلیل سلسله مراتبی به شرح ذیل بود:

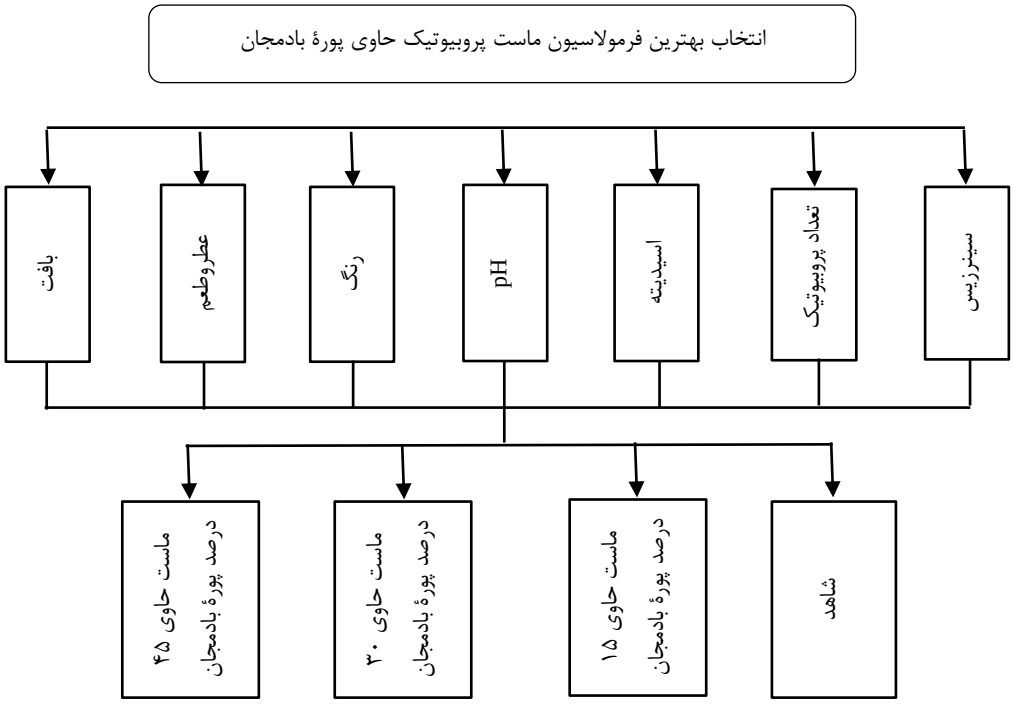
۱- ترسیم و تشریح درخت سلسله مراتبی: فرایند تحلیل سلسله مراتبی با شناسایی و اولویت‌بندی عناصر تصمیم‌گیری شروع می‌شود. این عناصر می‌توانند شامل سطوح اهداف، معیارها، زیرمعیارها و گزینه‌های احتمالی می‌باشند که در اولویت‌بندی به‌کار می‌روند (شکل ۱).

سطح اول؛ تدوین هدف: در این پژوهش، هدف دستیابی به بهترین فرمول ماست بادمجان تولیده‌شده بود.

سطح دوم؛ تعیین معیارها: ۷ معیاری که در این پژوهش استفاده شدند عبارت بودند از سینرزیس، pH، اسیدیته، تعداد باکتری پروبیوتیک و ویژگی‌های حسی عطروطعم، رنگ و بافت.

سطح سوم؛ گزینه‌ها: ۴ گزینه‌ای که موردتحلیل قرار گرفتند محصولات تولیدشدهٔ حاوی سطوح مختلف پورهٔ بادمجان بودند.

۲- مقایسهٔ زوجی گزینه‌ها و معیارها: جدول مقایسهٔ زوجی گزینه‌ها و معیارها به‌صورت پیوستاری ۹ درجه‌ای طراحی شد (جدول ۱). براین‌اساس، مقایسه‌های زوجی گزینه‌ها براساس تک‌تک معیارها تحلیل شد.



شکل ۱- درخت سلسله مرتبی

جدول ۱- مقیاس امتیازدهی ۹ درجه‌ای

ارزش	وضعیت مقایسه i نسبت به j	توضیح
۱	ترجیح یکسان	شاخص i نسبت به j اهمیت برابر دارد و یا ارجحیتی نسبت به هم ندارند.
۳	کمی مرجح	گزینه یا شاخص i نسبت به j کمی مهم‌تر است.
۵	خیلی مرجح	گزینه یا شاخص i نسبت به j مهم‌تر است.
۷	خیلی زیاد مرجح	گزینه i دارای ارجحیت خیلی بیشتری از j است.
۹	کاملاً مرجح	گزینه i از j مطلقاً مهم‌تر و قابل‌مقایسه با j نیست.
۶-۴-۲	بینابین	ارزش‌های بینابین را نشان می‌دهد مثلاً ۸، بیانگر اهمیتی زیادتر از ۷ و پایین‌تر از ۹ برای i است.

نتایج و بحث

pH

بررسی نتایج آزمون pH نمونه‌های ماست بیانگر اختلاف معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) بین تیمارهای ماست بادمجان پروبیوتیک و نمونهٔ شاهد پروبیوتیک بود به‌طوری‌که ماست حاوی ۴۵ درصد بادمجان دارای بیشترین مقدار pH و نمونهٔ شاهد دارای کمترین مقدار pH طی مدت نگهداری بود (جدول ۲). بالاتربودن pH نمونه‌های ماست پروبیوتیک بادمجان به‌ویژه در سطوح بالاتر جایگزینی ماست با بادمجان، احتمالاً به‌دلیل کاهش مقدار اسید لاکتیک/لاکتوز محصول و نیز به‌علت pH بالاتر پورهٔ بادمجان (۶/۱±۰/۱) در مقایسه با ماست می‌باشد. در نتایجی مشابه، پژوهش‌های Meenakshi، Ganya و Umamaheswari (۲۰۱۸) نشان داد که اضافه‌کردن پالپ موز به ماست پروبیوتیک میوه‌ای باعث افزایش مقدار pH آن می‌شود. درهرحال برخلاف این نتایج، Roy و همکاران (۲۰۱۵) گزارش نمودند که با افزودن پالپ موز، پاپایا و هندوانه به فرمولاسیون ماست میوه‌ای، مقدار pH کاهش معنی‌داری یافت. همچنین، نتایج نشان داد که pH همهٔ تیمارها در طول زمان به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) کاهش یافت که دلیل آن مربوط به تولید اسیدلاکتیک درنتیجهٔ تخمیر لاکتوز طی نگهداری نمونه‌های ماست است که با نتایج سایر پژوهشگران مطابقت داشت (علیرضالو، حصاری، صادقی و بک‌محمدپور، ۱۳۹۴؛ Farahat & El-Batawy, 2013; Selvamuthukumaran & Farhath, 2014).

جدول ۲- تأثیر مقدار پورهٔ بادمجان و نوع باکتری پروبیوتیک بر مقدار pH نمونه‌های ماست طی مدت ۱۴ روز نگهداری

نوع باکتری پروبیوتیک	زمان نگهداری (روز)	pH			
		شاهد (۰ درصد)	۱۵ درصد	۳۰ درصد	۴۵ درصد
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	۱	۴/۰۷ Ba	۴/۱۵ Cb	۴/۱۶ Bb	۴/۳۱ Cc
	۴	۴/۰۷ Ba	۴/۱۱ Cab	۴/۱۴ Bb	۴/۲۴ Bc
	۷	۴/۰۱ ABa	۴/۰۴ Bab	۴/۰۷ Ab	۴/۲۴ Bc
	۱۰	۴/۰۱ ABa	۴/۰۲ ABa	۴/۰۶ Ab	۴/۱۸ Ab
	۱۴	۳/۹۷ Aa	۳/۹۹ Aa	۴/۰۷ Ab	۴/۱۷ Ac
لاکتوباسیلوس رامنوسوس	۱	۴/۰۴ Ca	۴/۱۳ Cb	۴/۱۷ Bb	۴/۳۰ Ec
	۴	۴/۰۴ Ca	۴/۱۱ Cb	۴/۱۳ Bb	۴/۲۶ Dc
	۷	۴/۰۰ BCa	۴/۰۵ Bb	۴/۰۶ Ab	۴/۲۳ Cc
	۱۰	۳/۹۷ ABa	۴/۰۰ ABab	۴/۰۵ Ab	۴/۱۹ Bc
	۱۴	۳/۹۵ Aa	۳/۹۷ Aab	۴/۰۲ Ab	۴/۱۴ Ac
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس رامنوسوس (۱:۱)	۱	۴/۰۵ Da	۴/۱۰ Db	۴/۱۳ Db	۴/۲۶ Ec
	۴	۴/۰۳ CDa	۴/۰۹ Db	۴/۱۲ Db	۴/۲۲ Dc
	۷	۴/۰۰ Ca	۴/۰۵ Cb	۴/۰۶ Cb	۴/۱۸ Cc
	۱۰	۳/۹۵ Ba	۳/۹۸ Bab	۴/۰۱ Bb	۴/۱۴ Bc
	۱۴	۳/۸۹ Aa	۳/۹۳ Aab	۳/۹۷ Ab	۴/۰۴ Ac

حروف متفاوت کوچک در هر ردیف (نمونه‌های ماست حاوی مقادیر مختلف پورهٔ بادمجان) و حروف متفاوت بزرگ در هر ستون (در نمونه‌های ماست حاوی هریک از انواع باکتری پروبیوتیک) به‌ترتیب نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) می‌باشد.

اسیدیته

نتایج آزمون اسیدیته نشان داد که درصد بادمجان تأثیر معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) روی محصول داشت به‌طوری‌که با افزایش میزان پورهٔ بادمجان، میزان اسیدیتهٔ نمونه‌ها کاهش یافت، همان‌گونه‌که در بالا اشاره شد احتمالاً علت این موضوع وجود بادمجان و تأثیر آن بر اسیدیتهٔ محصول و نیز تأثیر منفی موسیر و سایر سبزیجات استفاده‌شده بر فعالیت باکتری‌های آغازگر ماست و پروبیوتیک‌ها می‌باشد (جدول ۳). Kumar و Kumar (۲۰۱۶) مقدار اسیدیتهٔ قابل تیتراسیون ماست‌های پروبیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و پالپ میوه‌های مختلف (زردآلو، تمشک، آلو و جامون) را بین ۰/۴۶ تا ۰/۷۴ درصد گزارش کردند که از مقادیر به‌دست‌آمده در این پژوهش کمتر بود. همچنین نتایج نشان داد مدت زمان ماندگاری تأثیر معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) بر میزان اسیدیتهٔ قابل تیتراسیون نمونه‌ها داشت به‌طوری‌که با افزایش مدت زمان ماندگاری، مقدار اسیدیتهٔ قابل تیتراسیون در تمامی نمونه‌ها افزایش یافت که دلیل آن تخمیر لاکتوز توسط باکتری‌های اسید لاکتیک ماست است (Tamime & Robinson, 2007). افزایش قابل‌توجه اسیدیته در ماست طی مدت زمان نگهداری توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (Jooyandeh *et al*., 2016; Kumar & Kumar, 2016). همچنین نتایج نشان داد استفاده از مخلوط باکتری‌های پروبیوتیک در مقایسه با استفادهٔ جداگانه از هریک از آنها سبب کاهش بیشتر pH در تمامی دوره‌های نگهداری گردید. کاهش بیشتر pH در هنگام استفادهٔ توأم باکتری‌های پروبیوتیک توسط سایر محققین نیز گزارش شده است که دلیل آن را به فعالیت سینرژیستی باکتری‌ها نسبت داده‌اند (Farnsworth *et al*., 2006).

جدول ۳- تأثیر مقدار پوره بادمجان و نوع باکتری پروبیوتیک بر اسیدیته نمونه‌های ماست طی مدت ۱۴ روز نگهداری

نوع باکتری پروبیوتیک	زمان نگهداری (روز)	اسیدیته (درصد اسید لاکتیک)			
		شاهد (۰ درصد)	۱۵ درصد	۳۰ درصد	۴۵ درصد
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	۱	۰/۹۳ Ca	۰/۹۱ Da	۰/۸۷ Db	۰/۷۲ Cc
	۴	۰/۹۴ Ca	۰/۹۳ CDab	۰/۹۰ CDb	۰/۷۵ BCc
	۷	۰/۹۶ Ca	۰/۹۵ BCa	۰/۹۳ BCa	۰/۷۶ Bb
	۱۰	۱/۰۰ Ba	۰/۹۸ ABab	۰/۹۵ Bb	۰/۷۸ Bc
	۱۴	۱/۰۴ Aa	۱/۰۱ Aab	۰/۹۸ Ab	۰/۸۲ Ac
لاکتوباسیلوس رامنوسوس	۱	۰/۹۴ Da	۰/۸۹ Db	۰/۸۴ Cc	۰/۷۵ Dd
	۴	۰/۹۶ CDa	۰/۹۴ Ca	۰/۸۷ Cb	۰/۷۸ CDc
	۷	۰/۹۹ BCa	۰/۹۶ BCb	۰/۹۱ Bc	۰/۸۰ BCd
	۱۰	۱/۰۲ ABa	۰/۹۹ Ba	۰/۹۴ Bb	۰/۸۲ ABc
	۱۴	۱/۰۵ Aa	۱/۰۴ Aa	۰/۹۹ Ab	۰/۸۵ Ac
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (۱:۱)	۱	۰/۹۷ Da	۰/۹۳ Db	۰/۸۷ Cc	۰/۷۸ Dd
	۴	۰/۹۹ CDa	۰/۹۵ CDb	۰/۹۰ BCc	۰/۸۱ CDd
	۷	۱/۰۱ BCa	۰/۹۷ Cb	۰/۹۲ Bc	۰/۸۳ BCd
	۱۰	۱/۰۴ Ba	۱/۰۱ Bab	۰/۹۸ Ab	۰/۸۶ Bc
	۱۴	۱/۰۸ Aa	۱/۰۵ Aa	۱/۰۰ Ab	۰/۹۰ Ac

حروف متفاوت کوچک در هر ردیف (نمونه‌های ماست حاوی مقادیر مختلف پورهٔ بادمجان) و حروف متفاوت بزرگ در هر ستون (در نمونه‌های ماست حاوی هریک از انواع باکتری پروبیوتیک) به‌ترتیب نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) می‌باشد.

سینرزیس

یکی از عواملی که کیفیت ماست را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد، آب‌اندازی می‌باشد. سینرزیس یک ویژگی نامطلوب در دورهٔ ماندگاری می‌باشد و باعث کاهش پذیرش مصرف‌کننده می‌شود. نتایج این پژوهش نشان داد درصدهای مختلف بادمجان اثر معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) بر آب‌اندازی محصول داشت، به‌طوری‌که با افزایش غلظت بادمجان میزان آب‌اندازی نمونه‌ها کاهش چشمگیری داشت (جدول ۴). اضافه‌کردن ترکیباتی مانند برخی سبزیجات به‌علت جذب آب آزاد ماست توسط آنها و انجام فعالیت‌های اسمزی، باعث کاهش آب میان‌بافتی محصول می‌شود (Tamime & Robinson, 2007). اما شاید بتوان گفت مهم‌ترین دلیل کاهش سینرزیس در نمونه‌های حاوی ماست بادمجان اسیدیتهٔ پایین‌تر در آنهاست چرا که با افزایش اسیدیتهٔ ماست، به‌دلیل کاهش قابلیت نگهداری آب در محصول مقدار سینرزیس آن افزایش می‌یابد. ارتباط میان اسیدیته و سینرزیس توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (Athar, Shah, & Khan, 2000; Jooyandeh, Mortazavi, Farhang, & Samavati, 2015; Meenakshi *et al.*, 2018; Selvamuthukumaran & Farhath, 2014). ازسوی‌دیگر، دورهٔ ماندگاری اثر معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) روی تمام تیمارها داشت به‌این‌صورت‌که در طی دورهٔ نگهداری ۱۴ روزه میزان آب‌اندازی نمونه‌ها افزایش پیدا کرد. تغییر در میزان اسیدیتهٔ ماست منجربه بازآرایی شبکهٔ کازئینی می‌شود که این امر باعث آب‌اندازی ماست می‌شود (Lucey, 2002). نتایج این پژوهش با نتایج حاصل از پژوهش Meenakshi و همکاران (۲۰۱۸) مطابقت داشت. برخلاف این نتایج، Roy و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که مقدار سینرزیس ماست در ۱۰ روز ابتدای نگهداری کاهش و پس از آن تا پایان زمان نگهداری افزایش می‌یابد. همچنین اختلاف معنی‌داری از نظر سینرزیس میان نمونه‌های ماست حاوی باکتری‌های جداگانهٔ پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* با یکدیگر و نیز با نمونه‌های حاوی مخلوط این باکتری‌ها مشخص نگردید ($P>۰/۰۵$)، درهرحال، همان‌گونه‌که در جدول (۴) مشهود است، مقدار سینرزیس در نمونه‌های ماست حاوی مخلوط دو باکتری پروبیوتیک موردنظر بالاتر از نمونه‌های حاوی سویه تک باکتری پروبیوتیک بود که دلیل آن همان‌گونه‌که در بالا اشاره شد، احتمالاً اسیدیتهٔ پایین‌تر نمونه‌های حاوی باکتری پروبیوتیک به شکل مجزاست.

جدول ۴- تأثیر مقدار پورهٔ بادمجان و نوع باکتری پروبیوتیک بر سینرزیس نمونه‌های ماست طی مدت ۱۴ روز نگهداری

نوع باکتری پروبیوتیک	زمان نگهداری (روز)	سینرزیس (درصد)			
		شاهد (۰ درصد)	۱۵ درصد	۳۰ درصد	۴۵ درصد
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	۱	۳۹/۶۲ Ca	۲۵/۳۳ Cb	۱۷/۵۸ Cc	۲/۳۵ Bd
	۴	۴۰/۷۹ BCa	۲۷/۶۵ Cb	۲۰/۰۱ BCc	۳/۶۸ ABd
	۷	۴۳/۸۳ /Ba	۳۲/۸۳ Bb	۲۴/۰۵ ABc	۴/۵۸ ABd
	۱۰	۴۹/۶۴ Aa	۳۶/۱۶ ABb	۲۴/۹۶ Ac	۵/۹۷ ABd
	۱۴	۵۱/۲۱ Aa	۳۹/۱۶ Ab	۲۵/۴۶ Ac	۷/۴۲ Ad
لاکتوباسیلوس رامنوسوس	۱	۴۰/۳۶ Ca	۲۶/۳۵ Cb	۱۸/۱۶ Bc	۲/۸۶ Bd
	۴	۴۰/۹۸ BCa	۲۸/۶۸ BCb	۲۳/۱۶ Ac	۴/۰۳ ABd
	۷	۴۴/۲۵ Ba	۳۲/۰۶ Bb	۲۵/۰۶ Ac	۵/۰۴ ABd
	۱۰	۵۰/۰۴ Aa	۳۶/۸۳ Ab	۲۵/۵۸ Ac	۶/۳۱ ABd
	۱۴	۵۱/۹۳ Aa	۳۹/۹۷ Ab	۲۶/۰۷ Ac	۷/۵۵ Ad
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (۱:۱)	۱	۳۹/۹۰ Ca	۲۶/۸۴ Db	۱۷/۵۳ Cc	۲/۹۷ Bd
	۴	۴۲/۹۴ BCa	۲۸/۷۴ Db	۲۳/۴۰ Bc	۳/۸۹ Bd
	۷	۴۴/۴۳ Ba	۳۳/۲۵ Cb	۲۶/۶۹ ABc	۶/۱۵ ABd
	۱۰	۵۰/۷۸ Aa	۳۷/۱۵ Bb	۲۸/۶۸ Ac	۷/۰۲ Ac
	۱۴	۵۲/۲۶ Aa	۴۱/۰۵ Ab	۲۹/۰۷ Ac	۸/۶۷ Ad

حروف متفاوت کوچک در هر ردیف (نمونه‌های ماست حاوی مقادیر مختلف پورهٔ بادمجان) و حروف متفاوت بزرگ در هر ستون (در نمونه‌های ماست حاوی هریک از انواع باکتری پروبیوتیک) به‌ترتیب نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) می‌باشد.

رنگ‌سنجی

باتوجه‌به تأثیر مهم رنگ محصولات لبنی در پذیرش مصرف‌کننده، مقدار روشنایی (L^*) نمونه‌های ماست اندازه‌گیری شد. براساس نتایج به‌دست‌آمده، افزودن پالپ بادمجان تأثیر معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) بر میزان کاهش شاخص روشنایی نمونه‌ها داشت که می‌توان آن را به‌علت حضور بادمجان در محصول و تیره رنگ‌شدن ماست نسبت به نمونهٔ شاهد و تأثیری که مکمل‌های فیبری بر میزان ترکیبات سرمی موجود در ماست دارند، نسبت داد. در میان تیمارها، ماست حاوی ۴۵ درصد پالپ بادمجان در تمامی دوره‌های نگهداری از کمترین میزان روشنایی برخوردار بود. در مطابقت با این نتایج، Staffolo، Bertola، Martino و Bevilacqua (۲۰۰۴) تیره‌ترشدن رنگ ماست را در اثر افزودن فیبر سیب و Chouchouli و همکاران (۲۰۱۳) کاهش درجهٔ روشنایی ماست غنی‌شده با عصارهٔ دانه‌های مختلف نظیر دانهٔ انگور را نسبت به نمونهٔ شاهد گزارش کردند. ازسوی‌دیگر هرچند مدت زمان ماندگاری در تحقیق حاضر تأثیر معنی‌داری بر شاخص روشنایی نمونهٔ شاهد نداشت، اما در نمونه‌های ماست حاوی بادمجان، با گذشت زمان نگهداری میزان روشنایی نمونه‌ها به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) افزایش یافت (جدول ۵). افزایش شاخص روشنایی نمونه‌های ماست حاوی بادمجان طی مدت نگهداری می‌تواند به‌دلیل تجزیهٔ ترکیبات رنگی به‌ویژه ترکیبات آنتوسیانین و کاروتنوئیدی موجود در بادمجان باشد. همانند نتایج این تحقیق، کاهش معنی‌داری میزان روشنایی در ماست زرشک (Hassani & Sharifi, 2012) و ماست‌های میوه‌ای توت‌فرنگی، آلبالو و زغال‌اخته (Mehdizadeh, Razavi, & Esmaeili Koutamehr, 2019) طی مدت نگهداری گزارش شده است. درهرحال برخلاف نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق، Seçkin و Baladura (۲۰۱۲) در بررسی تأثیر افزودن منابع فیبری مختلف (پسماند سیب، گندم و بامبو) بر شاخص‌های رنگی ماست‌چکیده در طی مدت ۲۱ روز زمان ماندگاری روند مشخص و معنی‌داری در شاخص‌های رنگی نمونه‌ها مشاهده ننمودند. همچنین، همان‌گونه‌که در جدول (۵) قابل‌مشاهده است، اختلاف چندانی از نظر میزان شاخص L^* میان نمونه‌های ماست حاوی انواع مختلف باکتری‌های پروبیوتیک مشاهده نگردید.

جدول ۵- تأثیر مقدار پورهٔ بادمجان و نوع باکتری پروبیوتیک بر شاخص روشنایی نمونه‌های ماست طی مدت نگهداری

نوع باکتری پروبیوتیک	زمان نگهداری (روز)	شاخص روشنایی			
		شاهد (۰ درصد)	۱۵ درصد	۳۰ درصد	۴۵ درصد
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	۱	۷۵/۲۸ Aa	۵۹/۵۶ Ab	۵۰/۴۹ Ab	۴۱/۹۵ Ac
	۴	۷۵/۱۲ Aa	۵۹/۱۳ Ab	۴۸/۴۴ Ac	۴۰/۶۹ Ad
	۷	۷۴/۳۶ Aa	۵۶/۹۰ ABb	۴۶/۹۵ ABc	۳۸/۱۶ ABd
	۱۰	۷۴/۲۶ Aa	۵۴/۱۹ BCb	۴۴/۴۲ BCc	۳۴/۷۷ BCd
	۱۴	۷۳/۹۱ Aa	۵۱/۷۷ Cb	۴۱/۴۹ Cc	۳۲/۵۰ Cd
لاکتوباسیلوس رامنوسوس	۱	۷۷/۶۵ Aa	۵۷/۶۶ Ab	۴۹/۱۸ Ac	۴۲/۱۰ Ad
	۴	۷۷/۴۷ Aa	۵۳/۰۴ ABb	۴۷/۷۴ ABc	۴۱/۵۲ ABd
	۷	۷۷/۳۷ Aa	۵۰/۵۲ Bb	۴۵/۸۵ BCc	۳۸/۴۴ BCd
	۱۰	۷۶/۵۶ Aa	۴۹/۷۰ BCb	۴۲/۹۵ CDc	۳۵/۲۸ Cd
	۱۴	۷۴/۸۲ Aa	۴۷/۹۳ Cb	۴۲/۶۱ Dc	۳۳/۷۱ Cd
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس رامنوسوس (۱:۱)	۱	۷۶/۴۸ Aa	۵۸/۲۸ Ab	۵۱/۵۶ Ac	۴۰/۷۷ Ad
	۴	۷۶/۰۳ Aa	۵۶/۸۵ Ab	۴۹/۱۹ Ac	۳۷/۲۲ ABd
	۷	۷۴/۸۸ Aa	۵۳/۱۱ Ab	۴۷/۷۳ ABc	۳۶/۵۸ ABd
	۱۰	۷۴/۰۹ Aa	۴۸/۱۸ Bb	۴۳/۹۰ BCc	۳۴/۶۶ Bd
	۱۴	۷۳/۳۶ Aa	۴۵/۳۴ Bb	۴۲/۰۲ Cb	۳۲/۹۷ Bc

حروف متفاوت کوچک در هر ردیف (نمونه‌های ماست حاوی مقادیر مختلف پورهٔ بادمجان) و حروف متفاوت بزرگ در هر ستون (در نمونه‌های ماست حاوی هریک از انواع باکتری پروبیوتیک) به‌ترتیب نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) می‌باشد.

شمارش پروبیوتیک‌ها

براساس نتایج این تحقیق، افزودن بادمجان در ابتدای زمان نگهداری سبب کاهش قابل‌توجه ($P<۰/۰۵$) باکتری‌های پروبیوتیک گردید که دلیل آن احتمالاً رقت باکتری‌های یادشده در ماست می‌باشد. درهرحال با افزایش زمان نگهداری، این روند معکوس گردید به‌طوری‌که نمونه‌های حاوی درصد بالاتر بادمجان با اختلاف معنی‌داری از میانگین شمارش باکتری پروبیوتیک بالاتری نسبت به نمونهٔ شاهد برخوردار بودند که نشان‌دهنده اثر مثبت بادمجان افزوده‌شده بر قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک بود (جدول ۶). اثر پری‌بیوتیک سبزیجات و میوه‌جات مختلف بر باکتری‌های پروبیوتیک به‌دلیل وجود ترکیبات الیگوساکاریدی توسط بسیاری از محققین گزارش شده است (Fernandez & Marette, 2017; Galgano, Condelli, Caruso, Colangelo, & Favati, 2014; Luckow & Delahunty, 2004; Mehdizadeh *et al.*, 2019; Sadeghi, Pourahmad, & Mokhtare, 2017). به‌علاوه، علت بالاتربودن تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در نمونه‌های ماست حاوی میوه‌جات و سبزیجات می‌تواند به‌دلیل خاصیت ضداکسایشی این ترکیبات و حذف اکسیژن از محیط به‌ویژه توسط ترکیبات فنلی باشد. در این شرایط، با حذف اکسیژن و ایجاد پتانسیل اکسیداسیون-احیاء[1] پایین، قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک افزایش می‌یابد (Marhamatizadeh, Ehsandoost, & Gholami, 2013).

نتایج همچنین نشان داد که زمان نگهداری تأثیر معنی‌داری بر قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک داشت. همان‌گونه‌که در جدول (۶) می‌توان ملاحظه نمود، به‌طورکلی تعداد باکتری‌های پروبیوتیک تا روز ۷ام نگهداری افزایش و پس از آن کاهش یافت. علت افزایش باکتری‌های پروبیوتیک در اوایل دورهٔ نگهداری می‌تواند به‌دلیل فراهم‌بودن شرایط مختلف به‌ویژه وجود مواد مغذی لازم جهت رشد باکتری‌های پروبیوتیک باشد (Donkor, Nilmini, Stolic, Vasiljevic, & Shah, 2007). کاهش قابل‌توجه باکتری‌های پروبیوتیک در ادامهٔ مدت زمان نگهداری نیز احتمالاً به‌دلیل افزایش اسیدیتهٔ ماست و همچنین تولید پراکسید هیدروژن توسط سویه‌های آغازگر ماست و اثر منفی این ترکیبات بر قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک (Dave & Shah, 1997) می‌باشد. درهرحال، باوجود کاهش قابل‌توجه باکتری‌های پروبیوتیک طی دورهٔ نگهداری، تعداد این باکتری‌ها در نمونهٔ شاهد و تمامی نمونه‌های حاوی پورهٔ بادمجان در پایان مدت زمان نگهداری بالاتر از استاندارد لازم برای محصولات پروبیوتیک و بالاتر از $۱۰^{۷}$ واحد تشکیل کُلنی در هر گرم بود. تعداد قابل‌توجه و قابل‌قبول باکتری پروبیوتیک در پایان دورهٔ نگهداری در سایر فراورده‌های لبنی پروبیوتیک نظیر داهی[2] (نیکبخت‌کشکولی، جوینده، تهموزی‌دیده‌بان و سماواتی، ۱۳۹۶)، نوشیدنی تخمیری بر پایهٔ تراوه (خمیریان، جوینده، حصاری و برزگر، ۱۳۹۶) و پنیر فراپالوده (ترابی و همکاران، ۱۳۹۸) نیز گزارش شده است. در نتایجی مشابه، Ertem و Çakmakçı (۲۰۱۸) بالاترین تعداد باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (۸/۶۵ لگاریتم واحد تشکیل کُلنی در هر گرم) در ماست پروبیوتیک حاوی ۵ درصد گوبدین[3] (غذای محلی ترکیه شامل مخلوط شاه‌توت سفید خشک و خمیر گردو) را در روز ۷ام نگهداری و کمترین شمارش پروبیوتیکی را در پایان زمان ۲۱ روز نگهداری گزارش نمودند. Delavari، Pourahmad و Sokutifar (۲۰۱۴) نیز در نتایجی مشابه با این تحقیق، تعداد بالاتری ($P<۰/۰۵$) از باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* را در زمان ۷ام نگهداری گزارش نمودند که این میزان در ادامهٔ مدت زمان نگهداری در یخچال به‌طور قابل‌توجهی کاهش می‌یافت.

به‌علاوه نتایج نشان داد که نمونه‌های ماست حاوی مخلوط باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در غلظت‌های مختلف بادمجان از شمارش باکتری‌های پروبیوتیکی بالاتری در تمامی مدت زمان نگهداری برخوردار بودند. درهرحال اختلاف معنی‌داری میان نمونه‌های ماست حاوی سویه‌های جداگانه پروبیوتیک مشاهده نگردید که با نتایج Daneshi، Ehsani، Razavi و Labbafi (۲۰۱۳) همخوانی داشت.

[1] Redox potential

[2] Dahi

[3] Gobdin

جدول ۶- تأثیر مقدار پورهٔ بادمجان و نوع باکتری پروبیوتیک بر شمارش پروبیوتیک‌های نمونه‌های ماست طی مدت نگهداری

نوع باکتری پروبیوتیک	زمان نگهداری (روز)	شمارش باکتری‌های پروبیوتیک (برحسب لگاریم واحد تشکیل کُلنی در هر گرم)			
		شاهد (۰ درصد)	۱۵ درصد	۳۰ درصد	۴۵ درصد
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	۱	۸/۷۶ Ba	۸/۶۱ Bab	۸/۵۰ Cbc	۸/۳۴ CBc
	۴	۸/۹۴ Aa	۸/۸۹ Aa	۸/۷۸ Bab	۸/۶۵ Bb
	۷	۹/۰۹ Aa	۹/۰۰ Aab	۸/۹۸ Aab	۸/۹۰ Ab
	۱۰	۸/۶۳ Bb	۸/۶۷ Bb	۸/۸۶ ABa	۸/۹۱ Aa
	۱۴	۷/۷۹ Cb	۷/۸۲ Cab	۷/۸۸ Dab	۷/۹۶ Da
لاکتوباسیلوس رامنوسوس	۱	۸/۸۹ BCa	۸/۷۴ Bb	۸/۶۱ Cb	۸/۵۶ Cb
	۴	۹/۰۸ ABa	۸/۸۶ Bb	۸/۸۷ ABb	۸/۸۳ Bb
	۷	۹/۱۴ Aa	۹/۰۸ Aa	۹/۰۵ Aa	۹/۱۱ Aa
	۱۰	۸/۷۸ Ca	۸/۷۷ Ba	۸/۷۲ BCa	۸/۹۰ Ba
	۱۴	۷/۸۳ Db	۷/۸۹ Cb	۸/۱۳ Dab	۸/۱۸ Da
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس رامنوسوس (۱:۱)	۱	۸/۹۴ Ba	۸/۸۳ Ca	۸/۷۶ Bab	۸/۶۴ Cb
	۴	۹/۲۱ Aa	۹/۰۷ ABab	۹/۰۴ Aab	۸/۹۳ Bb
	۷	۹/۳۴ Aa	۹/۳۰ Aa	۹/۲۱ Aa	۹/۱۷ Aa
	۱۰	۸/۹۶ Ba	۹/۰۱ BCa	۹/۱۱ Aa	۹/۰۸ ABa
	۱۴	۸/۱۱ Cb	۸/۱۷ Dab	۸/۲۴ Cab	۸/۳۶ Da

حروف متفاوت کوچک در هر ردیف (نمونه‌های ماست حاوی مقادیر مختلف پورهٔ بادمجان) و حروف متفاوت بزرگ در هر ستون (در نمونه‌های ماست حاوی هریک از انواع باکتری پروبیوتیک) به‌ترتیب نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) می‌باشد.

بهینه‌یابی

در تحلیل سلسله مراتبی، احتمال ناهماهنگی در قضاوت‌ها وجود دارد. بنابراین، از سنجه‌ای به نام «نرخ ناسازگاری» برای تعیین میزان ناهماهنگی داوری‌ها استفاده می‌شود. این ضرایب مقدار این احتمال را که ماتریس مقایسهٔ زوجی کاملاً به‌صورت تصادفی پرشده است، مشخص می‌کند. در این شرایط، درصد ناسازگاری ۰/۱ به‌عنوان بیشینهٔ قابل‌قبول معرفی شده است. به‌منظور بررسی و اولویت‌بندی ۴ محصول (شاهد و نمونه‌های ماست حاوی ۱۵، ۳۰ و ۴۵ درصد بادمجان) براساس تحلیل سلسله مراتبی باتوجه‌به ویژگی‌های بافت، عطروطعم، رنگ، pH، اسیدیته، تعداد باکتری پروبیوتیک و سینرزیس، نتایج نشان داد محصول حاوی ۳۰ درصد بادمجان با وزن ۰/۱۷۱ بالاتر از سایر محصولات بوده است. همچنین، نتایج نشان داد که میزان نرخ ناسازگاری ۰/۰۸ بود که باتوجه‌به اینکه کمتر از ۰/۱ می‌باشد، نتایج از اعتبار بالایی برخوردار است و قابلیت اتکای مناسبی دارد.

نتیجه‌گیری

این تحقیق به‌منظور بررسی تأثیر افزودن پورهٔ بادمجان بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی ماست پروبیوتیک انجام پذیرفت و مقدار بهینهٔ پورهٔ بادمجان افزوده‌شده به ماست توسط تحلیل سلسله مراتبی مشخص گردید. نتایج نشان داد که با افزودن پورهٔ بادمجان، ویژگی‌های اسیدیته، شاخص روشنایی و سینرزیس نمونه‌های ماست پروبیوتیک کاهش و مقدار pH افزایش یافت. درمورد شمارش باکتری‌های پروبیوتیک، نتایج کمی پیچیده‌تر بود. با افزایش مقدار بادمجان، تعداد باکتری‌های پروبیوتیک نمونه‌ها تا اواسط دورهٔ نگهداری به‌دلیل کاهش سهم ماست در فرمولاسیون ماست بادمجان و به تبع آن کاهش نسبت باکتری‌ها کاهش یافت. اما از روز ۷ام به بعد، میزان باکتری‌های پروبیوتیک در نمونه‌های حاوی پورهٔ بادمجان نسبت به شاهد روندی افزایشی نشان داد، به‌طوری‌که در پایان مدت ۱۴ روز نگهداری، نمونه‌های حاوی مقادیر بالاتر بادمجان از شمارش باکتری‌های پروبیوتیکی بالاتری برخوردار بودند. درهرحال، تمامی نمونه‌های ماست (شاهد و نمونه‌های حاوی درصدهای مختلف بادمجان) از شمارش بالای باکتری پروبیوتیک و بالاتر از حد استاندارد ($۱۰^{۷}$ واحد تشکیل کُلنی در هر گرم) برخوردار بودند. همچنین افزودن بادمجان تا مقدار ۳۰ درصد سبب بهبود ویژگی‌های حسی ماست پروبیوتیک بادمجان گردید؛ هرچند نمونهٔ حاوی ۱۵ و ۴۵ درصد نیز

از کیفیت عطروطعم و بافت مناسبی برخوردار بودند. به‌علاوه، براساس نتایج به‌دست‌آمده مشخص گردید که اگرچه از نظر ویژگی‌های موردبررسی اختلاف معنی‌داری میان نمونه‌های ماست حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* وجود نداشت، اما نمونه‌های حاوی مخلوط دو باکتری پروبیوتیک از مقادیر اسیدیته، سینرزیس و تعداد باکتری پروبیوتیک بالاتری برخوردار بودند. درهرحال، به‌جز شمارش باکتری‌های پروبیوتیک، سایر ویژگی‌ها معنی‌دار نگردید. باتوجه‌به نتایج حاصل از تحلیل سلسله مراتبی مشخص گردید که با استفاده از میزان ۳۰ درصد پورهٔ بادمجان می‌توان محصولی با کیفیت مناسب تولید نمود. با تولید ماست پروبیوتیک بادمجان، می‌توان محصول عمل‌گرایی تولید نمود که به‌دلیل تعداد بالای باکتری پروبیوتیک، وجود ترکیبات زیست‌فعال و مقادیر بالای پتاسیم بادمجان و کلسیم و منیزیم شیر در محصول نهایی بتواند نقش مهمی در برآورده‌نمودن نیازهای تغذیه‌ای روزانهٔ ما ایفا نماید.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از طرح پژوهشی به شمارهٔ ۹۷۱/۱۱ است و نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جهت حمایت‌های مالی و معنوی تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

انصاری، م. و حجتی، م. (۱۳۹۷). بهینه سازی استخراج و میکروانکپسولاسیون آنتوسیانین حاصل از پوست پیاز قرمز وکلم قرمز. *فصلنامه پژوهش های صنایع غذایی*، ۲۸(۱)، ۷۳-۹۱ .

ترابی، ف.، جوینده، ح.، نوشاد، م. و برزگر، ح. (۱۳۹۸). مدل‌سازی و بهینه‌یابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی، حسی و قابلیت زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در پنیر فراپالودهٔ سین‌بیوتیک حاوی آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی، محلول پودر آب‌پنیر و اینولین. *پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی*، ۸(۲)، ۱۳۷-۱۵۰. doi:https://doi.org/10.22101/jrifst.2019.07.22.823 .

خمیریان، ر.، جوینده، ح.، حصاری، ج. و برزگر، ح. (۱۳۹۶). بهینه‌سازی و بررسی خواص فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی نوشیدنی پروبیوتیک پرتقالی تولید شده بر پایه تراوه. *علوم و صنایع غذایی ایران*، ۱۴(۶۵)، ۱۹۷-۱۸۵ .

علیرضالو، ک.، حصاری، ج.، صادقی، م.ح. و بک‌محمدپور، م. (۱۳۹۴). بررسی تولید ماست رنگی فراسودمند غنی شده با عصاره‌های شاه توت و هویج. *فناوری‌های نوین غذایی*، ۳(۲)، ۵۳-۶۴. doi:https://doi.org/10.22104/jift.2016.278 .

ناطقی، ل.، انصاری، س. و شهاب‌لواسانی، ع. (۱۳۹۶). بررسی بازده و خصوصیات فیزیکوشیمیایی پکتین استخراجی از ضایعات پوست بادمجان. *علوم و صنایع غذایی ایران*، ۱۴(۷۳)، ۳۰-۱۳ .

نیکبخت‌کشکولی، ت.، جوینده، ح.، تهموزی‌دیده‌بان، س. و سماواتی، و. (۱۳۹۶). بهینه‌یابی فرآیند تولید داهی سین‌بیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، کتیرا و اینولین به روش سطح پاسخ (RSM). *علوم و صنایع غذایی ایران*، ۱۴(۶۲)، ۱۰۳-۱۸۹ .

یدملت، م.، جوینده، ح. و حجتی، م. (۱۳۹۶). تاثیر صمغ فارسی و صمغ دانه بالنگو شیرازی بر ویژگی های بافتی ماست همزده کم چرب. *فصلنامه پژوهش های صنایع غذایی*، ۲۷(۴)، ۱۷۱-۱۸۱.

Alirezalu, K., Hesari, J., Sadeghi, M. H., & Bak-Mohammadpour, M. (2016). Production of functional colored yoghurts incorporating with blackberry and carrot extracts. *Innovative Food Technologies*, *3*(2), 53-64. doi:https://doi.org/10.22104/jift.2016.278 (in Persian)

Ansari, M., & Hojjati, M. R. (2018). Optimization of extraction and microencapsulation of anthocyanin pigments extracted from red onion peel and red cabbage. *Journal of Food Research (AGRICULTURAL SCIENC)*, *28*(1), 73-91. (in Persian)

AOAC. (2000). Official Methods of Analysis (17th ed.) *Association of Official Analytical Chemist*. Washington DC, USA.

Athar, I. H., Shah, M. A., & Khan, U. (2000). Effect of various stabilizers on whey separation (syneresis) and quality of yoghurt. *Pakistan Journal of Biological Sciences (Pakistan)*. doi:https://doi.org/10.3923/pjbs.2000.1336.1338

Chouchouli, V., Kalogeropoulos, N., Konteles, S. J., Karvela, E., Makris, D. P., & Karathanos, V. T. (2013). Fortification of yoghurts with grape (Vitis vinifera) seed extracts. *LWT-Food Science and Technology, 53*(2), 522-529. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.03.008

Daneshi, M., Ehsani, M. R., Razavi, S. H., & Labbafi, M. (2013). Effect of refrigerated storage on the probiotic survival and sensory properties of milk/carrot juice mix drink. *Electronic Journal of Biotechnology, 16*(5), 5-5. doi:https://doi.org/10.2225/vol16-issue5-fulltext-2

Dave, R. I., & Shah, N. P. (1997). Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *International Dairy Journal, 7*(1), 31-41. doi:https://doi.org/10.1016/S0958-6946(96)00046-5

Delavari, M., Pourahmad, R., & Sokutifar, R. (2014). Production of low fat synbiotic yogurt containing Lactobacillus plantarum and inulin. *Adv Environ Biol, 8*, 17-24.

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

Elsanhoty, R. M., Salam, S. A., Ramadan, M. F., & Badr, F. H. (2014). Detoxification of aflatoxin M1 in yoghurt using probiotics and lactic acid bacteria. *Food Control, 43*, 129-134. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.03.002

Ertem, H., & Çakmakçı, S. (2018). Shelf life and quality of probiotic yogurt produced with Lactobacillus acidophilus and Gobdin. *International Journal of Food Science & Technology, 53*(3), 776-783. doi:https://doi.org/10.1111/ijfs.13653

Farahat, A. M., & El-Batawy, O. (2013). Proteolytic activity and some properties of stirred fruit yoghurt made using some fruits containing proteolytic enzymes. *World Journal of Dairy and Food Sciences, 8*(1), 38-44.

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

Fernandez, M. A., & Marette, A. (2017). Potential health benefits of combining yogurt and fruits based on their probiotic and prebiotic properties. *Advances in Nutrition, 8*(1), 155S-164S. doi:https://doi.org/10.3945/an.115.011114

Galgano, F., Condelli, N., Caruso, M. C., Colangelo, M. A., & Favati, F. (2014). Probiotics and prebiotics in fruits and vegetables: technological and sensory aspects. *Beneficial Microbes in Fermented and Functional Foods; CRC Press-Taylor & Francis Group: Abingdon, UK*, 189-206.

Hassani, B., & Sharifi, A. (2012). Application of anthocyanin extracted from barberry in food processing. *International Journal of AgriScience, 2*(6), 522-528.

Hayaloglu, A., Karabulut, I., Alpaslan, M., & Kelbaliyev, G. (2007). Mathematical modeling of drying characteristics of strained yoghurt in a convective type tray-dryer. *Journal of Food Engineering, 78*(1), 109-117. doi:https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.09.006

Hernandez-Mendoza, A., Garcia, H., & Steele, J. (2009). Screening of *Lactobacillus casei* strains for their ability to bind aflatoxin B_1. *Food and Chemical Toxicology, 47*(6), 1064-1068. doi:https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.01.042

Hosono, A., Kitazawa, H., & Yamaguchi, T. (1997). Antimutagenic and antitumour activities of lactic acid bacteria *Probiotics 2* (pp. 89-132): Springer.

Hunter, B. T. (2008). *Probiotic foods for good health: Yogurt, sauerkraut, and other beneficial fermented foods*: Basic Health Publications, Inc.

Jaster, H., Arend, G. D., Rezzadori, K., Chaves, V. C., Reginatto, F. H., & Petrus, J. C. C. (2018). Enhancement of antioxidant activity and physicochemical properties of yogurt enriched with concentrated strawberry pulp obtained by block freeze concentration. *Food Research International, 104*, 119-125. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.006

Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. (2008). *Modern food microbiology*: Springer Science & Business Media.

Jooyandeh, H., Mortazavi, S. A., Farhang, P., & Samavati, V. (2015). Physicochemical properties of set-style yoghurt as effected by microbial transglutaminase and milk solids contents. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences, 4*(11S), 59-67.

Jooyandeh, H., Nooshkam, M., & Davari, A. B. (2016). Effects of Different Manufacturing Methods on Yield, Physicochemical and Sensory Properties of Mozzarella Cheese. *Iranian Food Science and Tehnology Research Journal, 12*(3), 371-381.

Khamirian, R. A., Jooyandeh, H., Hesari, J., & Barzegar, H. (2017). Optimization and investigation on physicochemical, microbial and sensory quality of permeate-based probiotic orange beverage *Food Science and Technology, 14*(65), 185-197. (in Persian)

Kumar, A., & Kumar, D. (2016). Development of antioxidant rich fruit supplemented probiotic yogurts using free and microencapsulated Lactobacillus rhamnosus culture. *Journal of food science and technology, 53*(1), 667-675. doi:https://doi.org/10.1007/s13197-015-1997-7

Lourens-Hattingh, A., & Viljoen, B. C. (2001). Yogurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal, 11*(1-2), 1-17. doi:https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00036-X

Lucey, J. (2002). Formation and physical properties of milk protein gels. *Journal of dairy science, 85*(2), 281-294. doi:https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74078-2

Luckow, T., & Delahunty, C. (2004). Which juice is 'healthier'? A consumer study of probiotic non-dairy juice drinks. *Food Quality and Preference, 15*(7-8), 751-759. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2003.12.007

Marhamatizadeh, M. H., Ehsandoost, E., & Gholami, P. (2013). The influence of green tea (Camellia sinensis L.) extract on characteristic of probiotic bacteria in milk and yoghurt during fermentation and refrigerated storage. *International Journal of Farming and Allied Sciences, 2*(17), 599-606.

Meenakshi, V., Ganya, S. U., & Umamaheswari, T. S. (2018). Formulation of value enriched probiotic fruit yoghurt. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 7*(3), 1440-1450. doi:https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.703.172

Mehdizadeh, T., Razavi, M., & Esmaeili Koutamehr, M. (2019). The Effect of Wild Leek (Allium Ampeloprasum) on Growth and Survival of Lactobacillus Acidophilus and Sensory Properties in Iranian White Cheese. *Research and Innovation in Food Science and Technology, 7*(4), 431-444. https://doi.org/10.22101/jrifst.2019.02.23.747

Nateghi, L., Ansari, S., & Shahab Lavasani, A. R. (2018). Investigation of yield and physicochemical properties of pectin extracted from eggplant peel *Food Science and Technology, 14*(73), 30-13. (in Persian)

Nikbakht Kashkooli, T., Joyandeh, H., Tahmoozi Dide Ban, S., & Samavati, V. (2017). Optimizing of the production process of synbiotic dahi containing lactobacillus acidophilus, tragacanth and inulin using Surface Response Methodology. *Food Science and Technology, 14*(62), 103-189. (in Persian)

Niño-Medina, G., Urías-Orona, V., Muy-Rangel, M., & Heredia, J. (2017). Structure and content of phenolics in eggplant (Solanum melongena)-A review. *South African Journal of Botany, 111*, 161-169. doi:https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.03.016

Noshad, M., Savari, M., & Roueita, G. (2018). A hybrid AHP-TOPSIS method for prospectively modeling of ultrasound-assisted osmotic dehydration of strawberry. *Journal of food process engineering, 41*(8), e12928. doi:https://doi.org/10.1111/jfpe.12928

Okmen, B., Sigva, H. O., Mutlu, S., Doganlar, S., Yemenicioglu, A., & Frary, A. (2009). Total antioxidant activity and total phenolic contents in different Turkish eggplant (Solanum melongena L.) cultivars. *International Journal of Food Properties, 12*(3), 616-624. doi:https://doi.org/10.1080/10942910801992942

Pandey, A., Du, G., Sanromán, M. Á., Soccol, C. R., & Dussap, C.-G. (2016). *Current developments in biotechnology and bioengineering: Food and beverages industry*: Elsevier.

Ranil, R., Prohens, J., Aubriot, X., Niran, H., Plazas, M., Fonseka, R., . . . Knapp, S. (2017). Solanum insanum L.(subgenus Leptostemonum Bitter, Solanaceae), the neglected wild progenitor of eggplant (S. melongena L.): a review of taxonomy, characteristics and uses aimed at its enhancement for improved eggplant breeding. *Genetic Resources and Crop Evolution, 64*(7), 1707-1722. doi:https://doi.org/10.1007/s10722-016-0467-z

Roy, D. K. D., Saha, T., Akter, M., Hosain, M., Khatun, H., & Roy, M. C. (2015). Quality evaluation of yogurt supplemented with fruit pulp (banana, papaya, and water melon). *International Journal of Nutrition and Food Sciences, 4*(6), 695-699. doi:https://doi.org/10.11648/j.ijnfs.20150406.25

Sadeghi, A. R., Pourahmad, R., & Mokhtare, M. (2017). Enrichment of probiotic yogurt with broccoli sprout extract and its effect on Helicobacter pylori. *Applied Food Biotechnology, 4*(1), 53-57.

Seçkin, A. K., & Baladura, E. (2012). Effect of using some dietary fibers on color, texture and sensory properties of strained yogurt. *GIDA, 37*(2), 63-69.

Selvamuthukumaran, M., & Farhath, K. (2014). Evaluation of shelf stability of antioxidant rich seabuckthorn fruit yoghurt. *International Food Research Journal, 21*(2).

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

Tamime, A. Y., & Robinson, R. K. (2007). *Tamime and Robinson's yoghurt: science and technology*: Elsevier.

Torabi, F., Jooyandeh, H., Noshad, M., & Barzegar, H. (2019). Modeling and Optimization of Physicochemical and Organoleptical Properties and Lactobacillus acidophilus Viability in ltrafiltrated Synbiotic Cheese, Containing Microbial Transglutaminase Enzyme, Whey and Inulin. *Research and Innovation in Food Science and Technology, 8*(2), 137-150. doi:https://doi.org/10.22101/jrifst.2019.07.22.823 (in Persian)

Turgut, T., & Cakmakci, S. (2009). Investigation of the possible use of probiotics in ice cream manufacture. *International Journal of Dairy Technology, 62*(3), 444-451. doi:https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2009.00494.x

Yademellat, M., Jooyandeh, H., & Hojjati, M. (2018). The effect of application of Persian and Balangu-Shirazi gums on textural properties of low-fat stirred yogurt. *Journal of Food Research (AGRICULTURAL SCIENC), 27*(4), 171-181. (in Persian)

Optimizations of Probiotic Yogurt Formulation Containing Eggplant Puree Based on Analytic Hierarchy Process

Hossein Jooyandeh[1*], Mohammad Noshad[2], Kowsar Kakaei[3], Mitra Ghodsi Sheikhjan[4]

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

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

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

3- MSc. Graduated, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

4- DVM, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of incorporation of eggplant puree (0-45%) on physicochemical properties (pH, acidity, color and syneresis), sensorial parameters (odor and taste, color, and texture) and survival of probiotics in yogurt after 1, 4, 7, 10 and 14 days of storage. Furthermore, Analytic Hierarchy Process (AHP) was used to determine the best probiotic eggplant yogurt according to the assessed parameters. The results showed that by increasing the amount of eggplant puree, the extent of acidity, syneresis and lightness (L*) decreased while the pH increased. Incorporating eggplant puree caused significant ($P<0.05$) reduction of probiotic bacteria at the beginning of storage time. However, during the storage period this status contrarily changed, in such a way that yogurt samples containing a higher concentration of eggplant puree at the end of storage had a higher count. This was probably due to prebiotic effect of eggplant puree and the lower pH of yogurt sample. According to data analysis by AHP, yogurt sample contained 30% of eggplant puree with the weight of 0.171 being the best formula compared with the others. The results showed that incompatibility rate was 0.08 and as this value was lower than 0.1, the obtained results had an acceptable reliability and credibility. Based on the results of this research, the manufactured eggplant probiotic yogurt having an acceptable sensory and probiotic properties may be introduced as a functional food product. Furthermore, due to prebiotic capability of the eggplant puree, it could be used in various probiotic products.

Keywords: Analytic hierarchy process, Eggplant puree, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, Probiotic yogurt

www.journals.rifst.ac.ir
نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی
سال ۱۳۹۹، جلد ۹، شماره ۱، صفحات ۵۷-۷۲
DOI: 10.22101/JRIFST.2019.09.22.e1071

JRIFST

مقالهٔ کامل پژوهشی

استفاده از ترکیبات دیوارهٔ صمغ عربی، مالتودکسترین و اینولین جهت ریزپوشانی و رهایش سریع ترکیبات مؤثرهٔ اسانس هل در بزاق

مصطفی شهیدی نوقابی[1*]، محمد ملاویسی[2]

۱- دانشیار، گروه شیمی مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران
* نویسندهٔ مسئول (m.shahidi@rifst.ac.ir)
۲- دانشجوی دکتری، گروه شیمی مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۳۱

واژه‌های کلیدی
اسانس هل
اینولین
رهایش
ریزپوشانی
صمغ عربی

چکیده

در این پژوهش کربوهیدرات‌های صمغ عربی (۰-۱۰۰ درصد)، مالتودکسترین (۰-۵۰ درصد) و اینولین (۰-۵۰ درصد) به‌عنوان ترکیبات دیواره جهت ریزپوشانی اسانس هل مورداستفاده قرار گرفتند. از طرح آماری مخلوط ساده-مرکزی جهت طراحی آزمایش‌ها، بهینه‌یابی و یافتن بهترین ترکیب دیواره برای حداکثر رهایش در دهان استفاده شد. هدف از این تحقیق ریزپوشانی مواد مؤثرهٔ موجود در اسانس هل و مقایسهٔ تأثیر افزودن مالتودکسترین و اینولین به صمغ عربی به‌عنوان مواد پوشش‌دهنده روی پاسخ‌های بازده ریزپوشانی اسانس هل، ترکیبات مؤثرهٔ آن، آزادسازی مواد مؤثره و بازیابی پودر بود. همچنین در این تحقیق ارتباط بین دمای انتقال شیشه‌ای با رهایش مواد مؤثرهٔ اسانس هل، در بزاق بررسی شده است. نتایج نشان داد ترکیب بهینه شامل صمغ عربی، مالتودکسترین و اینولین با نسبت‌های به‌ترتیب ۶۶/۸:۳۳/۲:۰/۰ بود و تحت این شرایط بازده ریزپوشانی روغن، آلفا-ترپنیل‌استات و ۱ و ۸ سینئول به‌ترتیب ۸۳/۵۷، ۹۱/۷۹ و ۹۰/۸۷ درصد، رهایش مادهٔ مؤثره در بزاق ۹۳/۲۷ درصد و بازیابی پودر ۶۷/۷۲ درصد به‌دست آمد. دمای انتقال شیشه‌ای ترکیب بهینه برابر ۴۲/۹ درجهٔ سانتی‌گراد بود که دمای مناسبی برای حفظ مواد مؤثره در دمای محیط و رهایش در محیط شبیه‌سازی‌شدهٔ دهان بود. باتوجه‌به نتایج این تحقیق می‌توان ریزکپسول‌های بهینهٔ اسانس هل تولیدشده را به‌صورت موفقیت‌آمیزی در محصولاتی مانند شکلات، نبات و قندحبه‌ای بدون رهایش اجزاء در دمای نگهداری و با رهایش سریع و بالا در دهان به‌کار برد.

مقدمه

خواص حسی برای پذیرش مواد غذایی توسط مصرف‌کنندگان از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشند. در میان این ویژگی‌ها، عطروطعم از اهمیت بسزایی برخورداربوده و ممکن است تعیین‌کنندهٔ مصرف یا عدم‌مصرف یک مادهٔ غذایی باشد. ترکیبات طعم‌دار اغلب جهت بهبود کیفیت حسی یا پنهان‌کردن طعم‌های نامطلوب به مواد غذایی افزوده می‌گردند.

اسانس‌های مختلف گیاهی ازجمله مواد مولد عطروطعم طبیعی بوده که اهمیت زیادی در فراورده‌های غذایی دارند. هل[1] با نام علمی *الهتاریا کاردامموم*[2] از تیرهٔ زنجبیل و یک گیاه گرمسیری می‌باشد. منشأ هل جنگل‌های کوهستانی هند و سریلانکاست که به‌صورت خودرو در آنجا می‌روید (آفاق‌هایده، ۱۳۸۳). مواد مؤثرهٔ

[1] Cardamom
[2] *Elettaria cardamomum*

هل جزء گروه روغن‌های فرار است که حاوی الکل می‌باشد. ۱و۸ سینئول[1] و آلفا- ترپنیل استات[2] اصلی‌ترین مواد مؤثرهٔ هل بوده که تعیین‌کنندهٔ خواص عطروطعم دانه‌های هل هستند (Krishnan, Bhosale, & Singhal, 2005). دانه‌های هل جزء داروهای معطر بوده و به‌عنوان محرک، بادشکن و تغییردهنده و مطبوع‌کنندهٔ طعم داروها و غذاها به‌کاربرده می‌شود. پودر آن خاکستری مایل به قرمز یا قهوه‌ای با بوی معطر و طعم گس و تند مانند ادویه می‌باشد (شریعت‌هادی، ۱۳۶۸). در صنایع غذایی در محصولاتی مانند نوشابه‌های غیرالکلی، بستنی، شیرینی‌ها، آدامس، چاشنی‌ها، گوشت و کیک و کلوچه استفاده می‌شود (آفاق‌هایده، ۱۳۸۳).

اسانس‌ها ترکیبات فراری بوده و لذا در محیط ناپایدارند. حساسیت اسانس هل به اکسیداسیون زیاد بوده و این باعث تجزیه و ایجاد بوی نامطلوب از این اسانس طبیعی می‌شود (Krishnan *et al.*, 2005) ریزپوشانی یکی از فرایندهای نوین در صنایع غذایی است که می‌تواند ترکیبات فرار را در مقابل اکسیداسیون محافظت‌کرده و در زمان موردنیاز این ترکیبات را به‌صورت کنترل‌شده آزاد نماید (Najafi Najaf, Mortazavi, Koocheki, Khorami, & Rekik, 2009).

جهت کنترل کیفیت حسی مواد غذایی، درک سازوکار نگهداری و آزادسازی ترکیبات فرار توسط ترکیبات دیواره ضروری است. دراین‌زمینه بعضی ترکیبات فرار نسبت به ترکیبات دیگر بهتر نگهداری می‌شوند و بعضی دیواره‌ها نسبت به دیواره‌های دیگر مؤثرترند. مطالعه‌های زیادی نشان می‌دهند که شرایط فرایند، جنس دیواره و نوع مادهٔ طعم‌دار، عوامل تعیین‌کننده در نگهداری مواد فرار هستند (Frascareli, Silva, Tonon, & Hubinger, 2012; Kubo, Himejima, & Muroi, 1991; Shahidi & Han, 1993).

معمولاً طراحی دیواره به‌گونه‌ای صورت می‌گیرد که محتویات داخل ریزکپسول‌ها بتوانند با سرعت کنترل‌شده و تحت‌شرایط موردنظر آزاد شوند (Lee, Hwang, Park, & Park, 2003). دراین‌میان دیواره اهمیت زیادی در حفظ این ترکیبات دارد (Imagi, Muraya, Yamashita, Adachi, & Matsuno, 1992; Minemoto, Adachi, & Matsuno, 1999; Yoshii *et al.*, 1997).

صمغ عربی یکی از مهم‌ترین صمغ‌هایی است که به‌عنوان دیواره در ریزپوشانی ترکیبات مولد طعم و بو مورداستفاده قرار می‌گیرد. حلالیت مناسب، ویسکوزیتهٔ پایین، خصوصیات تشکیل امولسیون و ظرفیت نگهداری بالای ترکیبات فرار و مواد آب‌گریز توسط صمغ عربی باعث شده تا در بسیاری از روش‌های ریزپوشانی موردتوجه باشد. سفید رنگ و محلول در آب است و عمدتاً شامل کربوهیدرات‌هاست (Shiga *et al.*, 2001). مالتودکسترین توانایی ایجاد شبکه در فرایندهای مختلف ریزپوشانی را داشته و همچنین بازده ریزپوشانی به‌دست‌آمده توسط این ترکیب بالا می‌باشد. مالتودکسترین ویسکوزیتهٔ پایینی راحتی در غلظت‌های بالا داشته و قیمت پایینی دارد. دردسترس‌بودن آنها، از عوامل مهم در استفاده از این ترکیبات در فرایندهای مختلف ریزپوشانی بوده و شکل ظاهری این ترکیبات، پودر سفید رنگ است (Apintanapong & Noomhorm, 2003). اینولین از واحدهای فروکتوز با پیوندهای بتا (۱ به ۲) با یک واحد گلوکز در انتهای زنجیره تشکیل شده است (Bakowska-Barczak & Kolodziejczyk, 2011). اینولین‌های تجاری مختلف، خلوص خیلی بالا و مشخصات پودری و ترکیب کربوهیدراتی متفاوت دارند. اینولین یک فیبر رژیمی است که اثرات پری‌بیوتیک نشان می‌دهد و می‌تواند قابلیت دردسترس‌بودن کلسیم را بهبود بخشد (Robert, García, Reyes, Chávez, & Santos, 2012). فرایندهای متفاوتی جهت ریزپوشانی طعم‌ها استفاده می‌گردد. یکی از فرایندهای اصلی برای این مورد، خشک‌کن پاششی[3] است، که برای این فرایند از مالتودکسترین[4]، صمغ عربی[5] و نشاستهٔ اصلاح‌شده[6] به‌عنوان دیواره استفاده می‌شود (Goubet, Le Quere, & Voilley, 1998).

خشک‌کردن پاششی برای طیف وسیعی از مواد ازجمله اسانس‌ها، اجزای غذایی فراسودمند و دارویی، ترکیبات معطره و روغن‌های با مصارف خاص به‌کار می‌رود (Patel, Patel, & Suthar, 2009). از دلایل توسعهٔ این روش می‌توان به دردسترس‌بودن تجهیزات و پایین‌بودن هزینه‌های عملیاتی آن، امکان استفاده از طیف وسیعی از دیواره‌ها، حفظ مناسب ترکیبات فرار، کیفیت مطلوب محصول نهایی و سادگی اجرای آن به‌صورت مداوم اشاره کرد (Reineccius, 1995).

یکی از خصوصیات مهم مواد ریزپوشانی‌شده، امکان رهایش[7] آنها در شرایط کنترل‌شده و در زمان و مکان مناسب است. در واقع اگر ریزکپسولی تولید شود که پایداری و ویژگی محافظتی مناسبی داشته باشد اما رهایش آن در محیط

[1] 1,8 Cineol
[2] α-Triphenyl acetate
[3] Spray-drying
[4] Maltodextrin
[5] Gum Arabic
[6] Modified starch
[7] Release

موردنظر به‌خوبی انجام نشود، اهداف ریزپوشانی برآورده نشده است (Chiu & Moss, 2007; Lee, Park, & Ha, 1997). بدین‌ترتیب یافتن بهترین شرایط رهایش مواد، اهمیت بسزایی داشته و توجه پژوهشگران را به‌خود جلب کرده است.

لذا هدف از این تحقیق در مرحلهٔ اول ریزپوشانی مواد مؤثره (۱و۸ سینئول و آلفا-ترپنیل استات) موجود در اسانس هل و مقایسهٔ تأثیر افزودن مالتودکسترین و اینولین به صمغ عربی به‌عنوان مواد پوشش‌دهنده روی پاسخ‌های موردنظر بود. بازده ریزپوشانی و رهایش مواد مؤثره در شرایط دهان و بازیابی هریک از پودرها موردبررسی قرار گرفت. همچنین هدف بعدی این تحقیق ارتباط بین دمای انتقال شیشه‌ای با درصد رهایش بالای مواد مؤثرهٔ اسانس هل، در محیط شبیه‌سازی‌شدهٔ دهان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی

اسانس هل از شرکت اکسیر گل سرخ (مشهد، ساخت ایران) خریداری شدند. صمغ عربی، اینولین (درجهٔ پلیمریزاسیون بیشتر از ۱۰) و مالتودکسترین (۱۶/۵<DE<۲۰) از شرکت سیگما آلدریچ تهیه شد. استانداردهای آلفا-ترپنیل استات و ۱و ۸ سینئول (با خلوص بالا ۹۹ درصد) نیز از شرکت سیگما آلدریچ تهیه گردیدند. هگزان با خلوص بالا (۹۵ درصد) از شرکت هامون طب (ساخت ایران) تهیه شدند.

تهیهٔ امولسیون

محلول صمغ عربی، مالتودکسترین و اینولین در نسبت‌های مختلف و با غلظت کلی (ترکیب دیواره) ۲۵ درصد وزنی-وزنی در آب دیونیزه تهیه شدند. عملیات هم‌زدن و تهیهٔ محلول‌ها در مدت ۱ ساعت و به کمک همزن مغناطیسی انجام گرفت و سپس محلول‌های آماده‌شده برای حداکثر جذب آب به مدت ۲۴ ساعت در دمای یخچال (۴ درجهٔ سانتی‌گراد) نگهداری شدند، لازم به ذکر است که pH کلیهٔ محلول‌ها با استفاده از سود ۰/۱ نرمال، در نقطهٔ ۷ تنظیم شد و برای جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها و فعالیت میکروبی در طول دورهٔ نگهداری به میزان ۲۰۰ پی.پی.ام سدیم آزاید به آنها اضافه شد. سپس به این مخلوط‌ها امولسیفایر توئین ۸۰ به میزان ۲ درصد وزنی-وزنی نسبت به دیواره اضافه شد و به کمک همزن مغناطیسی به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۵۵۰ دور در دقیقه مخلوط گردیدند. آنگاه اسانس هل با نسبت ۵ درصد وزنی-وزنی قطره‌قطره، به مخلوط اضافه شد.

از همگن‌ساز اولتراتوراکس (مدل T50، شرکت IKA، ساخت آلمان) با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه و در دمای محیط جهت همگن‌سازی اولیه استفاده شد و جهت همگن‌سازی ثانویه از امواج فراصوت استفاده شد. در تمام مراحل همگن‌سازی، خنک‌سازی توسط حمام آب‌سرد انجام گرفت. بدین جهت امولسیون اولیه پس از انتقال به محفظه‌ای استوانه‌ای‌شکل و دو جداره از جنس فولاد زنگ‌نزن به قطر داخلی ۳ و عمق ۱۰ سانتی‌متر به مدت ۳ دقیقه در ۷۵۰ وات و فرکانس ۲۰ کیلوهرتز همگن‌سازی شد. انتقال امواج فراصوت از بلور پیزوالکتریک به نمونه توسط پروب استوانه‌ای‌شکلی از جنس تیتانیوم به قطر ۱۹ میلی‌متر که در عمق ۱ سانتی‌متر زیر سطح آن غوطه‌ور می‌شود، انجام شد. دمای محلول با چرخش مداوم آب‌سرد در بین دو جدارهٔ استوانه در ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد ثابت نگهداشته شد (Jafari, He, & Bhandari, 2007).

تهیهٔ ریزکپسول

محلول‌های امولسیونی تهیه‌شده با خشک‌کن پاششی (مدل B190، شرکت Buchi، ساخت سوئیس) خشک شدند. شرایط خشک‌کن پاششی به این شرح بود: دمای هوای ورودی ۱۸۰±۱۰ درجهٔ سانتی‌گراد، دمای هوای خروجی ۷۰±۱۰ درجهٔ سانتی‌گراد، سرعت جریان هوا ۶۰۰ لیتر بر ساعت، سرعت پمپ خوراک‌دهی ۱۰ میلی‌لیتر بر دقیقه و فشار ۴ بار. ریزکپسول‌های به‌دست‌آمده تا زمان انجام آزمون در ظروف بسته‌شده با پارافین در دمای ۱۸- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند.

طراحی آزمایش و آنالیزهای آماری

جهت تعیین ترکیب بهینهٔ دیواره از طرح مخلوط ساده-مرکزی با استفاده از نرم‌افزار Design Expert نسخهٔ ۷,۱ استفاده شد. تیمارها و پاسخ‌هایی که موردبررسی قرار گرفته‌اند در جدول (۱) نشان داده شده است. متغیرهای این بخش شامل نسبت‌های مختلف صمغ عربی (۰ تا ۱۰۰ درصد)، مالتودکسترین (۰ تا ۵۰ درصد) و اینولین (۰ تا ۵۰ درصد) و پاسخ‌های موردبررسی شامل بازده ریزپوشانی اسانس، بازده ریزپوشانی ترکیبات مؤثرهٔ اسانس (آلفا-ترپنیل استات و ۱و۸ سینئول)، آزادسازی مواد مؤثره در محیط شبیه‌سازی‌شدهٔ دهان و بازیابی پودر بود. ازطریق بررسی *P*-Value، معنی‌داربودن یا نبودن هریک از ضرایب مدل‌های

ارائه‌شده توسط نرم‌افزار Design Expert مشخص شد و مقادیر باارزش بالاتر از ۰/۰۵ معنی‌دار نبوده و از مدل‌ها حذف شدند تا مدل‌های جدیدی با پارامترهای معنی‌دار به‌دست آیند. کیفیت مدل‌های مناسب ازطریق بررسی ضریب همبستگی و ضریب همبستگی تنظیم‌شده[1] موردبررسی قرار گرفتند. مدل چندجمله‌ای درجه‌سوم برای برازش داده‌ها مورداستفاده قرار گرفت (رابطهٔ ۱):

رابطهٔ (۱)

$$Yi=\beta 1A1+\beta 2B2+\beta 3C3+\beta 12A1B2+\beta 13A1C3+\beta 23B2C3+\beta 123A1B2C3+\beta 12(1\text{-}2)A1B2(A1\text{-}B2)+\beta 13(1\text{-}3)A1C3(A1\text{-}C3)+\beta 23(2\text{-}3)B2C3(B2\text{-}C3)$$

در رابطهٔ (۱)، Yi: متغیر وابستهٔ پیش‌بینی‌شده شامل؛ Y1: بازده ریزپوشانی، Y2: بازده ریزپوشانی آلفا-ترپنیل استات، Y3: بازده ریزپوشانی ۱و۸ سینئول، Y4: آزادسازی مادهٔ مؤثره و Y5: بازیابی پودر است، β123 و β12، β13 و β23 اثر برهم‌کنش‌های سه‌تایی و دوتایی بین دیواره‌های مختلف را نشان می‌دهد، β1، β2 و β3 ضرایب رگرسیون برای هرکدام از اثرات خطی است و A1، B2 و C3 درصد دیواره‌های مختلف به‌ترتیب برای صمغ عربی، مالتودکسترین و اینولین هستند. اهمیت آماری هریک از جمله‌های معادله‌های رگرسیون با استفاده از تحلیل واریانس (ANOVA) برای هر پاسخ بررسی شد. فرمول بهینه براساس پاسخ‌های مطلوب و با درنظرگرفتن تابع مطلوبیت[2] تعیین شد (Anarjan, Fahimdanesh, & Jafarizadeh-Malmiri, 2017).

جدول ۱- طرح آزمایش مرکزی برای مخلوط ترکیبات بیوپلیمری دیواره‌ها و مقادیر به‌دست‌آمده برای هر پاسخ

تیمار	فرمولاسیون مواد دیواره	بازده ریزپوشانی روغن (درصد)	بازده ریزپوشانی آلفا-ترپنیل استات (درصد)	بازده ریزپوشانی ۱و۸ سینئول (درصد)	آزادسازی مادهٔ مؤثره (درصد)	بازیابی پودر (درصد)
۱	صمغ عربی:مالتودکسترین:اینولین (۲۲:۲۲:۵۶)	۷۰	۸۹/۳۴	۸۹/۸۳	۹۱/۱۷	۶۶/۷۷
۲	صمغ عربی:اینولین (۳۱:۶۹)	۶۰/۲۰	۸۲/۷۷	۸۰/۴۱	۹۳/۷۵	۶۵/۶۶
۳	صمغ عربی:اینولین (۵۰:۵۰)	۲۹/۲۰	۹۰/۸۱	۸۱/۳۵	۹۱/۳۱	۶۴/۳۷
۴	صمغ عربی:مالتودکسترین (۵۰:۵۰)	۴۴/۴۰	۸۹/۳۳	۸۷/۰۴	۹۲/۱۳	۶۹/۷۱
۵	صمغ عربی:مالتودکسترین:اینولین (۲۱:۴۳:۳۶)	۲۳/۲۰	۹۱/۸۸	۸۸/۹۲	۹۳/۵۵	۶۴/۸۲
۶	صمغ عربی:مالتودکسترین:اینولین (۸:۱۴:۷۸)	۸۰/۰۰	۹۴/۹۶	۹۳/۹۹	۸۹/۲۳	۶۰/۴۲
۷	صمغ عربی (۱۰۰)	۷۸/۴۰	۹۷/۳۳	۹۶/۶۱	۸۷/۴۵	۵۶/۰۰
۸	صمغ عربی:اینولین (۵۰:۵۰)	۲۷/۲۰	۸۹/۸۵	۸۲/۳۹	۹۲/۳۸	۶۱/۸۲
۹	صمغ عربی (۱۰۰)	۷۴/۲۰	۹۷/۵	۹۶/۹	۸۸/۵۱	۵۷/۴۰
۱۰	صمغ عربی:اینولین (۳۴:۶۶)	۷۴/۶۰	۹۱/۶۳	۹۰/۶۹	۹۳/۳۵	۶۸/۱۱
۱۱	صمغ عربی:مالتودکسترین:اینولین (۴۱:۲۴:۳۵)	۲۵/۶۰	۸۸/۱۰	۸۲/۴۸	۹۲/۵۸	۶۰/۳۷
۱۲	صمغ عربی:مالتودکسترین:اینولین (۳۶:۵۰:۱۴)	۲۳/۰۰	۸۵/۳۰	۷۵/۴۴	۹۵/۲۴	۶۹/۵۳
۱۳	صمغ عربی:مالتودکسترین:اینولین (۵۰:۳۸:۱۲)	۳۶/۸۰	۸۴/۵۷	۷۲/۸۴	۹۱/۰۱	۶۷/۹۵
۱۴	صمغ عربی:مالتودکسترین:اینولین (۵۰:۳۸:۱۲)	۳۰/۴۰	۸۲/۸۶	۷۱/۸۹	۹۱/۲۳	۶۶/۹۳
۱۵	صمغ عربی:مالتودکسترین:اینولین (۳۶:۵۰:۱۴)	۲۳/۸۰	۸۲/۷۲	۷۷/۳۱	۹۴/۱۲	۶۷/۸۶
۱۶	صمغ عربی:اینولین (۵۰:۵۰)	۵۹/۲۰	۹۱/۳۸	۸۸/۵۲	۹۱/۶۹	۶۸/۸۰

A<۰ (صمغ عربی)<۱۰۰؛ B<۰ (مالتودکسترین)<۵۰؛ C<. (اینولین)<۵۰ و A+B+C= ۱۰۰ درصد از کل مواد دیواره

[1] Adjusted Correlation Coefficient

[2] Desirability function

آزمون‌های انجام‌شده جهت دستیابی به ترکیبات بهینهٔ ریزکپسول‌ها

بازده ریزپوشانی روغن

بازده ریزپوشانی روغن براساس روش توصیف‌شده توسط Jafari، Assadpoor، He و Bhandari (۲۰۰۸) با کمی اصلاحات تعیین شد. ابتدا ۱ گرم از پودر با ۲۰ میلی‌لیتر هگزان در داخل لولهٔ فالکون مخلوط شد و برای مدت ۵ دقیقه با شیکر مخصوص لوله (مدل basic، شرکت IKA، ساخت آلمان) در دمای اتاق هم‌زده شد. سپس ذرات پودر با کمک کاغذ صافی شمارهٔ ۱ واتمن از حلال جداشده و پودر جمع‌آوری‌شده سه بار با ۲۰ میلی‌لیتر هگزان شسته شد. سپس، حلال در دمای اتاق و پس از آن در ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت جدا گردید. روغن ریزپوشانی‌نشده (روغن سطحی) با استفاده از اختلاف جرم بین بالن تمیز اولیه و بالن حاوی پودر با روغن استخراج‌شده تعیین شد (Jafari *et al.*, 2008). بازده ریزپوشانی روغن هل از رابطهٔ (۲) به‌دست می‌آید.

رابطهٔ (۲)

$$EE = (\frac{TO - SO}{TO}) \times ۱۰۰$$

در رابطهٔ (۲)، TO: محتوی روغن کل و SO: محتوی روغن سطحی در پودرها هستند.

تعیین مقدار مادهٔ مؤثرهٔ سطحی ریزکپسول‌ها

مقدار مادهٔ مؤثرهٔ سطحی ریزپوشانی‌نشده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل 160-A، شرکت Shimadzu، ساخت ژاپن) تعیین گردید. بدین‌جهت ۱ گرم از پودر با ۲۰ میلی‌لیتر هگزان در داخل لولهٔ فالکون مخلوط شد و برای مدت ۵ دقیقه با شیکر مخصوص لوله در دمای اتاق به‌هم خورد. سپس ذرات پودر با کمک کاغذ صافی شمارهٔ ۱ واتمن از حلال جدا شد. محلول باقی‌مانده توسط هگزان در بالن ژوژه ۲۵ میلی‌لیتری به حجم رسانده شد. مقدار ۱ و ۸ سینئول و آلفا-ترپینیل استات موجود در نمونه به‌عنوان ترکیبات شاخص و اصلی روغن هل به‌ترتیب در ۲۷۰ و ۲۳۶ نانومتر اندازه‌گیری گردید (Krishnan *et al.*, 2005; Soottitantawat, Yoshii, Furuta, Ohkawara, & Linko, 2003). این نواحی بیشینهٔ طول موج جذبی ۱و۸ سینئول و آلفا-ترپینیل استات در دامنهٔ ۶۰۰-۲۰۰ نانومتر طیف‌نوری می‌باشند. منحنی استاندارد با استفاده از محلول‌های با غلظت مختلف سینماآلدئید[1]، ۱و۸ سینئول و آلفا-ترپینیل استات در هگزان رسم شد. از نمونهٔ هگزان نیز به‌عنوان شاهد برای جلوگیری از خطای جذب در دستگاه استفاده گردید.

تعیین مقدار مادهٔ مؤثرهٔ داخل ریزکپسول‌ها

برای تعیین مادهٔ مؤثرهٔ موجود در داخل ریزکپسول‌ها از روش به‌کارگرفته‌شده توسط Soottitantawat و همکاران (۲۰۰۳) استفاده شد. به‌این‌منظور، پودر حاصل که از مرحلهٔ قبل پس از شست‌وشو با هگزان به‌جامانده بود، دوباره مورداستفاده قرار گرفت. ۱ گرم از پودر به ۲۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر در داخل لولهٔ فالکون منتقل و با شیکر مخصوص لوله به مدت ۱ دقیقه هم‌زده شد. سپس به نمونهٔ هگزان اضافه شد و در داخل حمام بخار آب در دمای ۴۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه نگهداری شد. در طول این مدت هم‌زدن به‌طور متناوب انجام گرفت. سپس لوله در دمای اتاق سرد و در سانتریفیوژ با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید تا فاز آبی از فاز حلال جدا شود. درنهایت میزان جذب آن مطابق روش گفته‌شده در بالا اندازه‌گیری گردید.

بازده ریزپوشانی

برای تعیین بازده ریزپوشانی خارج‌قسمت مقدار سینماآلدئید، ۱و۸ سینئول و آلفا-ترپینیل استات ریزپوشانی‌شده به مقدار آن در سطح و داخل ریزکپسول‌ها مطابق رابطهٔ (۳) محاسبه گردید:

رابطهٔ (۳)

بازده ریزپوشانی =

مقدار مادهٔ مؤثرهٔ اولیه/ مقدار مادهٔ مؤثرهٔ داخل ریزکپسول‌ها

آزادسازی مادهٔ مؤثره

در محیط شبیه‌سازی‌شدهٔ بزاق[2] درصد آزادسازی مادهٔ مؤثرهٔ هل موجود در ریزکپسول‌ها به‌صورت زیر تعیین می‌شود. به‌طور خلاصه، سوسپانسیونی از ریزکپسول‌های حاوی روغن هل در یک کیسهٔ دیالیز واردشده و در pH، ۶/۸ در محلول شبیه‌سازی‌شدهٔ بزاق در جهت تقلید شرایط فروبردن قرار گرفت. کیسهٔ داخل یک حمام ترموستاتیک در دمای ۳۷±۰/۵ درجهٔ سانتی‌گراد، تحت به‌هم‌خوردن روی همزن

[1] Cinnamaldehyde
[2] Simulated saliva digestion

مغناطیسی در ۱۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. زمان آزمایش روی ۲ دقیقه تنظیم شد و درصد آزادسازی برای این زمان محاسبه شد. محلول شبیه‌سازی شدهٔ بزاق تازه با pH، ۶/۸ دو بار جایگزین شد و در دمای ۰/۵±۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد و با استفاده از اسپکتروفتومتری (مدل 160-A، شرکت Shimadzu، ساخت ژاپن) مقدار مادهٔ مؤثرهٔ آزادشده از ریزکپسول‌ها تعیین شد. درصد آزادسازی مادهٔ مؤثره با استفاده از رابطهٔ (۴) محاسبه شد (Asprea, 2017):

رابطهٔ (۴)

درصد آزادسازی مادهٔ مؤثرهٔ موجود در ریزکپسول‌ها= مقدار مادهٔ مؤثرهٔ اولیه/مقدار مادهٔ مؤثرهٔ موجود در محلول بعد از ۲ دقیقه

بازیابی پودر

بازیابی پودر (درصد) برای هر تیمار اندازه‌گیری شد و به‌عنوان نسبت جرمی پودر به‌دست‌آمده در خروجی خشک‌کن پاششی به مقدار مادهٔ خشک اولیه در محلول خوراک به دستگاه خشک‌کن پاششی بیان شد.

آزمون حرارتی افتراقی (DSC[1])

آزمون حرارتی افتراقی با استفاده از دستگاه DSC (مدل Jade، شرکت Perkin Elmer، ساخت آمریکا) مجهز به سیستم خنک‌کنندهٔ نیتروژن مایع تعیین شد. برای کالیبراسیون دما و جریان گرما از ایندیوم و روی استفاده شد و برای مرجع دستگاه و همچنین جهت اندازه‌گیری دمای انتقال شیشه‌ای نمونه‌ها از ظرف آلومینیومی ۵۰ میکرولیتری استفاده گردید. حدود ۵ میلی‌گرم از نمونه به داخل ظرف آلومینیومی منتقل شد و به شرح ذیل موردتیمار قرار گرفتند: سرعت سرد و گرم‌کردن به میزان ۱۰ درجهٔ سانتی‌گراد در دقیقه تنظیم گردید. دامنهٔ دمای ارزیابی بین ۲۰ تا ۲۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد انتخاب شد. نمونه‌ها از ۲۰ تا ۲۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد حرارت داده شد، سپس در این دما به مدت ۱ دقیقه نگهداری شدند.

نتایج و بحث

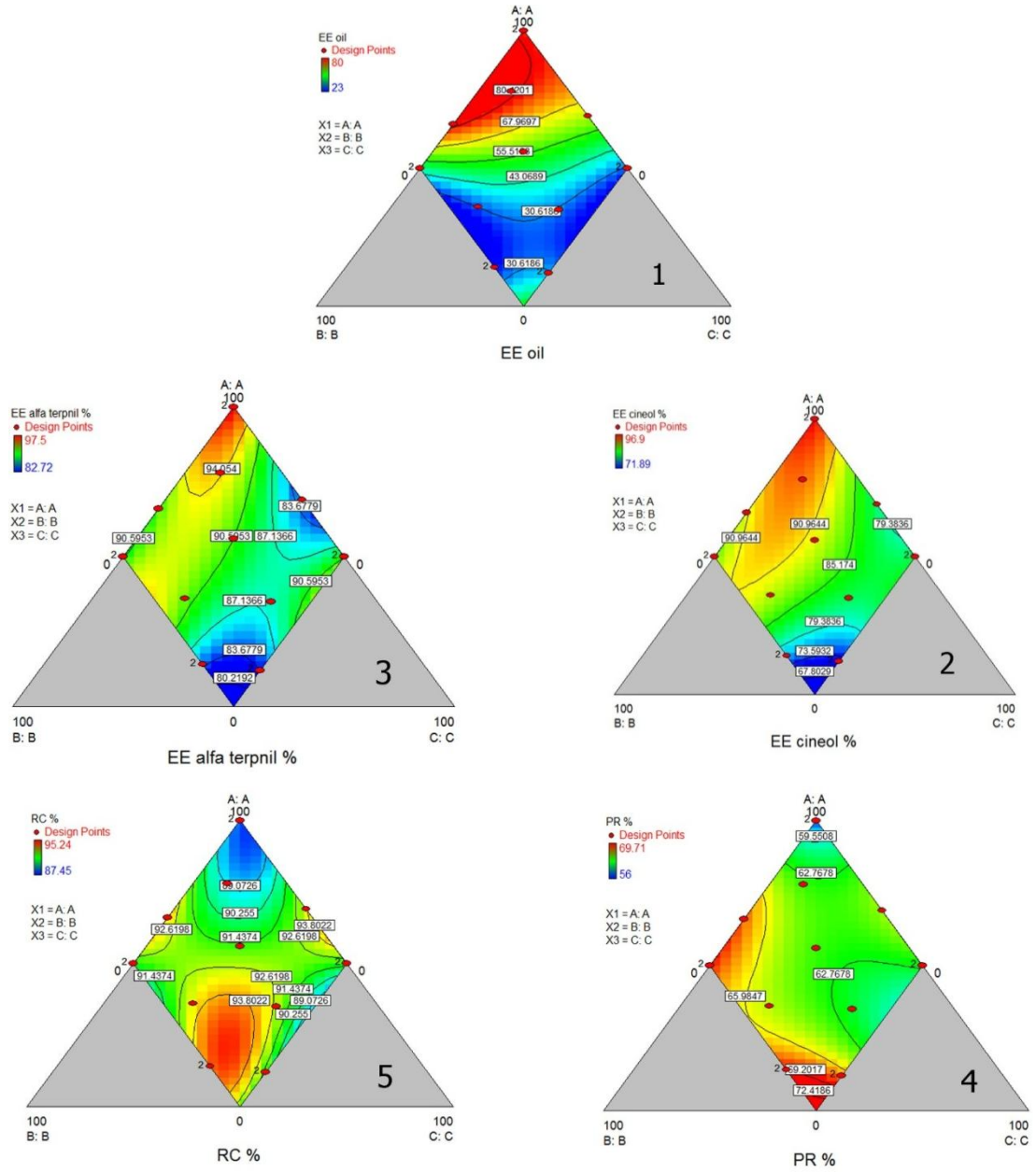
بهینه‌یابی فرمولاسیون دیواره

مدل درجه‌سوم برای برازش داده‌ها استفاده شد و درمورد هر پاسخ معنی‌داربودن مدل، بی‌معنی‌بودن عدم‌برازش و مقدار مناسب ضریب همبستگی و ضریب تغییرات بررسی گردید. ضرایب رگرسیون، ضریب همبستگی و *P*-Value برای هر پاسخ در جدول (۲) نشان داده شده است. پس از احراز کفایت مدل در پیش‌بینی پاسخ‌ها از نمودارهای حاصل برای تفسیر نتایج استفاده شد (شکل ۱).

جدول ۲- ضرایب رگرسیون، ضریب همبستگی و مقادیر *P* و F برای معادله‌های مورداستفاده در پیش‌بینی پاسخ‌ها

ضرایب رگرسیون	بازده ریزپوشانی (درصد)	بازده ریزپوشانی آلفا-ترپنیل استات (درصد)	بازده ریزپوشانی ۱و۸ سینئول (درصد)	آزادسازی مادهٔ مؤثره (درصد)	بازیابی پودر (درصد)
$\beta 1$	۷۵/۹۰	۹۷/۵۱	۹۶/۷۵	۸۸/۰۲	۵۶/۳۳
$\beta 2$	-۲۱۳/۵۳	۱۳۴/۴۱	۱۱۰/۳۲	۹/۰۳	۵۶/۰۶
$\beta 3$	-۱۵۲/۴۰	۲۸۴/۴۰	۲۱۹/۳۴	-۳۲/۹۵	۲۸/۸۸
$\beta 12$	۴۶۷/۸۴	-۱۰۲/۲۵	-۶۳/۰۲	۱۷۳/۶۱	۵۱/۷۹
$\beta 13$	۲۶۸/۹۶	-۴۰۲/۲۶	-۳۰۴/۷۱	۲۵۷/۳۴	۸۲/۲۱
$\beta 23$	۹۳۰/۳۸	-۵۳۰/۵۸	-۴۱۱/۲۶	۴۱۶/۲۲	۱۳۲/۶۵
$\beta 123$	-۱۵۲۰/۹۵	۸۲۰/۲۶	۷۶۴/۷۰	-۵۷۴/۹۰	-۳۵۴/۰۸
$\beta 12(1\text{-}2)$	-	۶۳/۲۲	۴۸/۲۷	-۹۴/۱۵	-
$\beta 13(1\text{-}3)$	-	۱۶۱/۹۶	۱۳۳/۲۶	-۱۴۶/۲۰	-
$\beta 23(2\text{-}3)$	-	۲۵۷/۵۶	۲۳۵/۲۷	۷/۱۷	-
R^2	۰/۹۳۴۵	۰/۹۷۱۶	۰/۹۹۶۰	۰/۹۶۶۱	۰/۸۹۷۲
مقدار *P*	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۶	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱۰	۰/۰۰۰۵
مقدار F	۲۱/۳۹	۲۲/۷۸	۱۶۴/۷۱	۱۹/۰۲	۱۳/۰۸

[1] Differential Scanning Calorimetery



شکل ۱- نمودار کانتر بازده ریزپوشانی اسانس هل

(الف: بازده ریزپوشانی ۱و۸ سینئول، ب: آلفا-ترپنیل استات، ج: باتوجه‌به مدل کوبیک و بازیابی پودر، د: آزادسازی مواد مؤثره و هـ: با استفاده از سه مادهٔ مختلف دیواره شامل صمغ عربی (X1)، مالتودکسترین (X2) و اینولین (X3) باتوجه‌به مدل اسپیشیال کوبیک)

ریزپوشانی پودر

بازده ریزپوشانی اسانس هل

بازده ریزپوشانی اسانس هل از ۲۳ تا ۸۰ درصد متغیر بوده و به‌طور قابل‌توجهی تحت‌تأثیر فرمولاسیون مواد دیواره قرار دارد. بیشترین بازده ریزپوشانی با مقدار ۸۰ درصد متعلق به تیمار ۶ بوده که از صمغ عربی، مالتودکسترین و اینولین با نسبت‌های به‌ترتیب ۸:۱۴:۷۸ به‌عنوان دیواره استفاده شده بود. همچنین کمترین بازده ریزپوشانی با مقدار ۲۳ درصد نیز مربوط به تیمار ۱۲ بود که حاوی صمغ عربی، مالتودکسترین و اینولین با نسبت‌های به‌ترتیب ۳۶:۵۰:۱۴ است.

همان‌طورکه در جدول (۲) نشان داده شده است، صمغ عربی دارای بیشترین تأثیر معنی‌دار بر بازده ریزپوشانی نسبت به هر دو مالتودکسترین و اینولین است. اثر متقابل مثبت مالتودکسترین با اینولین (جدول ۲) در مدل اسپیشیال کوبیک[1] بر بازده ریزپوشانی نشان‌دهندهٔ اثر سینرژیستی این دو جزء بود. لذا با بهینه‌یابی مقادیر

[1] Special Cubic

این دو ترکیب، می‌توان بازده ریزپوشانی را افزایش داد. باتوجه‌به بررسی اثرات متقابل مشاهده‌شده در مدل بهینه بر بازده ریزپوشانی، می‌توان دریافت که بیشترین اثر آنتاگونیستی با ترکیب سه‌گانهٔ دیواره‌ها حاصل می شود (Anarjan *et al.*, 2017).

مقایسهٔ بین اثرات متقابل دوگانه بر بازده ریزپوشانی نشان داد که برهم‌کنش بین مالتودکسترین و اینولین اثر بیشتری نسبت به سایر اثرات متقابل دوگانه دارد. ازطرفی از جدول آنالیز واریانس (جدول ۲) می‌توان دریافت که اثر متقابل سه‌تایی به‌دلیل اینکه اثر آنتاگونیستی دارد و کمترین ضریب را به خود اختصاص می‌دهد لذا پایین‌ترین تأثیر را بر بازده ریزپوشانی داشته است. به‌طور واضح این اثرات را می‌توان در نمودار کانتر مربوطه (شکل ۱-الف) مشاهده نمود.

همچنین نتایج نشان داد که با استفاده از دیوارهٔ صمغ عربی (تیمارهای ۷ و ۹)، مخلوط صمغ عربی و اینولین (تیمارهای ۱۰) و مخلوط صمغ عربی، مالتودکسترین و اینولین (تیمار ۶)، می‌توان افزایش قابل‌ملاحظه‌ای در بازده ریزپوشانی ایجاد کرد (شکل ۱-الف).

Bhandari، Dumoulin، Richard، Noleau و Lebert (۱۹۹۲) دریافتند که بازده ریزپوشانی در پودرها در ترکیبی که از صمغ عربی به تنهایی استفاده شد، افزایش یافته است که این نتایج مشابه نتایج گزارش‌شده برای این مطالعه بود. این محققین این مشاهده را به خواص تشکیل فیلم بهتر و بهبود پایداری امولسیون صمغ عربی نسبت دادند. باید توجه داشت که خواص تشکیل فیلم و امولسیون‌کنندگی صمغ عربی در ریزپوشانی بسیار حائز اهمیت است و از اثرات مفید آن دراین‌زمینه نمی‌توان چشم‌پوشی نمود. ترکیب دوتایی از صمغ عربی و اینولین (تیمارهای ۳ و ۸) دارای حداقل بازده ریزپوشانی بود، که موضوع در نتایج سایر محققین نیز به چشم می‌خورد. Fernandes، Borges و Botrel (۲۰۱۴) روغن رُزماری را توسط روش خشک‌کردن پاششی و با استفاده از دیواره‌های صمغ عربی، مالتودکسترین، اینولین و نشاستهٔ اصلاح‌شده ریزپوشانی کردند. مقادیر بازده ریزپوشانی در این مطالعه بین ۲۶/۳۱ تا ۶۱/۸۱ درصد بود. در این مطالعه، تیمار صمغ عربی با اینولین کمترین اثر و تیمار صمغ عربی به‌صورت دیوارهٔ منفرد اثر خوبی بر بازده ریزپوشانی اسانس رُزماری داشت. این نتیجه با نتایج حاصل از این تحقیق برای ترکیب منفرد صمغ عربی کاملاً مشابه بوده اما برای ترکیب صمغ عربی و اینولین همخوانی ندارد که این احتمالاً به‌دلیل درصدهای متفاوت استفاده‌شده از این ترکیبات در تحقیق Fernandes و همکاران (۲۰۱۶) برای صمغ عربی و اینولین (۵۰:۵۰) و در تحقیق حاضر (۳۴:۶۶) است.

بازده ریزپوشانی ۱و۸ سینئول و آلفا-ترپنیل استات

نتایج آزمایش‌ها نشان داد که بازده ریزپوشانی ۱ و ۸ سینئول در نسبت‌های مختلف ترکیبات دیواره در محدودهٔ ۷۱ تا ۹۶ درصد متغیر است و به‌طور معنی‌داری تحت‌تأثیر مادهٔ تشکیل‌دهندهٔ دیواره قرار دارد (جدول ۱). بیشترین مقدار بازده ریزپوشانی ۱ و ۸ سینئول به مقدار ۹۶/۹ درصد مربوط به تیمار ۹ (صمغ عربی خالص) و کمترین آن (۷۱/۸۹ درصد) مربوط به تیمار ۱۴ (ترکیب صمغ عربی:مالتودکسترین:اینولین با نسبت ۵۰:۳۸:۱۲) به‌دست آمد. شکل (۱-ب) اثر ترکیب دیواره را روی بازده ریزپوشانی ۱ و ۸ سینئول پودرهای ریزپوشانی‌شده نشان می‌دهد.

براساس نتایج به‌دست‌آمده بازده ریزپوشانی آلفا-ترپنیل استات در نسبت‌های مختلف ترکیبات دیواره در محدودهٔ ۸۲ تا ۹۷ درصد متغیر است و تحت‌تأثیر مادهٔ تشکیل‌دهندهٔ دیواره قرار دارد (جدول ۱). بیشترین مقدار بازده ریزپوشانی آلفا-ترپنیل استات (۹۷/۵ درصد) مربوط به تیمار ۹ (صمغ عربی به تنهایی) به‌دست آمد. حداقل مقدار بازده ریزپوشانی آلفا-ترپنیل استات به میزان ۸۲/۷۲ درصد مربوط به تیمار ۱۵ (ترکیب صمغ عربی:مالتودکسترین:اینولین با نسبت ۳۶:۵۰:۱۴) به‌دست آمد. شکل (۱-ج) اثر ترکیب دیواره را روی بازده ریزپوشانی آلفا-ترپنیل استات پودرهای خشک‌شده نشان می‌دهد.

همان‌طورکه در جدول (۲) مشاهده می‌شود، اینولین تأثیر معنی‌داری روی پاسخ بازده ریزپوشانی ۱و۸ سینئول و آلفا-ترپنیل استات داشت اما صمغ عربی و مالتودکسترین تأثیر معنی‌داری روی بازده ریزپوشانی ۱و۸ سینئول و آلفا-ترپنیل استات نداشتند. اثرات متقابل دوتایی مثبت برای ترکیبات دیواره، در این مدل (مدل کوبیک) برای بازده ریزپوشانی ۱و۸ سینئول و آلفا-ترپنیل استات مشاهده نشد. بااین‌حال باتوجه‌به اینکه ضریب اثرات

متقابل دوتایی برای بازده ریزپوشانی ۱و۸ سینئول و آلفا-ترپنیل استات، منفی به‌دست‌آمده است، لذا ترکیبات دوتایی دیواره بر بازده ریزپوشانی ۱و۸ سینئول و آلفا-ترپنیل استات اثر آنتاگونیستی داشته است. باتوجه‌به اینکه ضریب اثر متقابل سه‌گانهٔ دیواره‌ها در مدل بهینه، مقادیر بالا و مثبت دارد لذا می‌توان نتیجه گرفت که بیشترین اثر سینرژیستی درمورد بازده ریزپوشانی ۱و۸ سینئول و آلفا-ترپنیل استات می‌تواند توسط ترکیبات سه‌گانهٔ دیواره‌ها ایجاد شود.

در شکل‌های (۱-ب) و (۱-ج) تأثیر ترکیبات دیواره به‌ترتیب بر بازده ریزپوشانی ۱و۸ سینئول و آلفا-ترپنیل استات نشان داده شده است. به‌طورکلی استفاده از سه جزء دیواره باعث بالارفتن بازده ریزپوشانی ۱و۸ سینئول و آلفا-ترپنیل استات در بسیاری از تیمارها شده است.

مقادیر بازده ریزپوشانی مادهٔ مؤثرهٔ حاصل از این تحقیق شباهت زیادی با آنچه دیگر محققان گزارش کرده‌اند، می‌باشد. به‌عنوان مثال de Barros Fernandes و همکاران (۲۰۱۶) ریزپوشانی روغن زنجبیل با خشک‌کردن پاششی را با استفاده از دیواره‌های صمغ عربی، مالتودکسترین و اینولین موردمطالعه قرار داده است و مقادیر بازده ریزپوشانی مادهٔ مؤثره را بین ۴۸ تا ۹۳ درصد گزارش نموده است. نتایج مطالعه‌های این محققان نشان داد که تیمار صمغ عربی با اینولین روی بازده ریزپوشانی مادهٔ مؤثرهٔ زنجبیل چندان مؤثر نیست درحالی‌که صمغ عربی خالص شبکهٔ مؤثرتری را برای حفظ مادهٔ مؤثرهٔ زنجبیل مهیا می‌کند (de Barros Fernandes *et al.*, 2016).

Krishnan و همکاران (۲۰۰۵) جهت ریزپوشانی اسانس هل از صمغ عربی و نشاستهٔ اصلاح‌شده به‌عنوان دیواره استفاده کردند. نتایج آنها نشان داد که در ترکیب‌هایی که نسبت صمغ عربی به نشاستهٔ اصلاح‌شده بیشتر است مقدار بازده ریزپوشانی مواد مؤثرهٔ اسانس هل افزایش می‌یابد که مشابه نتایج تحقیق حاضر می‌باشد (Krishnan *et al.*, 2005).

بازیابی پودر

بازیابی پودر ازطریق تعیین نسبت مقدار پودر به‌دست‌آمده و مقدار خوراک ورودی به خشک‌کن محاسبه گردید. بازده پایین بازیابی پودر در آزمایشگاه احتمالاً ناشی از چسبیدن ذرات به‌یکدیگر و به دیواره‌های خشک‌کن و کشیده‌شدن محصول به داخل جریان خلأ است. Bhandari، Datta و Howes (۱۹۹۷) گزارش کردند که بازیابی پودر بیش از ۵۰ درصد، نشان‌دهندهٔ فرایند خشک‌کردن موفق تولید در مقیاس آزمایشگاهی است.

در این تحقیق مقدار بازیابی پودر ریزپوشانی‌شده حاوی اسانس هل بین ۵۶ تا ۶۹/۷۱ درصد (تیمارهای ۷ و ۴) متغیر است که در جدول (۱) نشان داده شده است. اثر ترکیب دیواره‌ها در بازیابی پودرهای خشک‌شده در شکل (۱-د) نشان داده شده است. باتوجه‌به شکل (۱-د)، افزایش مقدار مالتودکسترین و اینولین منجربه‌افزایش بازیابی پودر می‌شود درحالی‌که با افزایش مقدار صمغ عربی بازیابی پودر کاهش می‌یابد.

تجزیه‌وتحلیل رگرسیون نشان داد، داده‌های بازیابی پودر به‌خوبی با مدل اسپیشیال کوبیک (جدول ۲) می‌تواند برازش گردد (R^2=۰/۸۹). شکل (۱-د) نشان می‌دهد که بازیابی پودر بالاتر در مقادیر بالاتری از مالتودکسترین و اینولین در ترکیب دوتایی از مواد دیواره به‌دست می‌آید، درحالی‌که افزایش نسبت صمغ عربی منجربه‌کاهش بازیابی پودر می‌شود. همان‌طورکه در جدول (۲) نشان داده شده است، مالتودکسترین تأثیر معنی‌داری بر پاسخ بازیابی پودر نسبت به هر دو صمغ عربی و اینولین دارد. اثرات دوتایی مثبت مالتودکسترین با اینولین (جدول ۲) در مدل اسپیشیال کوبیک برای بازیابی پودر نشان داد که این دو ترکیب به‌صورت سینرژیست عمل‌کرده و استفاده از این دو ترکیب بازیابی پودر را افزایش می‌دهد. باتوجه‌به مدل برازش‌یافته برای بازیابی پودر، تنها ضریب منفی که قوی‌ترین اثر آنتاگونیستی را دارد توسط ترکیب سه‌گانه از ترکیبات دیواره ایجاد شده است.

ترکیباتی که در آنها نسبت‌های بالاتری از مالتودکسترین و اینولین استفاده شد دارای بازیابی پودر بیشتری نسبت به ترکیباتی بودند که صمغ عربی بیشتری در دیوارهٔ آنها به‌کاربرده شده است. احتمالاً این نتایج مربوط به رسوب کمتر مواد جامد در دیواره‌های خشک‌کن در طی خشک‌کردن پاششی می‌باشد. همچنین باتوجه‌به نقش و عملکرد مالتودکسترین به‌عنوان کمک خشک‌کن با افزایش‌دادن دمای انتقال شیشه‌ای کل مخلوط و ایجاد لایه و فیلم نازک در اطراف ذرات تولیدشده، موجب کاهش چسبیدن ذرات ازطریق تشکیل پل‌های مایع

به‌یکدیگر و همچنین کاهش چسبیدن ذرات به دیوارهٔ خشک‌کن شود (Papadakis, Gardeli, & Tzia, 2006; Quek, Chok, & Swedlund, 2007).

آزادسازی مادهٔ مؤثره

باتوجه‌به اهمیت رهایش ترکیبات مولد عطروطعم در داخل دهان، آزادسازی مادهٔ مؤثره در محیط شبیه‌سازی‌شدهٔ دهان با استفاده از روش آزادسازی کیسهٔ دیالیز بررسی شد. این مطالعه نشان داد که بعد از ۲ دقیقه، حدود ۸۷/۴۵ تا ۹۵/۲۴ درصد مواد مؤثره به‌ترتیب برای تیمارهای ۷ و ۱۲ آزاد شدند (جدول ۱). نتایج نشان داد در تیمارهایی که صمغ عربی کاهش می‌یابد، آزادسازی مادهٔ مؤثره افزایش می‌یابد و با افزایش صمغ عربی آزادسازی کاهش می‌یابد (تیمارهای ۷ و ۹) درحالی‌که با افزایش مالتودکسترین در تیمارهای دوتایی و سه‌تایی آزادسازی مادهٔ مؤثره افزایش یافته است. باتوجه‌به نتایج و خواص صمغ عربی در تشکیل امولسیون پایدار (Dickinson, 2003) و امولسیفایری (Gibbs, 1999; Gharsallaoui, Roudaut, Chambin, Voilley, & Saurel, 2007; Gouin, 2004) می‌توان چنین نتیجه گرفت که صمغ عربی در محیط بزاق (آبی) امولسیون پایدارتری را نسبت به مالتودکسترین و اینولین ایجاد می‌کند و باعث خروج کمتر مادهٔ مؤثره از این دیواره‌ها می‌شود که با نتایج حاصل در این تحقیق مطابقت دارد.

همان‌طورکه در جدول (۲) نشان داده شده است، صمغ عربی دارای بیشترین تأثیر روی آزادسازی مادهٔ مؤثره است. اثرات دوگانه مثبت‌تر ترکیب دوتایی مالتودکسترین با اینولین نسبت به ترکیب صمغ عربی با مالتودکسترین و اینولین در مدل پیشنهادشده برای رهایش مادهٔ مؤثره دیده می‌شود، بنابراین ترکیب دوتایی مالتودکسترین با اینولین می‌تواند آزادسازی مادهٔ مؤثره را نسبت به سایر ترکیبات دوتایی افزایش دهد. ضریب منفی بالا برای ترکیبات با سه دیواره نشان داد که قوی‌ترین اثر آنتاگونیست می‌تواند توسط ترکیب سه‌تایی دیواره‌ها برای آزادسازی مادهٔ مؤثره ایجاد شود. بااین‌وجود ترکیبات سه‌تایی دیواره آزادسازی کمتری نشان دادند. اثر ترکیب دیواره‌ها در پودر ریزپوشانی‌شده در شکل (۱-هـ) نشان داده شده است.

Mohammadi، Ehsani و Bakhoda (۲۰۱۸) با بررسی رهایش کافئین ریزپوشانی‌شده در دیواره‌های مختلف در محیط شبیه‌سازی‌شدهٔ دهان بیان کردند که دیوارهٔ آلژینات به تنهایی برای رهایش سریع و ترکیب آلژینات با دیواره‌های دیگر برای رهایش کُند در محیط شبیه‌سازی‌شدهٔ دهان مفید می‌باشد، به‌طوری‌که حدود ۸۰ درصد کافئین ریزپوشانی‌شده طی ۱۰ دقیقه از ریزکپسول‌های آلژینات رهایش یافتند. Zandi، Mohebbi، Varidi و Ramezanian (۲۰۱۴) با مطالعه روی ریزکپسول‌های تهیه‌شده با آلژینات-پروتئین آب‌پنیر حاوی دی‌استیل[1] نشان دادند که در تنش‌های برشی صفر، ۵۰ و $100\ s^{-1}$ بعد از ۱۵ دقیقه به‌ترتیب ۷۰/۹، ۹۰/۲ و ۹۷/۵ درصد از دی‌استیل از دیواره‌ها در محیط شبیه‌سازی‌شدهٔ دهان آزاد می‌شود.

بهینه‌سازی عددی

برای بهینه‌یابی دیوارهٔ ریزکپسول‌ها، تمام متغیرها در دامنهٔ موردبررسی و بازده ریزپوشانی کلی و ترکیبات مؤثره و همچنین بازیابی پودر و رهایش ترکیبات به‌صورت بیشینه درنظرگرفته شد.

جهت اطمینان از ترکیب بهینه با نسبت‌های پیش‌بینی‌شده، تست تأییدی انجام پذیرفت. نتایج حاصل از داده‌های تجربی (جدول ۳) با نتایج پیش‌بینی‌شده توسط مدل مقایسه شد و موردتأیید قرار گرفت.

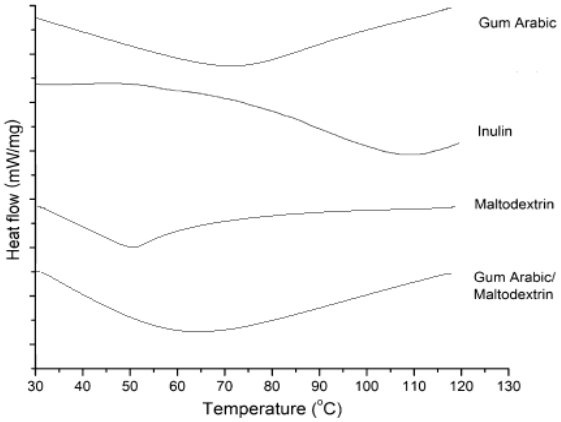
جدول ۳- نتایج پاسخ‌های پیش‌بینی‌شده (۱) و آزمایشگاهی (۲)

ترکیب بهینه	صمغ عربی	مالتودکسترین	اینولین	بازده ریزپوشانی (درصد)	بازده ریزپوشانی آلفا-ترپنیل استات (درصد)	بازده ریزپوشانی ۱ و ۸ سینئول (درصد)	آزادسازی مادهٔ مؤثره (درصد)	بازیابی پودر (درصد)	مطلوبیت
۱	۶۶/۸۰۹	۳۳/۱۹۱	۰/۰۰۰	۸۳/۵۷۷۵	۹۱/۷۹۸۹	۹۰/۸۷۹۶	۹۳/۲۷۸۶	۶۷/۷۲۸۵	۰/۷۸۵
۲	۶۶/۸۰۹	۳۳/۱۹۱	۰/۰۰۰	۷۵/۱۶	۹۱/۰۲	۹۰/۷۶	۹۳/۱۱	۶۶/۳۲	-

[1] Diacetyl

بررسی آزمون حرارتی افتراقی (DSC)

در بالای دمای انتقال شیشه‌ای، احتمال رهایش و خروج مواد هسته به خارج از مواد دیواره وجود دارد (Beristain, Azuara, & Vernon-Carter, 2002). همچنین هر شرایطی که باعث ایجاد شکل بلوری در ساختار پلیمرها شود، موجب تسریع رهایش و ازدست‌رفتن مادهٔ هسته می‌گردد. در برخی از پلیمرها، در دمای بالاتر از دمای انتقال شیشه‌ای، امکان قرارگیری مولکول‌ها در کنار یکدیگر و ایجاد نواحی کریستالی موضعی زیاد است. در این شرایط مولکول‌های مادهٔ هسته به قسمت‌های بی‌شکل و درنهایت به سطح پلیمر رانده‌شده و نتیجهٔ آن رهایش و ازدست‌رفتن مادهٔ ریزپوشانی‌شده از درون ریزکپسول‌ها می‌باشد (Biliaderis, Lazaridou, & Arvanitoyannis, 1999). ترموگرام ترکیب بهینهٔ اسانس هل ریزپوشانی‌شده توسط صمغ عربی، مالتودکسترین و اینولین با نسبت ۰/۰۰۰:۳۳/۱۹۱:۶۶/۸۰۹ از مواد دیواره و ترکیبات دیواره به‌صورت منفرد (صمغ عربی، مالتودکسترین و اینولین) در شکل (۲) نشان داده شده است. با مشاهدهٔ ترموگرام ترکیب بهینه، می‌توان پیک مشخصی را در دمای ۶۳/۸ درجهٔ سانتی‌گراد برای این ترکیب مشاهده نمود، که مربوط به نقطهٔ ذوب آن می‌باشد.



شکل ۲- ترموگرام DSC ترکیب بهینهٔ اسانس هل

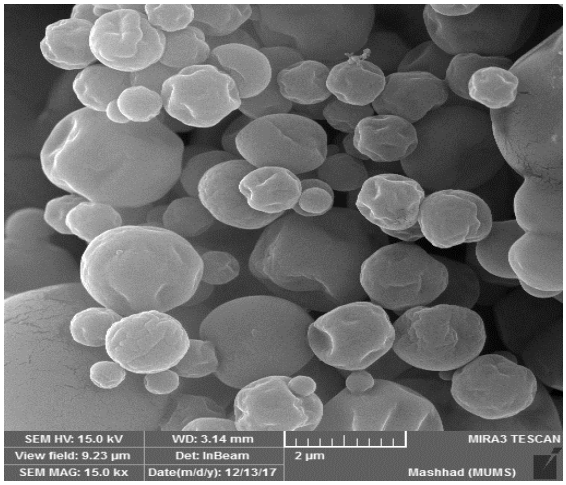
برای همهٔ پلیمرها دمایی به نام دمای انتقال شیشه‌ای تعریف می‌شود. دمای انتقال شیشه‌ای، دمای آغاز حرکت‌های مولکولی در پلیمر است و این بدان معناست که در دماهای پایین‌تر از این دما مولکول‌های ماده قابلیت حرکت نداشته و بنابراین ماده مانند شیشه سخت است. دمای انتقال شیشه‌ای توسط چندین فاکتور شامل وزن مولکولی، ساختار شیمیایی و محتوی رطوبت تحت‌تأثیر قرار می‌گیرد (Bhesh R Bhandari & Hartel, 2005). دمای انتقال شیشه‌ای از نقطهٔ میانی طیف‌گذار شیشه‌ای به‌دست آمد. منحنی‌های DSC موجود در شکل (۲) نشان می‌دهد که دمای انتقال شیشه‌ای برای صمغ عربی، مالتودکسترین، اینولین و ترکیب بهینه به‌ترتیب برابر با ۶۰/۶، ۴۰/۴، ۱۰۰/۴ و ۴۲/۹ درجهٔ سانتی‌گراد است. نتایج Fernandes و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد که دمای انتقال شیشه‌ای صمغ عربی و ترکیب صمغ عربی با مالتودکسترین به‌ترتیب برابر با ۹۹/۶ و ۸۶/۴ درجهٔ سانتی‌گراد بود. این نتایج نشان داد که ترکیب‌کردن مالتودکسترین با صمغ عربی، دمای انتقال شیشه‌ای آن را پایین می‌آورد. دمای انتقال شیشه‌ای به مقدار زیادی به جرم مولی ترکیبات دیواره وابسته است (Truong, Bhandari, & Howes, 2005). صمغ عربی جرم مولی (۴۷۰۰۰ تا ۳۰۰۰۰۰۰ گرم بر مول) بیشتری نسبت به مالتودکسترین (۱۸۰۰ گرم بر مول) دارد و به‌این‌دلیل افزودن مالتودکسترین سبب کاهش دمای انتقال شیشه‌ای ترکیب بهینه شده است. Yousefi، Emam-Djomeh و Mousavi (۲۰۱۱) بیان کردند که مالتودکسترین با درجهٔ پلیمریزاسیون ۲۰ و صمغ عربی به‌ترتیب دمای انتقال شیشه‌ای برابر با ۴۰ و ۵۲ درجهٔ سانتی‌گراد است که مشابه با نتایج ما برای دمای انتقال شیشه‌ای بود. دمای انتقال شیشه‌ای ترکیب بهینه از دمای محیط بیشتر است که حاکی‌از آن است که ریزکپسول تهیه‌شده با صمغ عربی، مالتودکسترین و اینولین به‌ترتیب با نسبت‌های ۰/۰:۳۳/۲:۶۶/۸ در دمای محیط به دمای انتقال شیشه‌ای نمی‌رسد و حالت لاستیکی و نرم نخواهد گرفت. همچنین دمای انتقال شیشه‌ای به‌گونه‌ای می‌باشد که در دمای محیط مادهٔ مؤثرهٔ داخل ریزکپسول را حفظ و به محض ورود به محیط دهان، همراه با عمل جویدن دیواره نرم‌شده و مواد مؤثرهٔ داخل کپسول‌ها به‌راحتی رهایش پیدا می‌کند (Overbosch, Afterof, & Haring, 1991).

بررسی تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM[1])

تصویر ذرات ریزکپسول که با میکروسکوپ الکترونی تهیه شدند ویژگی‌های سطحی ظاهری و اثر ترکیبات دیواره بر ریزساختار ذرات را به‌خوبی نشان می‌دهد. تصویر الکترونی

[1] Scanning Electron Microscope

ریزکپسول تهیه‌شده با ترکیب بهینه (صمغ عربی و مالتودکسترین) در شکل (۳)، که حاصل افزودن مالتودکسترین به صمغ عربی است را نشان می‌دهد.



شکل ۳- تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی ترکیب با دیوارهٔ بهینه

شکل (۳) نشان‌دهندهٔ سطحی دندانه‌دار در ریزکپسول‌های تهیه‌شده با صمغ عربی و مالتودکسترین بود. این ریزکپسول‌ها تقریباً کروی بوده و ترک و شکاف اندکی در آنها دیده می‌شود. ویژگی‌های مشاهده‌شده در این تحقیق همچون مشاهده‌های ارائه‌شده توسط Nunes و Cavalheiro (۲۰۰۷) بود که لیکوپن را با صمغ عربی و به روش خشک‌کن پاششی ریزپوشانی‌کرده و سطحی دندانه‌دار را در ریزکپسول‌های گرد تهیه‌شده مشاهده کردند. علت دندانه‌دارشدن سطوح ریزکپسول‌ها، چروکیدگی آنها طی خشک‌شدن در محفظهٔ خشک‌کن پاششی در اثر تبخیر سریع آب موجود در امولسیون می‌باشد که باتوجه‌به نوع ترکیب دیواره میزان این چروکیدگی متفاوت است (Rosenberg, Kopelman, & Talmon, 1990).

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که می‌توان دیواره‌های انتخاب‌شده را به‌طور مؤثری برای تولید امولسیون‌های اسانس هل جهت حصول حداکثر بازده ریزپوشانی اسانس هل و ترکیبات مؤثرهٔ این اسانس شامل آلفا-ترپنیل استات و ۱و۸ سینئول، حداکثر رهایش مواد مؤثره در محیط شبیه‌سازی‌شدهٔ دهان و همچنین حداکثر بازیابی پودر استفاده نمود. طراحی مخلوط یک تکنیک مفید برای بهینه‌سازی نسبت اجزای دیواره است تا میکروکپسول‌های اسانس هل با ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی موردنظر به‌دست آیند. مقادیر تجربی نیز با مقادیر پیش‌بینی‌شدهٔ تاییدشده توسط نرم‌افزار درمورد مناسب‌بودن مدل‌های پیشنهادشده کاملاً مطابقت داشت. بررسی تصویر الکترونی نمونهٔ بهینه نشان داد که این نمونه دارای شکل کروی و با ترک‌خوردگی کم می‌باشد.

منابع

آفاق‌هایده، و. (۱۳۸۳). گیاهان ادویه‌ای (چاپ اول): مؤسسه شقایق روستا تهران.

شریعت‌هادی، ص. (۱۳۶۸). تجزیه و شناسایی مواد دارویی گیاهی (چاپ اول): موئسسه انتشارات مشعل اصفهان.

Afagh Hayedeh, V. (2005). *Spicy herbs* (Vol. First turn): Shaghayegh Institute of Tehran Village. (in Persian)

Anarjan, N., Fahimdanesh, M., & Jafarizadeh-Malmiri, H. (2017). β-Carotene nanodispersions synthesis by three-component stabilizer system using mixture design .*Journal of food science and technology*, *54*(11), 3731-3736. doi:https://doi.org/10.1007/s13197-017-2764-8

Apintanapong, M., & Noomhorm, A. (2003). The use of spray drying to microencapsulate 2-acetyl-1-pyrroline, a major flavour component of aromatic rice. *International journal of food science & technology*, *38*(2), 95-102. doi:https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2003.00649.x

Asprea, M., Leto, I., Bergonzi, M. C. & Bilia, A. R. (2017). Thyme essential oil loaded in nanocochleates: Encapsulation efficiency ,in vitro release study and antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, *77*, 497-502. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.12.006

Bakowska-Barczak, A. M., & Kolodziejczyk, P. P. (2011). Black currant polyphenols: Their storage stability and microencapsulation. *Industrial crops and products, 34*(2), 1301-1309. doi:https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.10.002

Beristain, C., Azuara, E., & Vernon-Carter, E. (2002). Effect of water activity on the stability to oxidation of spray-dried encapsulated orange peel oil using mesquite gum (Prosopis juliflora) as wall material. *Journal of Food Science, 67*(1), 206-211. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11385.x

Bhandari, B. R., Datta, N., & Howes, T. (1997). Problems Associated With Spray Drying Of Sugar-Rich Foods. *Drying Technology, 15*(2), 671-684. doi:https://doi.org/10.1080/07373939708917253

Bhandari, B. R., Dumoulin, E. D., Richard, H. M. J., Noleau, I., & Lebert, A. M. (1992). Flavor Encapsulation by Spray Drying: Application to Citral and Linalyl Acetate. *Journal of Food Science, 57*(1), 217-221. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1992.tb05459.x

Bhandari, B. R., & Hartel, R. W. (2005). Phase transitions during food powder production and powder stability *Encapsulated and powdered foods* (pp. 273-304): CRC Press.

Biliaderis, C., Lazaridou, A., & Arvanitoyannis, I. (1999). Glass transition and physical properties of polyol-plasticised pullulan–starch blends at low moisture. *Carbohydrate polymers, 40*(1), 29-47. doi:https://doi.org/10.1016/S0144-8617(99)00026-0

Chiu, C., & Moss, C. F. (2007). The role of the external ear in vertical sound localization in the free flying bat, Eptesicus fuscus. *The Journal of the Acoustical Society of America, 121*(4). doi:https://doi.org/10.1121/1.2434760

de Barros Fernandes, R. V., Borges, S. V., Silva, E. K., da Silva, Y. F., de Souza, H. J. B., do Carmo, E. L., . . . Botrel, D. A. (2016). Study of ultrasound-assisted emulsions on microencapsulation of ginger essential oil by spray drying. *Industrial crops and products, 94*, 413-423. doi:https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.09.010

Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food hydrocolloids, 17*(1), 25-39. doi:https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00120-5

F. Gibbs, S. K., Inteaz Alli, Catherine N. Mulligan, Bernard. (1999). Encapsulation in the food industry: a review. *International journal of food sciences and nutrition, 50*(3), 213-224 .

Fernandes, R. V. d. B., Borges, S. V., & Botrel, D. A. (2014). Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. *Carbohydrate polymers, 101*, 524-532. doi:https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.083

Fernandes, R. V. d. B., Borges, S. V., Silva, E. K ,.da Silva, Y. F., de Souza, H. J. B., do Carmo, E. L., . . . Botrel, D. A. (2016). Study of ultrasound-assisted emulsions on microencapsulation of ginger essential oil by spray drying. *Industrial crops and products, 94*, 413-423. doi:https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.09.010

Frascareli, E., Silva, V., Tonon, R., & Hubinger, M. (2012). Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. *Food and bioproducts processing, 90*(3), 413-424. doi:https://doi.org/10.1016/j.fbp.2011.12.002

Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International, 40*(9), 1107-1121. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.07.004

Goubet, I., Le Quere, J.-L., & Voilley, A. (1998). Retention of aroma compounds by carbohydrates: influence of their physicochemical characteristics and of their physical state. A review. *Journal of agricultural and food chemistry, 46*(5), 1981-1990. doi:https://doi.org/10.1021/jf970709y

Gouin, S. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in food science & technology, 15*(7-8), 330-347. doi:https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.10.005

Imagi ,J., Muraya, K., Yamashita, D., Adachi, S., & Matsuno, R. (1992). Retarded oxidation of liquid lipids entrapped in matrixes of saccharides or proteins. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 56*(8), 1236-1240. doi:https://doi.org/10.1271/bbb.56.1236

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

Jafari, S. M., He, Y., & Bhandari, B. (2007). Effectiveness of encapsulating biopolymers to produce sub-micron emulsions by high energy emulsification techniques. *Food Research International, 40*, 862-873. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.02.002

Krishnan, S., Bhosale, R., & Singhal, R .S. (2005). Microencapsulation of cardamom oleoresin: Evaluation of blends of gum arabic, maltodextrin and a modified starch as wall materials. *Carbohydrate polymers, 61*(1), 95-102. doi:https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.02.020

Kubo, I., Himejima, M & ,.Muroi, H. (1991). Antimicrobial activity of flavor components of cardamom Elettaria cardamomum (Zingiberaceae) seed. *Journal of agricultural and food chemistry, 39*(11), 1984-1986. doi:https://doi.org/10.1021/jf00011a020

Lee, D., Hwang, S., Park, J., & Park, H. (2003). Preparation and release characteristics of polymer-coated and blended alginate microspheres. *Journal of Microencapsulation, 20*(2), 179-192. doi:https://doi.org/10.3109/02652040309178060

Lee, K. Y., Park, W. H., & Ha, W. S. (1997). Polyelectrolyte complexes of sodium alginate with chitosan or its derivatives for microcapsules. *Journal of Applied Polymer Science, 63*(4), 425-432. doi:https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4628(19970124)63:4<425::AID-APP3>3.0.CO;2-T

Minemoto, Y., Adachi, S., & Matsuno, R. (1999). Autoxidation of linoleic acid encapsulated with polysaccharides of differing weight ratio. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 63*(5), 866-869. doi:https://doi.org/10.1271/bbb.63.866

Mohammadi, N., Ehsani, M. R., & Bakhoda, H. (2018). Design and Evaluation of the Release Characteristics of Caffeine-Loaded Microcapsules in a Medicated Chewing Gum Formulation. *Food Biophysics, 13*(3), 240-249. doi:https://doi.org/10.1007/s11483-018-9530-y

Najafi Najaf, M., Mortazavi, S. A., Koocheki ,A., Khorami, J., & Rekik, B. (2009). Fat and protein contents, acidity and somatic cell counts in bulk milk of Holstein cows in the Khorasan Razavi Province, Iran. *International Journal of Dairy Technology, 62*(1), 19-26. doi:https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2008.00451.x

Nunes, R. S., & Cavalheiro, É. T. G. (2007). Thermalbehavior of glutamic acid and its sodium, lithium and ammonium salts. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 87*(3), 627-630. doi:https://doi.org/10.1007/s10973-006-7788-7

Overbosch, P., Afterof, W., & Haring, P. (1991). Flavor release in the mouth. *Food reviews international, 7*(2), 137-184. doi:https://doi.org/10.1080/87559129109540906

Papadakis, S. E., Gardeli, C., & Tzia, C. (2006). Spray drying of raisin juice concentrate. *Drying Technology, 24*(2), 173-180. doi:https://doi.org/10.1080/07373930600559019

Patel, R., Patel, M., & Suthar, A. (2009). Spray drying technology: an overview. *Indian Journal of Science and Technology, 2*(10), 44-47 .

Quek, S. Y., Chok, N. K., & Swedlund ,P. (2007). The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, 46*(5), 386-392. doi:https://doi.org/10.1016/j.cep.2006.06.020

Reineccius, G. A. (1995). Controlled release techniques in the food industry: ACS Publications.

Robert, P., García, P., Reyes, N., Chávez, J., & Santos, J. (2012). Acetylated starch and inulin as encapsulating agents of gallic acid and their release behaviour in a hydrophilic system. *Food chemistry, 134*(1), 1-8 doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.019

Rosenberg, M., Kopelman, I., & Talmon, Y. (1990). Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials. *Journal of agricultural and food chemistry, 38*(5), 1288-1294. doi:https://doi.org/10.1021/jf00095a030

Shahidi, F., & Han, X. Q. (1993). Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition, 33*(6), 501-547. doi:https://doi.org/10.1080/10408399309527645

Shariat Hadi, S. (1990). *Analysis and identification of herbal medicines* (Vol. First Edition): Isfahan Mashal Publishing Institute. (in Persian)

Shiga, H., Yoshii, H., Nishiyama, T., Furuta, T., Forssele, P., Poutanen, K., & Linko, P. (2001). Flavor encapsulation and release characteristics of spray-dried powder by the blended encapsulant of cyclodextrin and gum arabic. *Drying Technology, 19*(7), 1385-1395. doi:https://doi.org/10.1081/DRT-100105295

Soottitantawat, A., Yoshii, H., Furuta, T., Ohkawara, M., & Linko, P. (2003). Microencapsulation by spray drying: influence of emulsion size on the retention of volatile compounds. *Journal of Food Science, 68*(7), 2256-2262. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb05756.x

Truong, V., Bhandari, B. R., & Howes, T. (2005). Optimization of co-current spray drying process of sugar-rich foods. Part I—Moisture and glass transition temperature profile during drying. *Journal of Food Engineering, 71*(1), 55-65. doi:https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.10.017

Yoshii, H., Furuta, T., Kawasaki, K., Hirano, H., Funatsu, Y., Toyomi, A., & Nakayama, S. (1997). Oxidative stability of powdery tridocosahexaenoin included in cyclodextrin and its application to fish meal paste. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 61*(8), 1376-1378. doi:https://doi.org/10.1271/bbb.61.1376

Yousefi, S., Emam-Djomeh, Z., & Mousavi, S. M. (2011). Effect of carrier type and spray drying on the physicochemical properties of powdered and reconstituted pomegranate juice (Punica Granatum L.). *Journal of food science and technology, 48*(6), 677-684. doi:https://doi.org/10.1007/s13197-010-0195-x

Zandi, M., Mohebbi, M., Varidi, M., & Ramezanian, N. (2014). Evaluation of diacetyl encapsulated alginate–whey protein microspheres release kinetics and mechanism at simulated mouth conditions. *Food Research International, 56*, 211-217. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.11.035

Using Arabic Gum, Maltodextrin and Inulin for Wall Compounds Microencapsulation and Rapid Release of the Bioactive Compounds from Cardamom Essential Oil in Saliva

Mostafa Shahidi Noghabi[1*], Mohammad Molaveisi[2]

1- Associate Professor, Department of Food Chemistry, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran

* Corresponding author (m.shahidi@rifst.ac.ir)

2- PhD. Student, Department of Food Chemistry, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran

Abstract

In this study, the carbohydrates material include Arabic gum (0-100%), maltodextrin (0-50%) and inulin (0-50%) were used as wall compounds for the microencapsulation of cardamom essential oil. A simple-central mixture design was used to experiment design, to optimize and find the best combination for maximal release in the mouth media. The aim of this study was microencapsulation of cardamom oil active ingredients and the effect comparison of adding maltodextrin and inulin to Arabic gum as coating materials on the responses involve the microencapsulation yield, and release of active ingredients and recovery of powder. In this study, the relationship between glass transition temperature and the release of essential oils of cardamom essential oil was investigated in saliva. The results showed that the optimal combination of Arabic gum, maltodextrin and inulin with ratios of 66.8:33.2:0.0, respectively, under these conditions, the microencapsulation yield of the essential oil, alpha-triphenyl acetate and 1 and 8 cineol were 83.57, 91.79 and 90.87%, the release of the active ingredient was 93.27% and the powder recovery was 67.72%. The glass transition temperature of the optimal combination was 42.9 °C, which was a suitable temperature for preserving the active ingredients at ambient temperature and release in saliva. According to the results of this study, the cardamom essential oil optimal combination can be successfully applied in the products as chocolate, candy, sugar cubes, without the release of active ingredients at ambient temperature and with the rapid and high release in the mouth media.

Keyword: Arabic gum, Cardamom essential oil, Inulin, Microencapsulation, Release

JRIFST
مقالهٔ کامل پژوهشی

www.journals.rifst.ac.ir
نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی
سال ۱۳۹۹، جلد ۹، شماره ۱، صفحات ۷۳-۸۴
DOI: 10.22101/JRIFST.2020.184654.1091

مقایسهٔ ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی بستنی تهیه‌شده از شیر گاو و شیر سویا با بستنی تولیدشده از پودر آمیختهٔ آنها

عبدالرضا میرچولی برازق[۱]، مصطفی مظاهری تهرانی[۲*]، سیدعلی مرتضوی[۲]، سیدمحمدعلی رضوی[۲]

۱- دانشجوی دکتری تکنولوژی مواد غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۲- استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
* نویسندهٔ مسئول (mmtehrani@um.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۲۴

واژه‌های کلیدی
بستنی
خشک‌کن پاششی
خواص حسی
ویسکوزیته

چکیده

در این تحقیق، ابتدا در تهیهٔ بستنی، شیر گاو با شیر سویا به نسبت ۱۰۰:۰، ۹۰:۱۰، ۸۰:۲۰، ۷۰:۳۰، ۶۰:۴۰ و ۵۰:۵۰ جایگزین شد. سپس ویژگی‌هایی ازجمله pH، ویسکوزیته، اورران، مقاومت به ذوب و خواص حسی موردآزمون قرار گرفت. نتایج حاکی‌از آن بود که با افزایش جایگزینی شیر گاو با شیر سویا، pH، ویسکوزیته و مقاومت به ذوب به‌طور معنی‌داری افزایش، ولی اورران کاهش می‌یابند ($P<۰/۰۵$). در بخش خواص حسی، طعم و پذیرش کلی بدون استفاده از طعم‌دهندهٔ وانیل کاهش، اما با افزودن ۱ درصد وانیل تا سطح ۴۰ درصد جایگزینی اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. آمیخته‌های بستنی با استفاده از یک خشک‌کن پاششی در مقیاس نیمه‌صنعتی تبدیل به پودر شدند. پودرها بازسازی و تبدیل به بستنی شده و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی آنها با قبل از پودرکردن موردمقایسه قرار گرفت. نتایج نشان داد که pH، ویسکوزیته، اورران و مقاومت به ذوب نمونه‌های حاصل از پودر نسبت به نمونه‌های اولیه به‌طور معنی‌داری کاهش‌یافته بودند اما تغییرات در ویژگی‌های حسی درصورت استفاده از وانیل معنی‌دار نبود ($P<۰/۰۵$).

مقدمه

بستنی فراورده‌ای است که از انجماد و هوادهی مخلوط همگن و پاستوریزه‌شدهٔ شیر و فراورده‌های آن با ترکیبی از مواد قندی، چربی شیر یا چربی‌های گیاهی مجاز و مواد افزودنی تهیه می‌شود (سازمان ملی استاندارد ایران [ISIRI]، ۱۳۷۸). ارزش غذایی هر مادهٔ غذایی بستگی به ترکیبات تشکیل‌دهندهٔ آن دارد. بستنی به‌عنوان یک محصول تهیه‌شده از مواد مختلف با درصدهای متفاوت می‌تواند دارای ارزش غذایی پایین، متوسط و یا بسیار بالا باشد. سویا یکی از مهم‌ترین منابع پروتئین گیاهی است که در یکی دو دههٔ گذشته پژوهش‌های زیادی روی خواص عملکردی ترکیبات آن در فراورده‌های جدید انجام شده است. در تمامی آنها به قابلیت حلالیت بالای پروتئین‌های آن، توانایی ژلاتیناسیون خوب، تثبیت امولسیون‌های روغن در آب و تثبیت کف اشاره شده است (Barać, Stanojević, Jovanović, & Pešić, 2004). شیر سویا حاوی مقدار زیادی پروتئین، آهن و اسیدهای چرب غیراشباع است اما مقدار کربوهیدرات، چربی و کلسیم کمتری نسبت به شیر گاو دارد (Pardeshi, Murumkar, & Tayade, 2014). Chove، Grandison و Lewis (۲۰۰۷) گزارش نمودند که ویژگی‌های منحصربه‌فرد پروتئین‌های سویا شامل قدرت جذب آب بالا،

قوام‌دهندگی و تثبیت‌کنندگی امولسیون موجب می‌شوند تا خواص فیزیکی فراورده‌های ساخته‌شده از سویا را بهبود بخشند. همچنین Wangcharoen (۲۰۰۸) گزارش کرد که در تولید بستنی، شیر سویا جایگزین مناسبی برای شیر گاو می‌باشد زیرا شیر سویا منبع غنی از ترکیبات مختلف ازجمله پروتئین، پلی‌ساکاریدها، فیبرهای غیرقابل هضم، چربی غیراشباع، لستین، ویتامین‌ها، مواد معدنی و ترکیبات آلی زیست‌فعال مانند پلی‌فنل‌ها (اسیدهای فنلیک، ایزوفلاون‌ها، تانین‌ها و ساپونین‌ها) است. در این تحقیق از کنجدسیاه برشته جهت پوشش طعم نامطلوب لوبیایی سویا استفاده شد نتایج حاکی‌از آن بود که افزودن کنجدسیاه علاوه‌بر این که باعث خوش‌طعم و آروماشدن بستنی تولیدشده می‌گردد، اثر آنتی‌اکسیدانی بستنی را نیز به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد (Wangcharoen, 2008). در پژوهشی دیگر Thaiudom (۲۰۰۷) اثر جایگزینی چربی شیر را با چربی گیاهی بر کیفیت بستنی بررسی کرده و سپس گزارش نمود که با افزایش جایگزینی چربی شیر با روغن سویا؛ ویسکوزیته، سفتی بافت و اورران بستنی کم می‌شود. Pourahmad و Ahanian (۲۰۱۵) با استفاده از شیر سویا بستنی تولیدکرده و آن را با پودرکاکائو طعم‌دار نمودند. نتایج نشان داد که با افزایش جایگزینی شیر سویا در نمونه‌ها، مواد جامد کل، pH، پروتئین، چربی، ویسکوزیته و اورران مخلوط افزایش، اما اسیدیته و مواد جامد بدون‌چربی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. آنها نسبت ۵۰:۵۰ را از نظر فیزیکوشیمیایی و خواص حسی بهترین نسبت اعلام نمودند (Pourahmad & Ahanian, 2015). در تحقیقی دیگر Vega، Kim، Chen و Roos (۲۰۰۵) برای اولین‌بار مخلوط بستنی آماده‌شده را با استفاده از خشک‌کن پاششی تبدیل به پودر نمودند و خواص پودرهای تولیدشده را ارزیابی و به نتایج مطلوبی دست پیدا کردند. در ادامه آنها اعلام نمودند که امروزه بسیاری از مواد غذایی کمپلکسی و دارویی مانند امولسیون‌های چندترکیبی به‌صورت پاششی خشک و تولید می‌شوند درنتیجه می‌توان مخلوط بستنی آماده‌شده را توسط خشک‌کن‌های پاششی مختلف تبدیل به پودر و سپس با بازسازی آن یک بستنی با کیفیت تولید کرد (Vega *et al.*, 2005). هنگامی که یک شیر کامل یا خامه به‌صورت پاششی خشک می‌شود فرایند باعث میکروانکپسوله‌شدن مادهٔ اصلی (چربی) می‌گردد جنس مواد دیوارهٔ اطراف چربی معمولاً از کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها می‌باشد که کربوهیدرات‌ها باعث بهبود ساختمان دیواره و پروتئین‌ها ایجاد دیواره و حفظ امولسیون می‌کنند (Fernandes, Borges, & Botrel, 2013; Frascareli, Silva, Tonon, & Hubinger, 2012; Layusa, Barraquio, Dizon, Elegado, & Sevilla, 2013). در پژوهش حاضر، جایگزینی شیر گاو با شیر سویا بر خواص فیزیکوشیمیایی و حسی بستنی بررسی و سپس تأثیر استفاده از پودر آمیختهٔ تهیه‌شده توسط خشک‌کن پاششی بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی نمونه‌ها نیز ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش شیر پاستوریزهٔ ۳ درصد چربی و خامهٔ پاستوریزهٔ ۳۰ درصد چربی از کارخانهٔ شیر پگاه مشهد، آرد سویا و شیرخشک بدون‌چربی از کارخانهٔ گلشاد مشهد، پودر شکر از فروشگاه محلی، ثعلب و لستین از شرکت‌های فروش مواد آزمایشگاهی در مشهد خریداری شد.

تهیهٔ شیر سویا

برای تولید شیر سویا،۵۰ گرم آرد سویا با ۵۰۰ گرم آب مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در یک همزن (مدل R10، مولینکس، ساخت فرانسه) هم‌زده شد. سپس مخلوط صاف‌شده و سوسپانسیون همگن زیر صافی به‌عنوان شیر سویا در ظروف شیشه‌ای پر و دربندی گردید. شیشه‌های شیر سویا در داخل حمام بن‌ماری در دمای ۸۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه پاستوریزه و سپس به سینک آزمایشگاه منتقل و با ریختن آب به‌طور مداوم و کنترل‌شده در اطراف آنها، سردکردن انجام گرفت. درنهایت شیشه‌ها برای آنالیز ترکیبات و استفاده در نمونه‌های پژوهش در یخچال نگهداری شد (یگانه‌زاد، مظاهری طهرانی، شهیدی و زایرزاده، ۱۳۸۶).

تهیهٔ آمیختهٔ بستنی

برای تهیهٔ آمیختهٔ بستنی ابتدا مواد لازم بر مبنای مواد جامد غیرچرب محاسبه و توزین شد. شیر ۳ درصد چربی تا دمای ۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد گرم و خامهٔ ۳۰ درصد چربی، شیرخشک بدون‌چربی، ثعلب، لستین و پودر شکر به آهستگی به آن اضافه گردید. آمیخته با یک مخلوط‌کن با دور بالا به مدت ۵ دقیقه هم‌زده شد. سپس روی بن‌ماری، دمای آمیخته را به ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد رسانده و به مدت ۳۰ ثانیه در این دما پاستوریزه و بلافاصله عمل سردکردن

با آب‌سرد انجام گرفت. آمیخته جهت مرحلهٔ رسیدن به مدت ۱۲ ساعت در یخچال با دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد (مهدیان، ۱۳۹۰؛ میرچولی برازق و مظاهری تهرانی، ۱۳۹۰). پس از گذشت زمان فوق، آمیخته از یخچال خارج‌شده (۳ کیلوگرم)، ۲۰۰ گرم آن برای انجام آزمون‌های فیزیکوشیمیایی کنار گذاشته شد،۸۰۰ گرم آن به‌وسیلهٔ دستگاه بستنی‌ساز آزمایشگاهی غیرمداوم (مدل IC 100، ساخت آلمان) منجمد گردید و درنهایت ۲ کیلوگرم باقی‌مانده برای خشک‌کردن به کارخانه منتقل شد. لازم به ذکر است که برای تولید هریک از نمونه‌ها، ابتدا درصد جایگزینی شیر گاو با شیر سویا محاسبه و سپس مراحل تولید به‌صورتی که در بخش تهیهٔ آمیختهٔ بستنی توضیح داده شد انجام گرفت. جدول (۱) درصد ترکیبات آمیختهٔ بستنی شاهد را نشان می‌دهد.

جدول ۱- درصد ترکیبات آمیختهٔ بستنی شاهد

ترکیبات	درصد (درصد)
چربی	۱۰/۰۰
ساکارز	۱۴/۰۰
مادهٔ خشک بدون‌چربی شیر	۱۱/۰۰
قوام‌دهنده	۰/۲۰
امولسیفایر	۰/۲۰
مادهٔ خشک کل	۳۵/۴۰

آزمون‌های انجام‌شده

pH آمیخته

اندازه‌گیری pH آمیخته‌های بستنی براساس استاندارد ملی ایران به شمارهٔ ۵۲ انجام شد (سازمان ملی استاندارد ایران [ISIRI]، ۱۳۷۸).

ویسکوزیته

برای اندازه‌گیری ویسکوزیته، از روش سقوط گلوله در ستون مایع ویسکومتر هاپلر استفاده شد. بدین‌صورت که آمیختهٔ بستنی پس از مرحلهٔ رسیدن با دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد، داخل محفظهٔ ویسکومتر هاپلر ریخته شد و با برقراری جریان آب در اطراف محفظه سعی شد تا دما ثابت نگهداشته شود سپس گلولهٔ فلزی مخصوص با دانسیتهٔ ۸/۴۰ گرم بر سانتی‌مترمکعب و K ثابت از بالای محفظه به داخل آمیخته رها شد و مدت زمانی که گلوله مسافت ثابت بین دو خط نشانه را طی کرد با کرنومتر ثبت و سپس با استفاده از رابطهٔ (۱) ویسکوزیته محاسبه گردید (Goff, Davidson, & Cappi, 1994).

رابطهٔ (۱)

$$\eta = T\,(q_1 - q_2) \times K$$

در رابطهٔ (۱)، η: ویسکوزیته (سانتی پوآز)، T: میانگین زمان سقوط گلوله (ثانیه)، q_1: وزن مخصوص گلوله (گرم بر سانتی‌مترمکعب)، q_2: وزن مخصوص آمیختهٔ بستنی (گرم بر سانتی‌مترمکعب) و K: ثابت گلوله (سانتی پوآز بر گرم سانتی‌مترمکعب/ثانیه) می‌باشد.

اوران

برای تعیین درصد اوران؛ وزن حجم معینی از مخلوط بستنی پس از مرحلهٔ رسیدن اندازه‌گیری شد و در انتهای عمل انجماد، همان حجم از بستنی برداشته، وزن‌شده و سپس به‌وسیلهٔ رابطهٔ (۲) میزان اوران محاسبه گردید (Goff *et al.*, 1994).

رابطهٔ (۲)

$$o = \frac{W-P}{P} \times 100$$

در رابطهٔ (۲)، W: وزن حجم معینی از آمیخته (گرم)، P: وزن حجم معینی از بستنی (گرم) و O: اوران (درصد) می‌باشد.

مقاومت به ذوب بستنی

برای محاسبهٔ درصد مقاومت به ذوب بستنی، ۳۰ گرم از نمونهٔ بستنی سفت‌شده در فریزر را (پس از حداقل ۲۴ ساعت) در یک قیف بوخنر ریخته و روی دهانهٔ یک ارلن مایر ۵۰۰ میلی‌لیتری خشک و استریل با وزن مشخص، گذاشته شد. بعد از سپری‌شدن مدت زمان ۱۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد، وزن بستنی ذوب‌شده تعیین و از اختلاف آن با وزن اولیهٔ نمونهٔ بستنی، درصد مقاومت به ذوب بستنی اندازه‌گیری شد و درنهایت با استفاده از رابطهٔ (۳) درصد مقاومت به ذوب محاسبه شد (Douglas Goff, 2002).

رابطهٔ (۳)

$$M = \frac{F - Z}{F} \times 100$$

در رابطهٔ (۳)، M: درصد مقاومت به ذوب، F: وزن نمونهٔ بستنی و Z: وزن بستنی ذوب‌شده می‌باشد.

آزمون‌های حسی

برای انجام آزمون‌های حسی از روش هدونیک ۹ نقطه‌ای استفاده گردید. ابتدا در چندین آزمون، بستنی‌های مختلف در اختیار افرادی قرار گرفت که با دقت و حساسیت بیشتری نمونه‌ها را بررسی می‌کردند. درنهایت از بین آنها ۱۰ ارزیاب انتخاب گردید و ویژگی‌هایی ازجمله شدت سردی، سفتی و استحکام بافت، ویسکوزیته، درشتی و زبری بافت، سرعت ذوب‌شدن در دهان، طعم و مزه، بافت و ظاهر و پذیرش کلی موردارزیابی قرار گرفت (BahramParvar, Razavi, & Khodaparast, 2010).

تبدیل آمیختهٔ بستنی به پودر

در این مرحله، نمونه‌ها توسط یک خشک‌کن پاششی در مقیاس نیمه‌صنعتی با ارتفاع ۴ متر، از نوع دیسکی با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه، دمای هوای ورودی به خشک‌کن ۱۸۰-۱۷۰ درجهٔ سانتی‌گراد، دمای هوای خروجی از خشک‌کن ۸۰-۷۵ درجهٔ سانتی‌گراد، دمای خوراک ورودی به خشک‌کن ۷۰-۶۵ درجهٔ سانتی‌گراد و دمای پودر خروجی از خشک‌کن ۷۵-۷۰ درجهٔ سانتی‌گراد تبدیل به پودر شدند. پودرهای تولیدی روی یک ترانسپورت در معرض گرمای ملایم و در تماس با هوا تا حد امکان خشک، سپس بسته‌بندی و تا هنگام بازسازی در یخچال با دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفتند. ازآنجایی‌که ترکیبات طعم‌دهنده به دماهای بالا حساس بوده و تبخیر می‌گردند درنتیجه برای تولید پودر، نمونه‌هایی که دارای طعم‌دهندهٔ وانیل نبودند، انتخاب شدند (Ishiwu, Obiegbuna, & Iwouno, 2014).

بازسازی پودرهای تولیدی

در این مرحله نمونه‌هایی که با استفاده از خشک‌کن پاششی در کارخانه تبدیل به پودر شده بودند بازسازی و برای تولید بستنی و ارزیابی خواص فیزیکوشیمیایی و حسی آماده شدند. چون آمیخته‌های نمونه‌هایی که تبدیل به پودر شده بودند فاقد طعم‌دهندهٔ وانیل بودند درنتیجه در هنگام بازسازی آنها، از وانیل به میزان ۱ درصد استفاده شد تا امکان مقایسهٔ آنها با نمونه‌های قبل از خشک‌کردن از نظر خواص حسی وجود داشته باشد. ضمناً برای کاهش تأثیر زمان بر ویژگی‌های حسی، نمونهٔ بستنی قبل از پودرکردن با نمونهٔ حاصل از پودر هم‌زمان تهیه و سپس توسط داوران موردارزیابی قرار گرفت (Fazaeli, Yarmand, & Emam-Djomeh, 2018).

تهیهٔ آمیخته از پودر

برای تهیهٔ آمیختهٔ بستنی از پودر، ابتدا میزان آبی که باید به هریک از نمونه‌ها اضافه شود محاسبه و سپس درصد بسیار اندکی از آب را داخل کاسهٔ همزن ریخته و درحین عمل هم‌زدن پودر مربوطه به‌همراه باقی‌ماندهٔ آب به آرامی به داخل ظرف هم‌زن اضافه گردید تا یک امولسیون پایدار و مناسبی ایجاد شود. به‌طور متوسط ۱۰ دقیقه عمل هم‌زدن و مخلوط‌کردن برای هریک از نمونه‌ها به طول انجامید. مخلوط آماده را از درون ظرف همزن خارج نموده و در داخل یک میکسر قوی قرار داده شد و به مدت ۵ دقیقه عمل مخلوط‌کردن ادامه یافت. بلافاصله آمیخته را سردکرده و در داخل یخچال به مدت ۲ ساعت قرار داده شد تا اصطلاحاً جابیفتد. بعد از ۲ ساعت، آمیخته دوباره برای مدت ۳ دقیقه به‌طور خیلی آهسته هم‌زده شد سپس ۵ درصد از آن برای انجام آزمون‌های قبل از انجماد کنار گذاشته شد و ۹۵ درصد از آن به داخل دستگاه بستنی‌ساز منتقل و عمل انجماد صورت گرفت. پس از انجماد کامل، بستنی‌ها وارد ظروف یکبارمصرف شده، و به داخل فریزر با دمای ۲۵- درجهٔ سانتی‌گراد منتقل گردید تا زمانی که آزمون‌های بعدی انجام شود. آزمون‌های انجام‌شده در این بخش همان آزمون‌های انجام‌شده در مرحلهٔ قبل از خشک‌کردن براساس استاندارد ملی ایران به شمارهٔ ۵۲ انجام شد (سازمان ملی استاندارد ایران [ISIRI]، ۱۳۷۸).

طرح آماری

در این مرحله، از طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار استفاده شد کلیهٔ اطلاعات و داده‌های گردآوری‌شده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS تحت ویندوز آنالیز شد و میانگین تکرارها در قالب آزمون دانکن در سطح آماری ۵ درصد موردمقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

جدول (۲)، درصد ترکیبات موجود در شیرهای گاو و سویا را نشان می‌دهد. اگرچه شیر گاو دارای چربی و کربوهیدرات بیشتری نسبت به شیر سویاست، اما شیر سویا از درصد پروتئین بیشتری برخوردار است.

جدول ۲- درصد ترکیبات شیر گاو و شیر سویا

مادهٔ غذایی	پروتئین (درصد)	چربی (درصد)	کربوهیدرات (درصد)	خاکستر (درصد)	رطوبت (درصد)	pH
شیر گاو	۲/۶۶±۰/۰۲	۲/۵۰±۰/۰۱	۴/۴۲±۰/۰۲	۰/۵۵±۰/۰۱	۸۹/۸۸±۰/۰۳	۶/۶۰±۰/۰۶
شیر سویا	۳/۳۵±۰/۰۱	۱/۴۱±۰/۰۵	۲/۴۰±۰/۰۴	۰/۴۵±۰/۰۰	۹۲/۲۴±۰/۰۲	۶/۹۰±۰/۰۶

pH آمیخته

نتایج pH در جدول (۳) بیان‌کنندهٔ آن است که با افزایش جایگزینی شیر گاو با شیر سویا در آمیخته‌های بستنی، اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($P<۰/۰۵$). ازآنجایی‌که pH شیر سویا از pH شیر گاو ۰/۳ بیشتر است (جدول ۲) درنتیجه افزایش pH نمونه‌ها در سطوح بالای جایگزینی می‌تواند به‌دلیل pH شیر سویا باشد. Arbuckle (۱۹۸۶) مطلوب‌ترین pH را برای بستنی لبنی ۶/۴-۶/۲۸ گزارش کرده است. اما اگر مواد اولیهٔ استفاده‌شده در تولید بستنی از کیفیت مناسبی برخوردار نباشند pH می‌تواند به پایین‌تر از ۶/۲۸ کاهش یابد. ضمناً بین pH آمیخته و مادهٔ خشک بدون‌چربی شیر رابطهٔ عکس وجود دارد هرچه‌قدر مادهٔ خشک بدون‌چربی شیر در آمیخته بیشتر باشد اُفت pH بیشتر خواهد بود (Arbuckle, 1986). Pourahmad و Ahanian (۲۰۱۵) در تحقیقی اثر جایگزینی شیر پس‌چرخ را با شیر سویا در تولید بستنی موردارزیابی قرار دادند و گزارش نمودند که با افزایش جایگزینی، pH نمونه‌ها افزایش یافت (Pourahmad & Ahanian, 2015). Ahsan و همکاران (۲۰۱۵) نیز در تولید بستنی سویا، به نتایج مشابهی دست پیدا کردند.

ویسکوزیتهٔ آمیخته

نتایج تجزیهٔ واریانس (ANOVA) نشان داد که جایگزینی شیر گاو با شیر سویا بر ویسکوزیتهٔ آمیختهٔ بستنی اثر معنی‌داری دارد ($P<۰/۰۵$). نتایج مربوط به ویسکوزیته حاکی‌از آن است که با افزایش جایگزینی، ویسکوزیته نیز افزایش یافته است (جدول ۳). بیشترین ویسکوزیته مربوط به ۴۰ و ۵۰ درصد جایگزینی و کمترین ویسکوزیته مربوط به نمونهٔ شاهد و ۱۰ درصد جایگزینی است. ویژگی‌های منحصربه‌فرد پروتئین‌های سویا شامل جذب آب بالا، جذب چربی، تثبیت امولسیون، قابلیت هم‌زدن مناسب، ایجاد ژل و تثبیت کف باعث شده است تا با افزایش جایگزینی شیر گاو با شیر سویا، ویسکوزیتهٔ آمیخته‌های بستنی افزایش یابد. رضوی، حبیبی نجفی و نایب‌زاده (۱۳۸۰) در تهیهٔ بستنی سویا گزارش نمودند پروتئین‌های شیر گاو قدرت جذب آب پروتئین‌های سویا را نداشته و لاکتوز شیر نیز برخلاف کربوهیدرات‌های سویا توان تشکیل ژل را ندارند و درنتیجه با افزایش درصد شیر سویا در فرمولاسیون بستنی، ویسکوزیته افزایش و با کاهش درصد شیر سویا، ویسکوزیته کاهش می‌یابد. مهدیان، مظاهری طهرانی و شهیدی (۱۳۹۰) نیز به بررسی اثر کاربرد آرد کامل سویا بر خصوصیات رئولوژیک بستنی پرداختند و به نتایج مشابهی دست پیدا کردند.

جدول ۳- ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نمونه‌های تولیدشده

فرمول	شیر گاو (درصد)	شیر سویا (درصد)	pH	ویسکوزیتهٔ آمیخته (سانتی پوآز)	اوران (درصد)	مقاومت به ذوب (درصد)
۱	۱۰۰	۰	۶/۳۲±۰/۰۰[b]	۱۴۷/۱۰±۲/۰۲[d]	۶۸/۷۰±۰/۱۷[a]	۵۷/۹۰±۲/۱۴[c]
۲	۹۰	۱۰	۶/۳۲±۰/۰۰[b]	۱۴۵/۷۰±۲/۶۰[d]	۶۵/۱۰±۰/۲۹[b]	۵۸/۵۰±۱/۲۹[c]
۳	۸۰	۲۰	۶/۳۲±۰/۰۰[b]	۱۵۶/۳۰±۱/۹۱[c]	۶۵/۳۰±۰/۲۱[b]	۶۱/۳۰±۱/۲۱[b]
۴	۷۰	۳۰	۶/۳۲±۰/۰۰[b]	۱۶۸/۴۰±۱/۲۱[b]	۶۱/۶۰±۰/۱۶[c]	۶۱/۹۰±۱/۱۶[b]
۵	۶۰	۴۰	۶/۳۴±۰/۰۱[a]	۱۷۴/۸۰±۱/۰۲[a]	۶۲/۱۰±۰/۱۳[c]	۶۵/۱۰±۱/۱۳[a]
۶	۵۰	۵۰	۶/۳۴±۰/۰۱[a]	۱۷۵/۲۰±۱/۰۹[a]	۶۱/۵۰±۰/۱۰[c]	۶۵/۵۰±۱/۱۰[a]

* حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

اورران

نتایج مربوط به اورران در جدول (۳) نشان می‌دهد که جایگزینی شیر گاو با شیر سویا موجب کاهش اورران نمونه‌های بستنی شده است ($P<۰/۰۵$). بین نمونهٔ ۱۰ و ۲۰ درصد جایگزینی از نظر اورران اختلاف معنی‌داری نیست ضمناً بین نمونه‌های ۳۰، ۴۰ و ۵۰ درصد جایگزینی نیز اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ولی با سایر نمونه‌ها اختلاف‌شان معنی‌دار است. بهترین دلیلی که می‌توان برای کاهش اورران ذکر کرد این است که کازئین شیر گاو قادر است شبکه‌ای یکنواخت به‌وجود آورد و هوا را در داخل شبکهٔ ایجادشده محبوس نماید درحالی‌که پروتئین‌های شیر سویا توانایی کازئین را در چنین شبکه‌ای ندارند درنتیجه جایگزینی شیر گاو با شیر سویا می‌تواند باعث کاهش اورران گردد (Pourahmad & Ahanian, 2015). رضوی و همکاران (۱۳۸۰) نیز که تأثیر جایگزین‌های لبنی و نوع پایدارکننده را بر خصوصیات شیمیایی و فیزیکی بستنی سویا بررسی نمودند و به نتایج مشابهی دست پیدا کردند.

مقاومت به ذوب

نتایج تجزیهٔ واریانس (ANOVA) نشان داد که جایگزینی شیر گاو با شیر سویا بر مقاومت به ذوب نمونه‌ها اثر معنی‌داری داشته است ($P<۰/۰۵$). نتایج موجود در جدول (۳) نشان‌دهندهٔ آن است که با افزایش جایگزینی شیر گاو با شیر سویا در تولید بستنی، مقاومت به ذوب نمونه‌ها نیز افزایش یافته است. بین ویسکوزیته و مقاومت به ذوب بستنی ارتباط مستقیم وجود دارد. با افزایش ویسکوزیته، مقاومت به ذوب افزایش و با کاهش ویسکوزیته، مقاومت به ذوب کاهش می‌یابد. با وجود اسیدهای چرب غیراشباع بالا در شیر سویا که می‌توانست با افزایش جایگزینی موجب کاهش مقاومت به ذوب نمونه‌ها گردد اما گویا به‌دلیل درصد پایین چربی موجود در شیر سویا، تأثیر آن در برابر پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌های شیر سویا ناچیز بوده است. Arbuckle (۱۹۸۶) نیز به رابطهٔ مشابهی بین ویسکوزیته و مقاومت به ذوب اشاره کرده است.

ویژگی‌های حسی

نتایج تجزیهٔ واریانس (ANOVA) نشان داد که جایگزینی شیر گاو با شیر سویا بر ویژگی‌های حسی نمونه‌های بستنی اثر معنی‌داری دارد ($P<۰/۰۵$). در جدول (۴)، مشاهده می‌شود که تغییرات در بخش طعم و مزه، بو و پذیرش کلی بیشتر از بافت ظاهری بستنی به چشم می‌خورد. این می‌تواند تأییدی بر تأثیر مثبت شیر سویا بر بافت و قوام نمونه‌ها باشد که در قسمت ویسکوزیته نیز به آن اشاره شد. اما یکی از مشکلات استفاده از فراورده‌های سویا در محصولات جدید مربوط به طعم لوبیایی سویا می‌باشد که منجربه اُفت طعم و پذیرش کلی می‌شود. به‌همین‌دلیل در این تحقیق برای ازبین‌بردن طعم نامناسب شیر سویا در نمونه‌های بستنی، از طعم‌دهندهٔ وانیل استفاده گردید که نتایج آن در جدول (۵) آمده است.

جدول ۴- ویژگی‌های حسی نمونه‌های مختلف (بدون وانیل)

فرمول	شیر گاو (درصد)	شیر سویا (درصد)	طعم و مزه (ماکزیمم=۹)	ظاهر بافت (ماکزیمم=۹)	بو و آروما (ماکزیمم=۹)	پذیرش کلی (ماکزیمم=۹)
۱	۱۰۰	۰	۶/۱۱±۰/۰۳^{a}	۶/۰۱±۰/۰۱^{a}	۶/۲۳±۰/۱۵^{a}	۶/۲۱±۰/۱۲^{a}
۲	۹۰	۱۰	۵/۴۱±۰/۲۴^{b}	۵/۹۲±۰/۰۴^{b}	۶/۰۲±۰/۰۵^{b}	۵/۴۵±۰/۲۶^{b}
۳	۸۰	۲۰	۵/۲۱±۰/۱۲^{c}	۵/۸۸±۰/۰۲^{b}	۵/۶۱±۰/۰۴^{d}	۵/۴۸±۰/۲۳^{b}
۴	۷۰	۳۰	۴/۷۳±۰/۱۵^{d}	۵/۹۱±۰/۰۵^{b}	۵/۸۱±۰/۶۲^{c}	۵/۰۷±۰/۲۰^{c}
۵	۶۰	۴۰	۴/۰۱±۰/۱۳^{f}	۵/۷۱±۰/۰۸^{c}	۴/۹۷±۰/۰۶^{e}	۴/۷۷±۰/۱۷^{d}
۶	۵۰	۵۰	۴/۱۲±۰/۰۹^{e}	۵/۷۳±۰/۰۶^{c}	۵/۰۱±۰/۰۴^{e}	۴/۴۳±۰/۱۸^{e}

* حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

جدول ۵- ویژگی‌های حسی نمونه‌های مختلف (با وانیل)

فرمول	شیر گاو (درصد)	شیر سویا (درصد)	طعم و مزه (ماکزیمم=۹)	ظاهر بافت (ماکزیمم=۹)	بو و آروما (ماکزیمم=۹)	پذیرش کلی (ماکزیمم=۹)
۱	۱۰۰	۰	۶/۹۲±۰/۰۵^{a}	۶/۱۹±۰/۸۱^{c}	۶/۷۷±۰/۲۳^{a}	۶/۳۸±۰/۱۸^{b}
۲	۹۰	۱۰	۶/۹۵±۰/۰۷^{a}	۶/۳۵±۰/۱۷^{b}	۶/۶۲±۰/۰۳^{b}	۶/۶۵±۰/۱۱^{a}
۳	۸۰	۲۰	۶/۵۸±۰/۰۶^{c}	۶/۲۰±۰/۵۲^{c}	۶/۶۱±۰/۰۱^{b}	۶/۶۸±۰/۱۳^{a}
۴	۷۰	۳۰	۶/۸۱±۰/۰۲^{b}	۶/۳۲±۰/۰۸^{b}	۶/۷۵±۰/۰۲^{a}	۶/۴۰±۰/۰۹^{b}
۵	۶۰	۴۰	۶/۶۱±۰/۱۰^{c}	۶/۷۱±۰/۰۵^{a}	۵/۹۷±۰/۱۴^{c}	۶/۰۷±۰/۱۶^{c}
۶	۵۰	۵۰	۵/۹۶±۰/۳۴^{d}	۶/۷۳±۰/۲۴^{a}	۵/۷۱±۰/۲۰^{e}	۶/۰۶±۰/۱۸^{c}

* حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

باتوجه‌به نتایج جدول (۴) و (۵)، ملاحظه می‌شود که استفاده از طعم‌دهندهٔ وانیل در نمونه‌های پژوهش باعث شده است تا پذیرش کلی در نمونه‌های دارای وانیل نسبت به نمونه‌های فاقد وانیل به‌طور معنی‌داری افزایش یابد. Wangcharoen (۲۰۰۸) نیز با استفاده از کنجدسیاه برشته‌شده توانست طعم بستنی‌های تولیدشده با شیر سویا را بهبود دهد.

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی نمونه‌های تهیه‌شده از پودرهای بازسازی‌شده

pH آمیخته

نتایج pH در جدول (۶) بیان‌کنندهٔ آن است که بین pH آمیخته‌های بستنی قبل از پودر با pH آمیخته‌های بستنی تهیه‌شده از پودر اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P<۰/۰۵$). کاهش pH در نمونه‌هایی که شیر سویا جایگزین شده است به مراتب بیشتر از نمونهٔ شاهد بود. وجود اسیدهای چرب غیراشباع بالا در شیر سویا می‌تواند دلیل اصلی کاهش بیشتر pH باشد. زیرا اسیدهای چرب غیراشباع (شیر سویا) نسبت به اسیدهای چرب اشباع (شیر گاو) در تماس با حرارت داخل برج خشک‌کن، دچار اکسیداسیون شدیدتری می‌شوند. Vega و همکاران (۲۰۰۵) تأثیر خشک‌کردن پاششی را بر چربی موجود در سطح پودرهای لبنی بررسی و تغییرات pH را در اثر حرارت‌های بالا گزارش نمودند.

جدول ۶- pH و ویسکوزیتهٔ نمونه‌های مختلف

فرمول	شیر گاو (درصد)	شیر سویا (درصد)	pH آمیخته‌های قبل از پودر	pH آمیخته‌های تهیه‌شده از پودر	ویسکوزیتهٔ آمیخته‌های قبل از پودر (سانتی‌پوآز)	ویسکوزیتهٔ آمیخته‌های تهیه‌شده از پودر (سانتی‌پوآز)
۱	۱۰۰	۰	۶/۳۲±۰/۰۰^{a}	۶/۲۸±۰/۰۰^{b}	۱۴۷/۱۰±۲/۰۲^{a}	۱۴۱/۳۰±۱/۷۹^{b}
۲	۹۰	۱۰	۶/۳۲±۰/۰۰^{a}	۶/۲۸±۰/۰۱^{b}	۱۴۵/۷۰±۲/۶۰۱^{a}	۱۳۳/۶۰±۲/۰۸^{b}
۳	۸۰	۲۰	۶/۳۲±۰/۰۰^{a}	۶/۲۶±۰/۰۲^{b}	۱۵۶/۳۰±۱/۹۱^{a}	۱۴۲/۶۰±۲/۰۲^{b}
۴	۷۰	۳۰	۶/۳۲±۰/۰۰^{a}	۶/۲۵±۰/۰۱^{b}	۱۶۸/۴۰±۱/۲۱^{a}	۱۵۳/۱۰±۱/۶۲^{b}
۵	۶۰	۴۰	۶/۳۴±۰/۰۱^{a}	۶/۲۵±۰/۰۰^{b}	۱۷۴/۸۰±۱/۰۲^{a}	۱۵۵/۷۰±۲/۲۵^{b}
۶	۵۰	۵۰	۶/۳۴±۰/۰۱^{a}	۶/۲۲±۰/۰۰^{b}	۱۷۵/۲۰±۱/۰۹^{a}	۱۶۳/۲۰±۱/۰۳^{b}

* حروف غیرمشابه در ستون‌ها به‌صورت افقی، نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین نمونه‌های قبل از پودر و بعد از پودرکردن است.

ویسکوزیتهٔ آمیخته

نتایج تجزیهٔ واریانس (ANOVA) نشان داد که بین ویسکوزیتهٔ آمیختهٔ بستنی به‌دست‌آمده از پودر با ویسکوزیتهٔ قبل از پودرکردن اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P<۰/۰۵$). همان‌طورکه در جدول (۶) مشاهده می‌شود در تمامی موارد ویسکوزیتهٔ آمیخته‌های به‌دست‌آمده از پودر در مقایسه با قبل از پودر کاهش یافته‌اند. دماهای بالا در برج‌های خشک‌کن می‌تواند باعث تغییراتی در خواص ترکیبات پودر تولیدشده و بازسازی آن شود. ازآنجایی‌که آمیخته‌های تهیه‌شده در این پژوهش حاوی شیر سویا بودند درنتیجه پروتئین‌های موجود در شیر سویا و همچنین شیر گاو در اثر حرارت‌های بالا دناتوره می‌شوند. دناتوره‌شدن پروتئین‌ها منجربه آن می‌گردد تا در هنگام بازسازی، نتوانند به‌نحو مطلوبی آب

را جذب نمایند و درنهایت باعث کاهش ویسکوزیته خواهند شد. Fazaeli و همکاران (۲۰۱۸) شرایط اسپری‌کردن را برای تولید پودر آمیختهٔ بستنی بهینه‌کرده و گزارش نمودند که دمای هوای مورداستفاده در برج خشک‌کن می‌تواند به پروتئین‌های موجود در خوراک اولیه صدمه وارد نماید و باعث دناتوره‌شدن آنها شود. دراین‌صورت آمیختهٔ بستنی تهیه‌شده از چنین پودری دارای ویسکوزیتهٔ پایین‌تری خواهد بود.

اوروان آمیخته

نتایج تجزیهٔ واریانس (ANOVA) نشان داد که بین اوروان آمیختهٔ بستنی به‌دست‌آمده از پودر با اوروان نمونه‌های قبل از پودر اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۵). باتوجه‌به نتایج جدول (۷)، اوروان بستنی‌های به‌دست‌آمده از پودر نسبت به اوروان نمونه‌های قبل از پودر به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است. مهم‌ترین عاملی که می‌تواند موجب این تغییرات شده باشد صدمات وارده به پروتئین‌های شیر گاو و شیر سویا در برج خشک‌کن است. دناتوره‌شدن نسبی پروتئین‌ها موجب می‌شود تا نتوانند مانند قبل شبکه‌ای یکنواخت را به‌وجود آورند به‌همین‌دلیل در لابلای شبکهٔ ایجادشده هوا نمی‌تواند به‌خوبی محبوس شود و درنهایت باعث کاهش اوروان می‌گردند (Sofjan & Hartel, 2004).

جدول ۷- اوروان و مقاومت به ذوب نمونه‌های مختلف

فرمول	شیر گاو (درصد)	شیر سویا (درصد)	اوروان نمونه‌های قبل از پودر (درصد)	اوروان نمونه‌های حاصل از پودر (درصد)	مقاومت به ذوب نمونه‌های قبل از پودر (درصد)	مقاومت به ذوب نمونه‌های حاصل از پودر (درصد)
۱	۱۰۰	۰	۶۸/۷۰±۰/۱۷[a]	۶۱/۳۰±۰/۱۲[b]	۵۷/۹۰±۲/۱۴[a]	۵۲/۵۰±۱/۱۶[b]
۲	۹۰	۱۰	۶۵/۱۰±۰/۲۹[a]	۵۸/۱۰±۰/۱۵[b]	۵۸/۵۰±۱/۲۹[a]	۵۴/۶۰±۱/۴۳[b]
۳	۸۰	۲۰	۶۵/۳۰±۰/۲۱[a]	۶۰/۴۰±۰/۱۸[b]	۶۱/۳۰±۱/۲۱[a]	۵۴/۸۰±۱/۱۱[b]
۴	۷۰	۳۰	۶۱/۶۰±۰/۱۶[a]	۵۷/۵۰±۰/۱۹[b]	۶۱/۹۰±۱/۱۶[a]	۵۶/۹۰±۱/۲۹[b]
۵	۶۰	۴۰	۶۲/۱۰±۰/۱۳[a]	۵۶/۷۰±۰/۱۷[b]	۶۵/۱۰±۱/۱۳[a]	۵۷/۳۰±۱/۱۹[b]
۶	۵۰	۵۰	۶۱/۵۰±۰/۱۰[a]	۵۶/۵۰±۰/۱۷[b]	۶۵/۵۰±۱/۱۰[a]	۵۹/۵۰±۱/۱۵[b]

* حروف غیرمشابه در ستون‌ها به‌صورت افقی، نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین نمونه‌های قبل از پودر و بعد از پودرکردن است.

مقاومت به ذوب

نتایج تجزیهٔ واریانس (ANOVA) بیان‌کنندهٔ آن است که بین مقاومت به ذوب بستنی‌های به‌دست‌آمده از پودر با مقاومت به ذوب نمونه‌های قبل از پودر اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۵). جدول (۷)، مقاومت به ذوب نمونه‌های حاصل از پودر را در مقایسه با نمونه‌های قبل از پودر نشان می‌دهد. در تمامی موارد مقاومت به ذوب نمونه‌های به‌دست‌آمده از پودر نسبت به مقاومت به ذوب بستنی‌های قبل از پودر کاهش یافته‌اند. به‌طورکلی افزایش ثبات امولسیون آمیخته منجربه‌افزایش مقاومت به ذوب بستنی خواهد شد. بدین‌ترتیب می‌توان گفت که تمام مکانیسم‌هایی که بر افزایش ویسکوزیته و ثبات امولسیون آمیختهٔ بستنی مؤثرند بر مقاومت به ذوب بستنی نیز مؤثر می‌باشند. همان‌طوری‌که حرارت‌های بالا در برج خشک‌کن موجب صدمه به امولسیون و بخصوص پروتئین‌ها و کاهش ویسکوزیتهٔ آمیخته می‌شود درنتیجه این عامل بر کاهش مقاومت به ذوب نمونه‌های تولیدشده از چنین پودری کاملاً مشهود می‌باشد. Pardeshi و همکاران (۲۰۱۴) نیز که فرایند خشک‌کردن شیر سویا را بهینه نمودند به نتایج مشابهی دست یافتند.

ویژگی‌های حسی

نتایج تجزیهٔ واریانس (ANOVA) نشان‌دهندهٔ آن بود که بین ویژگی‌های حسی بستنی‌های به‌دست‌آمده از پودر با ویژگی‌های حسی نمونه‌های قبل از پودر اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (P<۰/۰۵). نتایج به‌دست‌آمده برای خواص حسی نمونه‌های حاصل از پودر نسبت به نمونه‌های قبل از پودر دارای تغییرات کمتری نسبت به ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی بود (جدول ۸). برای مثال، نتایج مربوط به رابطهٔ (۲) و (۳) نشان می‌دهد که از نظر طعم و مزه بین نمونه‌های اولیه با نمونه‌های حاصل از پودر اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. این نتایج بیان‌کنندهٔ آن

است که اگرچه خشک‌کردن باعث می‌شود تا ویسکوزیته یا اوران تا حدودی اُفت کند اما این کاهش آنقدر کم است که در سطوح پایین جایگزینی تأثیری بر خواص حسی بخصوص طعم و پذیرش کلی ندارد.

جدول ۸- ویژگی‌های حسی نمونه‌های مختلف (با وانیل)

فرمول	شیر گاو (درصد)	شیر سویا (درصد)	طعم و مزهٔ بستنی‌های اولیه (ماکزیمم=۹)	طعم و مزهٔ بستنی‌های حاصل از پودر (ماکزیمم=۹)	پذیرش کلی بستنی‌های اولیه (ماکزیمم=۹)	پذیرش کلی بستنی‌های حاصل از پودر (ماکزیمم=۹)
۱	۱۰۰	۰	۶/۹۲±۰/۰۵[a]	۶/۶۴±۰/۰۱[b]	۶/۳۸±۰/۱۸[b]	۶/۵۵±۰/۰۲[a]
۲	۹۰	۱۰	۶/۹۵±۰/۰۷[a]	۶/۹۳±۰/۶۱[a]	۶/۶۵±۰/۱۱[b]	۶/۷۸±۰/۰۷[a]
۳	۸۰	۲۰	۶/۵۸±۰/۰۶[a]	۶/۶۰±۰/۲۱[a]	۶/۶۸±۰/۱۴[a]	۶/۳۹±۰/۰۳۵[b]
۴	۷۰	۳۰	۶/۸۱±۰/۰۲[b]	۶/۹۴±۰/۷۱[a]	۶/۴۰±۰/۰۹[b]	۶/۶۴±۰/۸۰[a]
۵	۶۰	۴۰	۶/۶۱±۰/۱۰[a]	۵/۸۷±۰/۲۶[b]	۶/۰۷±۰/۱۶[a]	۵/۷۹±۰/۰۲[b]
۶	۵۰	۵۰	۵/۹۶±۰/۳۴[a]	۵/۴۱±۰/۳۴[b]	۶/۰۶±۰/۱۸[a]	۶/۰۴±۰/۱۵[a]

* حروف غیرمشابه در ستون‌ها به‌صورت افقی، نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین نمونه‌های قبل از پودر و بعد از پودرکردن است.

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش نشان داد که جایگزینی شیر گاو با شیر سویا می‌تواند بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی بستنی تأثیر گذارد اما خواص منحصربه‌فرد پروتئین‌های شیر سویا باعث شد تا تغییرات ایجادشده بسیار اندک باشد. در بخش ویژگی‌های حسی مهم‌ترین تغییر مربوط به طعم و مزه و پذیرش کلی نمونه‌ها بود که آن هم با افزودن ۱ درصد اسانس وانیل، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. نتیجهٔ مهم دیگری که این تحقیق داشت آن بود که آمیخته‌های بستنی توسط یک خشک‌کن پاششی تبدیل به پودر شدند. سپس با بازسازی پودرها، مجدداً بستنی تولید و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی آنها موردارزیابی قرار گرفت. اگرچه pH، ویسکوزیته، اوران و مقاومت به ذوب نمونه‌های حاصل از پودر نسبت به نمونه‌های قبل از پودر به‌طور معنی‌داری کاهش یافته بودند. اما میزان کاهش آنها موجب تغییر در کیفیت کلی نمونه‌ها نشد به‌صورتی‌که اگر کارخانه‌ای نیاز به آن داشته باشد که آمیختهٔ بستنی را تبدیل به پودر و سپس با بازسازی پودر تولیدشده در هر زمان و مکان، از آن بستنی تهیه نماید این امکان و شرایط برای آن وجود دارد.

منابع

رضوی، س.، حبیبی نجفی، م. و نایب‌زاده، ک. (۱۳۸۰). تاثیر جایگزین های لبنی و نوع پایدار کننده بر خصوصیات شیمیایی و فیزیکی بستنی سویا (پاروین). علوم کشاورزی ایران، ۳۲(۳)، ۶۱۵-۶۲۴ .

سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۷۸). روش ارزیابی حسی بستنی. (استاندارد ملی ایران، شمارهٔ ۴۹۳۷). برگرفته از http://standard.isiri.gov.ir/StandardFiles/4937.htm

مهدیان، ا. (۱۳۹۰). اثر کاربرد آرد کامل سویا بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی بستنی. فرآوری و تولید مواد غذایی، ۷(۱)، ۴۹-۵۸ .

مهدیان، ا.، مظاهری طهرانی، م. و شهیدی، ف. (۱۳۹۰). بررسی اثر کاربرد آرد کامل سویا بر خصوصیات رئولوژیک بستنی. علوم و صنایع غذایی ایران، ۸(۳۱)، ۱۴-۱۰۷ .

میرچولی برازق، ع. و مظاهری تهرانی، م. (۱۳۹۰). بررسی تاثیر جایگزینی مواد جامد کل بستنی با بادام بر ویژگی های فیزیکی و حسی آن. نوآوری در علوم و فناوری غذایی (علوم و فناوری غذایی)، ۳(۱ (پیاپی ۷))، ۱۹-۲۶ .

یگانه‌زاد، س.، مظاهری طهرانی، م.، شهیدی، ف. و زایرزاده، ا. (۱۳۸۶-آبان). بررسی اثر شیر سویا بر ویژگی های میکروبی، فیزیکو شیمیایی و ارگانولپتیکی ماست پروبایوتیک. ارائه شده در هفدهمین کنگره ملی صنایع غذایی ایران، ارومیه- ۲۳ و ۲۴ آبان.

Ahsan, S., Zahoor, T., Hussain, M., Khalid, N., Khaliq, A., & Umar, M. (2015). Preparation and quality characterization of soy milk based non-dairy ice cream. *International Journal of Food and Allied Sciences, 1*(1), 25-31. doi:http://dx.doi.org/10.21620/ijfaas.2015125-31

Arbuckle, W. S. (1986). *Ice cream*. New York: Van Nostrand Reinhold.

BahramParvar, M., Razavi, S. M. A., & Khodaparast, M. H. H. (2010). Rheological Characterization and Sensory Evaluation of a Typical Soft Ice Cream Made with Selected Food Hydrocolloids. *Food Science and Technology International, 16*(1), 79-88. doi:https://doi.org/10.1177/1082013209353244

Barać, M. B., Stanojević, S. P., Jovanović, S. T., & Pešić, M. B. (2004). Soy protein modification: A review. *Acta periodica technologica*(35), 3-16. doi:https://doi.org/10.2298/APT0435003B

E. Chove, B., Grandison, A. S., & Lewis, M. J. (2007). Some functional properties of fractionated soy protein isolates obtained by microfiltration. *Food Hydrocolloids, 21*(8), 1379-1388. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.10.018

Fazaeli, M., Yarmand, M., & Emam-Djomeh, Z. (2018). Optimization of Spray Drying Conditions for Product ion of Ice Cream Mix Powder Flavored With Black Mulberry Juice. *Journal of Agriculture and Science Technology, 18*, 1557-1570.

Fernandes, R. V. d. B., Borges, S. V., & Botrel, D. A. (2013). Influence of spray drying operating conditions on microencapsulated rosemary essential oil properties. *Food Science and Technology, 33*, 171-178. doi:http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612013000500025

Frascareli, E. C., Silva, V. M., Tonon, R. V., & Hubinger, M. D. (2012). Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. *Food and Bioproducts Processing, 90*(3), 413-424. doi:https://doi.org/10.1016/j.fbp.2011.12.002

Goff, H. D. (2002). Formation and stabilisation of structure in ice-cream and related products. *Current Opinion in Colloid & Interface Science, 7*(5), 432-437. doi:https://doi.org/10.1016/S1359-0294(02)00076-6

Goff, H. D., Davidson, V. J., & Cappi, E. (1994). Viscosity of Ice Cream Mix at Pasteurization Temperatures. *Journal of Dairy Science, 77*(8), 2207-2213. doi: https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77163-0

Iranian National Standardization Organization. (1999). Method for sensory evaluation of icecream. (ISIRI Standard No. 4937). http://standard.isiri.gov.ir/StandardFiles/4937.htm (in Persian)

Ishiwu, C., Obiegbuna, J., & Iwouno, J. (2014). Effect of inlet-air temperature on physico-chemical and sensory properties of spray-dried soy milk. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development, 14*(6), 2239-2253.

Layusa, D. R. C., Barraquio, V. L., Dizon, E. I., Elegado, F. B., & Sevilla, C. C. (2013). Optimization of spray drying parameters for yogurt-ice cream mix. *Philippine Agricultural Scientist, 96*(4), 392-403.

Mahdian, E. (2011). Effect of application of whole soy flour on the physicochemical and sensory properties of ice cream. *Food Processing and Production, 7*(1), 49-58. (in Persian)

Mahdian, E., Mazaheri Tehrani, M., & Shahidi, F. (2011). Evaluation of the effect of Soy Flour on rheological properties of ice cream. *Food Science and Technology, 8*(32), 107-114. (in Persian)

Mirchooli Borazgh, A., & Mazaheri Tehrani, M. (2011). The effect of almond paste as a substitute for total solid of ice cream on the physical and sensory properties. *Innovation in Food Science and Technology (Journal of Food Science and Technology), 3*(1-7), 19-26. (in Persian)

Pardeshi, I., Murumkar, R., & Tayade, P. (2014). Optimization of process for spray drying of soymilk and sprouted soybean milk. *Journal of Grain Processing and Storage, 1*(1), 13-20.

Pourahmad, R., & Ahanian, B. (2015). Production of Cocoa Flavored Soy Milk Ice Cream. *WALIA journal, 31*, 242-248.

Razavi, S. M. A., Habibi Najafi, M. B., & Nsyebzadeh, K. (2001). Effect of Dairy Substitutents and Stabilizers of Chemical & Physical Properties of Soy Ice Cream (Parvin). *32*(3), 615-624. (in Persian)

Sofjan, R. P., & Hartel, R. W. (2004). Effects of overrun on structural and physical characteristics of ice cream. *International Dairy Journal, 14*(3), 255-262. doi:https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.08.005

Thaiudom, S. (2007). Effects of ratio of milk fat to soy bean oil and whipping time on qualities of milk ice cream. *Warasan Songkhla Nakharin (Sakha Witthayasat lae Technology), 29*(1), 191-204.

Vega, C., Kim, E. H. J., Chen, X. D., & Roos, Y. H. (2005). Solid-state characterization of spray-dried ice cream mixes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 45*(2), 66-75. doi:https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2005.07.009

Wangcharoen, W. (2008). Nutrition data and antioxidant capacity of soy milk ice cream and black sesame flavoured soy milk ice cream. *Asian Journal of Food and Agro-Industry, 1*(4), 205-212.

Yeganehzad, S., Mazaheri Tehrani, M., Shahidi, F., & Zaerzadeh, E. (2007, November). *Effect of soy milk on microbial, physicochemical and organoleptic properties probiotic yogurt*. Paper presented at the 17th National Congress of Iranian Food Industries, Urmia, November, 13-14. (in Persian)

A Comparison of Physicochemical and Sensory Characteristics of Ice Cream made from Cow's Milk, Soy Milk, or their Mix Powder

Abdolreza Mirchouli Borazgh[1], Mostafa Mazaheri Tehrani[2*], Seyed Ali Mortazavi[2], Seyed Mohammad Ali Razavi[2]

1- PhD. Student, Department of Food Science & Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
2- Professor, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
* Corresponding author (mmtehrani@um.ac.ir)

Abstract

In this research, in the preparation of ice cream, cow's milk and/or soy milk at a ratio of 100:0, 90:10, 80:20, 70:30, 60:40 and 50:50 were substituted. Then, characteristics such as pH, viscosity, overrun, melt resistance and sensory properties were tested. The results indicated that by increasing the cow's milk replacement with soy milk, pH, viscosity and melting resistance significantly increased; however, overrun decreased ($P<0.05$). The taste and overall acceptability were reduced without the use of vanilla flavor, though no significant difference was observed after adding one percent of vanilla to 40% of the replacement level. The ice cream mixes were spray-dried in a pilot plant spray dryer. The powders were reconstituted and converted into ice cream and their physicochemical and sensory properties were measured and compared with primary mixes. The results showed that the pH, viscosity, overrun and melting resistance of the powder samples compared to the primary specimens significantly decreased, although significant changes in sensory features were not observed when using vanilla ($P<0.05$).

Keywords: Ice cream, Sensory properties, Spray drier, Viscosity

JRIFST
مقالهٔ کامل پژوهشی

www.journals.rifst.ac.ir
نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی
سال ۱۳۹۹، جلد ۹، شماره ۱، صفحات ۸۵-۹۸
DOI: 10.22101/JRIFST.2020.197492.1112

مقایسهٔ اثر ضداکسایشی سلنیت سدیم میکروکپسول‌شده و ریزپوشانی‌نشده با بوتیل هیدروکسی‌آنیزول در روغن سویا

سپیده مشتاقی[1]، محمد گلی[2*]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران
۲- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران
* نویسندهٔ مسئول (mgolifood@yahoo.com)

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۳۰

واژه‌های کلیدی
روغن سویا
سلنیت سدیم
صمغ عربی-فارسی
فعالیت آنتی‌اکسیدانی
میکروکپسولاسیون

چکیده

این تحقیق به بررسی میکروانکپسولاسیون سلنیت سدیم همراه با صمغ عربی (۲۵، ۲۶، ۲۷، ۲۸ و ۲۹ درصد) و صمغ فارسی (۵، ۴، ۳، ۲ و ۱ درصد) و خلوص اتانول (۸۰، ۸۵، ۹۰، ۹۵ و ۱۰۰ درصد) به روش سطح پاسخ پرداخت. نسبت حلال اتانول به مخلوط (۶ گرم صمغ و ۳۰۰ میلی‌گرم سلنیت سدیم در ۲۰ میلی‌لیتر مخلوط) ۱۰ به ۱ انتخاب شد. فرمول بهینهٔ اول (صمغ عربی ۲۷ درصد، صمغ فارسی ۳ درصد و درصد خلوص اتانول ۹۴ درصد با راندمان ۸۹/۵ درصد، اندازهٔ ذرات ۴۴/۶ میکرومتر) و فرمول بهینهٔ دوم (صمغ عربی ۲۹ درصد، صمغ فارسی ۱ درصد و خلوص اتانول ۸۹ درصد با راندمان ۸۶ درصد، اندازهٔ ذرات ۴۸/۵ میکرومتر) انتخاب شدند. سپس نمونه‌های بهینه (۱۸۰/۶ پی‌پی‌ام) با نمونهٔ سنتزی آنتی‌اکسیدان بوتیل‌هیدروکسی آنیزول (BHA) (۲۰۰ پی‌پی‌ام)، سلنیت سدیم فاقد کپسول (۸/۶ پی‌پی‌ام معادل سلنیوم کپسول‌های بهینه) به روغن سویای فاقد آنتی‌اکسیدان اضافه شد و دما و زمان نگهداری روغن سویا در انکوباتور با کمک برنامهٔ شلف‌لایف اکسلریتور (۵۵ درجهٔ سانتی‌گراد و ۰، ۲۳ و ۴۴ روز) معادل انبارداری (۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد و ۰، ۱۸۰ و ۳۶۰ روز) گردید و شاخص‌های اکسایش مقایسه شدند. نتایج نشان داد با افزایش درصد صمغ عربی (کاهش صمغ فارسی) و درصد خلوص اتانول، کارایی افزایش (۹۴/۶۳ درصد) و سایز ذرات کاهش (۳۷/۵ میکرومتر) یافت. ترتیب انتخاب تیمارها براساس اهمیت کاربردی در صنعت غذا برای داشتن فعالیت آنتی‌اکسیدانی حداکثری و خواص اکسایش حداقلی در بازهٔ یکساله شاکل بهینهٔ اول، بهینهٔ دوم، بوتیل‌هیدروکسی آنیزول، سلنیت سدیم کپسول‌نشده (مصرف آنی) و نمونهٔ شاهد (فاقد آنتی‌اکسیدان) شد.

مقدمه

روغن‌ها و چربی‌ها تأمین بخش قابل‌توجه انرژی موردنیاز بدن، اسیدهای چرب ضروری و ویتامین‌های محلول در چربی را برعهده دارند (حسینی‌مظهری، کبریتی، غیاثی‌طرزی، گرامی و اسفندیاری، ۱۳۹۱).

به‌دلیل وجود مقدار قابل‌توجهی از پیوندهای دوگانه در بسیاری از روغن‌ها، این مواد در معرض اکسیداسیون و فساد قرار دارند. چنانچه این فساد از حد خاصی تجاوز کند، روغن یا مادهٔ حاوی آن را غیرقابل‌استفاده برای مصارف غذایی می‌کند (Ahmadi, Kadivar, & Shahedi, 2007). ازطرفی برخی از ترکیبات به‌وجودآمده در اثر اکسیداسیون برای سلامت انسان زیان‌آور می‌باشد (Haumann, 1994). روغن سویا بزرگ‌ترین منبع روغن خوراکی در جهان است و به‌علت غیراشباع‌بودن و پایداری

حرارتی بالا در بین روغن‌های خوراکی از جایگاه خاصی برخوردار است (دباغها و وثوقی، ۱۳۹۰). این روغن به‌علت دارابودن ۵-۹ درصد اسیدلینولنیک و مستعدبودن به اتو-اکسیداسیون[1]، بتا-اکسیداسیون[2] و برگشت طعم مصرف آن براساس استاندارد ملی ایران به شمارهٔ ۳۷۳۴ (سازمان ملی استاندارد ایران [ISIRI]، ۱۳۹۵) به‌صورت روغن خام بدون آنتی‌اکسیدان محدود است. یکی از راه‌های مهم مقابله با اکسیداسیون روغن‌ها استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد (Wanasundara & Shahidi, 2005). از متداول‌ترین این گروه از آنتی‌اکسیدان‌ها بوتیل هیدروکسی‌آنیزول (BHA[3])، بوتیل هیدروکسی‌تولوئن (BHT[4]) و ترشیاری بوتیل هیدروکوئینون (TBHQ[5]) می‌باشند (Eskin & Robinson, 2000). اما طبق پاره‌ای از بررسی‌های انجام‌شده، استفاده از چنین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی ممکن است تحت شرایطی با خطرهای سرطان‌زایی، جهش‌زایی و یا آثار سوء دیگری برای انسان همراه باشند (Dziezak, 1986; Sariri, 2012; Wanasundara & Shahidi, 1996). ازاین‌نظر در دهه‌های اخیر تحقیق‌های زیادی صورت‌گرفته تا از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی برای جلوگیری از اکسایش روغن استفاده شود (Martínez, Penci, Ixtaina, Ribotta, & Maestri, 2013; Ortega-Ramirez *et al.*, 2014) در این مقاله از سلنیت سدیم به‌عنوان آنتی‌اکسیدان استفاده شد. سلنیوم[6] یکی از املاح معدنی کمیاب و ضروری برای بدن می‌باشد. سلنیوم دارای ترکیبات مختلف آلی و غیرآلی می‌باشد (Stewart *et al.*, 2012). مهم‌ترین اشکال غیرآلی سلنیوم شامل سلنات سدیم، سلنیت سدیم، سلنید سدیم و کلرید سدیم می‌باشد (Combs & Combs, 1984). سلنیوم یکی از عنصرهای شیمیایی غیرفلزی و کمیاب است و در گروه ۶ جدول تناوبی قرار دارد (White *et al.*, 2004). این عنصر بیشتر به‌صورت ترکیب یافت می‌شود و به‌صورت خالص کمتر دیده می‌شود. سلنیوم به‌عنوان یک جزء مهم آنزیم پراکسیدازگلوتاتیون[7] شناخته شده است و بدن را در مقابل آسیب‌های ناشی از اکسایش رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند (Rotruck *et al.*, 1973). در بدن سلنیوم به پروتئین‌ها متصل‌شده و تشکیل سلنوپروتئین‌ها را می‌دهد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند. مهم‌ترین خاصیت سلنیوم فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن بوده و خواص دیگری ازقبیل خاصیت ضدالتهابی و خواص ضدویروسی نیز دارد (یارنظری و همکاران، ۱۳۹۵). اثرات آنتی‌اکسیدانی سلنیوم و ویتامین E ممکن است یکدیگر را تقویت کنند (Agarwal & Prabakaran, 2005). سلنیوم به‌عنوان جانشین ویتامین E نیز عمل می‌کند. پایین‌بودن مقدار سلنیوم در بدن بیماران سرطانی نشانگر آن است که کمبود دریافت سلنیوم ممکن است به سرطان‌زایی کمک کند (Djujić, Jozanov-Stankov, Milovac, Janković, & Djermanović, 2000). لذا برای محافظت بالا و افزایش بازده اثرگذاری، آن را کپسوله‌کرده سپس به روغن اضافه گردید. ریزپوشانی‌کردن می‌تواند فرایندهای تجزیه (مثل اکسایش یا هیدرولیز) را آهسته نماید و یا مانع تخریب ترکیبات تا زمان انتقال فراورده به مکان مناسب شود. بنابراین، ریزپوشانی‌کردن می‌تواند مواد زیست‌فعال حساس را پایدار نماید و از شرایط محیطی نامناسب محافظت کند و باعث افزایش دسترسی زیستی آنها گردد. میزان قابل تحمل، حدمجاز پیشنهادشده و میانگین نیاز برآوردشده برای انسان به‌ترتیب ۴۰۰، ۵۵ و ۴۵ میکروگرم سلنیوم در روز می‌باشد (Fraga, 2005). سلنیوم یک شبه‌فلز است لذا استفادهٔ بیش‌ازحدمجاز سلنیت سدیم سمی است و علائمی چون بوی تنفس سیر، کاهش رشد مو و ناخن، اختلالات سیستم عصبی و کاهش سلامتی دندان همچنین منجربه تهوع و استفراغ می‌شود (Meltzer *et al.*, 1993).

مواد و روش‌ها

اسید استیک گلایسال[8]، کلروفرم، الکل اتیلیک، پتاسیم یدید، فنول فتالئین، پارا آنیزیدین، سدیم هیدروکسید، هیدروکلریک اسید، تیوسولفات سدیم، هگزان، نشاسته و صمغ عربی از شرکت مرک (ساخت آلمان)، بوتیل هیدروکسی‌آنیزول از شرکت تیتراچم (ساخت آلمان)، اسید تیوباربیتوریک اسید از شرکت سروا (ساخت آمریکا)، سلنیت سدیم و توئین ۸۰ از شرکت سیگما (ساخت

[1] Auto-Oxidation
[2] β-Oxidation
[3] Butylated Hydroxyanisole (BHA)
[4] Butylated Hydroxytoluene (BHT)
[5] Tertiary Butylhydroquinone (TBHQ)
[6] Selenium
[7] Peroxid Glutathione
[8] Glacial Acetic Acid

آمریکا) و صمغ فارسی از ایران تهیه گردید. روغن سویا (تصفیه‌شده فاقد آنتی‌اکسیدان) نیز از کارخانه طارم زنجان خریداری شد.

روش‌ها

جهت انجام این پژوهش در ابتدا ۳۰۰ میلی‌گرم سلنیت سدیم توسط ترکیب صمغ عربی (۲۵، ۲۶، ۲۷، ۲۸ و ۲۹ درصد) و صمغ فارسی (۵، ۴، ۳، ۲ و ۱ درصد) (مجموع درصد صمغ عربی و فارسی در هر تیمار ۳۰ درصد است) به روش تبخیر حلال، توسط درصدهای مختلف خلوص اتانول (۸۰، ۸۵، ۹۰، ۹۵ و ۱۰۰ درصد) با نسبت ۱۰ به ۱ حلال به مخلوط (صمغ و سلنیت سدیم) کپسوله شد و بعد از تهیهٔ میکروکپسول‌ها، کارایی کپسولاسیون و آنالیز سایز و اندازهٔ میکروکپسول‌ها مشخص گردید. میکروکپسول‌های سلنیت سدیم ازطریق فیلتراسیون توسط کاغذ صافی از اتانول جدا شدند. مواد باقی‌مانده (کپسول‌ها) تحت شرایط یخچالی (دمای ۴ تا ۷ درجهٔ سانتی‌گراد) به مدت ۱۲ تا ۱۴ ساعت خشک شدند. محتوای سلنیومی را که در ابتدا برای تهیهٔ میکروکپسول‌های سلنیوم اضافه شد، به‌عنوان محتوای کل سلنیوم درنظرگرفته شد و سلنیوم کپسول‌شده در مواد باقی‌مانده، توسط اسپکتروفتومتر جذبی (مدل یووی ۱۹۰۰، شیمادزو، ساخت ژاپن) در ۲۴۸/۳ نانومتر ازطریق روش AOAC (۲۰۰۵) تخمین‌زده شد. کارایی ازطریق رابطهٔ (۱) اندازه‌گیری شد (Gupta, Chawla, Arora, Tomar, & Singh, 2015):

رابطهٔ (۱)

کارایی کپسول = سلنیوم کل/سلنیوم باندشده ×۱۰۰

برای آنالیز اندازهٔ ذرات، میکروکپسول‌ها روی اسلایدهای شیشه‌ای قرار داده شدند و ۱ یا ۲ قطره آب‌مقطر برای پخش مناسب روی آنها چکانده شد. این میکروکپسول‌ها با میکروسکوپ نوری (E200، Nikon، ساخت آمریکا)، (با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ برابر) مشاهده و اندازهٔ میکروکپسول‌ها با استفاده از نرم‌افزار Image J نسخهٔ ۱۰ تخمین‌زده شد.

شرایط بهینه برای میکروکپسوله‌کردن سلنیت سدیم با استفاده از پروفایل صمغ عربی و درصد خلوص اتانول با استفاده از تکنیک بهینه‌سازی عددی انجام شد سپس با کمک روش سطح پاسخ (RSM[1])، بهینه‌سازی براساس بالاترین راندمان کپسولاسیون و پایین‌ترین اندازهٔ ذرات، صورت گرفت. دامنهٔ مقادیر به‌دست‌آمده برای فرایند بهینه‌سازی شامل صمغ عربی (۲۵ تا ۲۹ درصد)، درصد خلوص اتانول (۸۰ تا ۱۰۰ درصد)، کارایی کپسولاسیون (۹۰ تا ۹۴/۶۳ درصد) و اندازهٔ ذرات (۳۷/۵ تا ۵۰ میکرومتر) بود که دو فرمول مطلوب‌تر که بالاترین درصد مطلوبیت[2] را داشتند، انتخاب شد. میکروکپسول‌های سلنیت سدیم با دو فرمول بهینه، شامل بهینهٔ اول (غلظت صمغ عربی ۲۷ درصد، صمغ فارسی ۳ درصد، درصد خلوص اتانول ۹۴ درصد) و بهینهٔ دوم (غلظت صمغ عربی ۲۹ درصد، صمغ فارسی ۱ درصد، خلوص اتانول ۸۹ درصد)، (طبق دستورالعمل FDA میزان سلنیوم مصرفی مجاز روزانه ۵۵-۴۰ میکروگرم بوده (Fraga, 2005) و براساس محاسبه‌های انجام‌شده میزان روغن حاوی سلنیوم مجاز روزانه ۱۴ گرم می‌باشد) به مقدار ۱۸۰/۶ پی‌پی‌ام نمونهٔ بهینهٔ یک و دو (حاوی ۳/۹۲ پی‌پی‌ام سلنیوم)، آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA (۲۰۰ پی‌پی‌ام) و سلنیت سدیم فاقد کپسول (حاوی ۸/۶ پی‌پی‌ام سلنیوم) به روغن سویای فاقد آنتی‌اکسیدان اضافه شدند و در بازهٔ زمانی ۴۶ روزه در دمای ۵۵ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری و اندیس پراکسید، تیوباربیتوریک اسید، آنیزیدین، توتوکس[3]، اسیدیته و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها با روغن سویای فاقد آنتی‌اکسیدان مقایسه شد.

به‌منظور جلوگیری از ته‌نشین‌شدن میکروکپسول‌ها در روغن، از توئین ۸۰ استفاده شد. به‌این‌منظور میکروکپسول‌ها را با چند قطره آب حل‌کرده و سپس ۱۸۰/۶ پی‌پی‌ام توئین ۸۰ و مقداری روغن به آنها اضافه شد و سپس به مدت ۵ دقیقه روی شیکر قرار گرفته و به کل روغن اضافه شدند.

آزمون‌های شیمیایی روغن

برای اندازه‌گیری عدد پراکسید از روش Firestone (۱۹۹۴) و Egan، Kirk و Sawyer (۱۹۹۷) استفاده شد. آزمون تیوباربیتوریک اسید نیز طبق روش Egan و همکاران (۱۹۹۷) انجام شد، اندیس آنیزیدین مطابق با

[1] Response Surface Methodology
[2] Desirability
[3] Totox

روش Tompkins و Perkins (۱۹۹۹) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۵۰ نانومتر ارزیابی شد. اندیس توتوکس مطابق با رابطهٔ ارائه‌شدهٔ Wanasundara و Shahidi (۲۰۰۵) سنجیده شد، اسیدیته نیز طبق استاندارد ملی ایران به شمارهٔ ۴۱۷۹ (سازمان ملی استاندارد ایران [ISIRI]، ۱۳۸۷) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تمام نمونه‌ها طبق رابطهٔ ارائه‌شده توسط قنبری، قوامی و صفافر (۱۳۸۵) اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری عدد پراکسید، ۵ گرم روغن در ارلن وزن شده و ۳۰ میلی‌لیتر محلول استیک اسید-کلروفرم (با نسبت ۲:۳) به آن اضافه شد و پس از آن به محلول به‌دست‌آمده ۰/۵ میلی‌لیتر محلول پتاسیم یدور اشباع اضافه شد و ۲ دقیقه در تاریکی قرار گرفت. سپس ۳۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر شناساگر نشاسته به آن اضافه گردید و تیتراسیون با تیوسولفات ۰/۰۱ نرمال تا ازبین‌رفتن رنگ آبی ادامه یافت. همراه با نمونه‌ها، تیتراسیون شاهد (تمام محلول‌ها به‌جزء روغن) نیز انجام شد.

برای اندازه‌گیری تیوباربیتوریک اسید مقدار ۰/۲ گرم از نمونه به یک بالن حجمی ۲۵ میلی‌لیتری انتقال یافته و با ۱-بوتانول به حجم رسانده شد. سپس ۵ میلی‌لیتر از محلول فوق به لوله‌های خشک درب‌دار منتقل و به آن ۵ میلی‌لیتر معرف تیوباربیتوریک اسید افزوده شد. لوله‌های درب‌دار در حمام آبی با دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت قرار گرفت. سپس مقدار جذب نمونه‌ها در ۵۳۰ نانومتر در مقابل شاهد (آب‌مقطر) خوانده شد.

برای اندازه‌گیری اندیس آنیزیدین ۳ گرم روغن در ارلن ۲۵ میلی‌لیتری توزین‌شده و با هگزان به حجم رسانده شد، سپس جذب آن در ۳۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و از هگزان به‌عنوان شاهد استفاده گردید. ۵ میلی‌لیتر از محلول چربی در لولهٔ آزمایش ۱ و ۵ میلی‌لیتر حلال در لولهٔ آزمایش ۲ ریخته شد. ۱ میلی‌لیتر معرف آنیزیدین به ۲ لولهٔ آزمایش اضافه کرده، پس از هم‌زدن و بعد از ۱۰ دقیقه نگهداری در محیط تاریک، جذب نوری در ۳۵۰ نانومتر خوانده شد. از محتویات لولهٔ ۲ به‌عنوان شاهد استفاده شد. شاخص توتوکس از حاصل جمع دو برابر اندیس پراکسید با اندیس آنیزیدین به‌دست می‌آید.

برای اندازه‌گیری اسیدیته ۱۰ گرم روغن در ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری توزین و به آن ۵۰ میلی‌لیتر اتانول اضافه گردید. سپس ۱ میلی‌لیتر محلول فنول فتالئین ۱ درصد به آن اضافه کرده و با سود ۰/۱ نرمال تا تشکیل رنگ صورتی کم‌رنگ تیتر شد.

آنالیز آماری

برای میکروکپسوله‌کردن ۲ فاکتور A شامل میزان درصد صمغ عربی (۲۵، ۲۶، ۲۷، ۲۸ و ۲۹ درصد) و صمغ فارسی متناظر آن به‌ترتیب (۵، ۴، ۳، ۲ و ۱ درصد)، و فاکتور B درصد خلوص اتانول (۸۰، ۸۵، ۹۰، ۹۵ و ۱۰۰ درصد) درنظرگرفته شد و برای تحلیل نتایج از روش سطح پاسخ و طرح مرکب مرکزی و α=۲ با ۶ نقطه مرکزی استفاده شد. برای آزمون‌های روغن، ۲ عدد از فرمول‌های با درصد مطلوبیت بالاتر انتخاب شد و به‌همراه نمونهٔ فاقد کپسول، نمونهٔ فاقد آنتی‌اکسیدان و نمونهٔ حاوی آنتی‌اکسیدان BHA به روغن سویا اضافه شد و در بازهٔ زمانی ۴۶ روزه در دمای ۵۵ درجهٔ سانتی‌گراد با روغن سویای فاقد آنتی‌اکسیدان ازنظر خواص آنتی‌اکسیدانی بررسی شدند. دما و زمان نگهداری روغن سویا در انکوباتور با کمک برنامهٔ شلف‌لایف اکسلریتور (۵۵ درجهٔ سانتی‌گراد و ۰، ۲۳ و ۴۴ روز، معادل انبارداری ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد و ۰، ۱۸۰ و ۳۶۰ روز) معادل‌سازی شد. طبق این روش تسریع‌شده، در عمل مادهٔ غذایی تحت‌تأثیر درجه‌حرارت بالا قرار گرفت و نتایج ازطریق معادلهٔ آرنیوس و Q_{10} معادل ۲ به شرایط معمولی تعمیم داده شد (Labuza & Schmidl, 1985). اختلاف بین مقادیر در نمونه‌ها با استفاده از آنالیز واریانس و آزمون LSD در سطح احتمال (P<۰/۰۵) انجام گردید. برای تحلیل نتایج از روش آماری تحلیل واریانس با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخهٔ ۱۷) استفاده گردید و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel نسخهٔ ۲۰۱۲ استفاده شد.

نتایج و بحث

مقادیر پاسخ‌های آزمون تعیین کارایی و سایز کپسولاسیون

رابطهٔ تجربی، بین متغیرهای آزمایش و درصد کارایی کپسولاسیون به‌صورت کدگذاری‌شده و به واسطهٔ استفاده از روش سطح پاسخ و براساس رابطهٔ (۲) به‌دست آمد:

رابطهٔ (۲)

$$(\text{کارایی کپسولاسیون}\ (\%))^{-3} = 1.56\times10^{-6} - 3.08\times10^{-8}(A) - 2.71\times10^{-7}(B) + 4.24\times10^{-8}(B^2) - 3.51\times10^{-8}(A^2B)$$

R-Squared=0.99

در رابطهٔ (۲)، A: درصد صمغ عربی، B: درصد خلوص اتانول، B^2: اثر درجهٔ دوم درصد خلوص اتانل و A^2B: اثر متقابل درجهٔ دوم درصد صمغ عربی و درصد خلوص اتانل است.

ضریب خطی A (درصد صمغ عربی)، B (درصد خلوص اتانول)، ضریب مربوط به اثر درجهٔ دوم B^2 و نیز ضریب مربوط به اثر متقابل A^2B تأثیر معنی‌داری بر راندمان کپسولاسیون داشتند و باتوجه‌به ضرایب آنها در رابطهٔ (۱) ضریب B تأثیر بیشتری نسبت به بقیه داشت. بررسی ضریب تبیین مدل‌ها نشان داد که این مقادیر برای رابطهٔ درجهٔ سوم به میزان ۰/۹۹ بود که نسبت به سایر مدل‌ها دارای مقادیر بالاتری بوده و بنابراین در برازش داده‌ها توان بیشتری داشته و برای پیشگویی پیشنهاد گردید. نتایج نشان داد با افزایش درصد خلوص اتانول و افزایش غلظت صمغ عربی کارایی کپسولاسیون افزایش یافت. همچنین رابطهٔ تجربی بین متغیرهای آزمایش و اندازهٔ کپسولاسیون به‌صورت کدگذاری‌شده، به واسطهٔ استفاده از روش سطح پاسخ و براساس رابطهٔ (۳) به‌دست آمد:

رابطهٔ (۳)

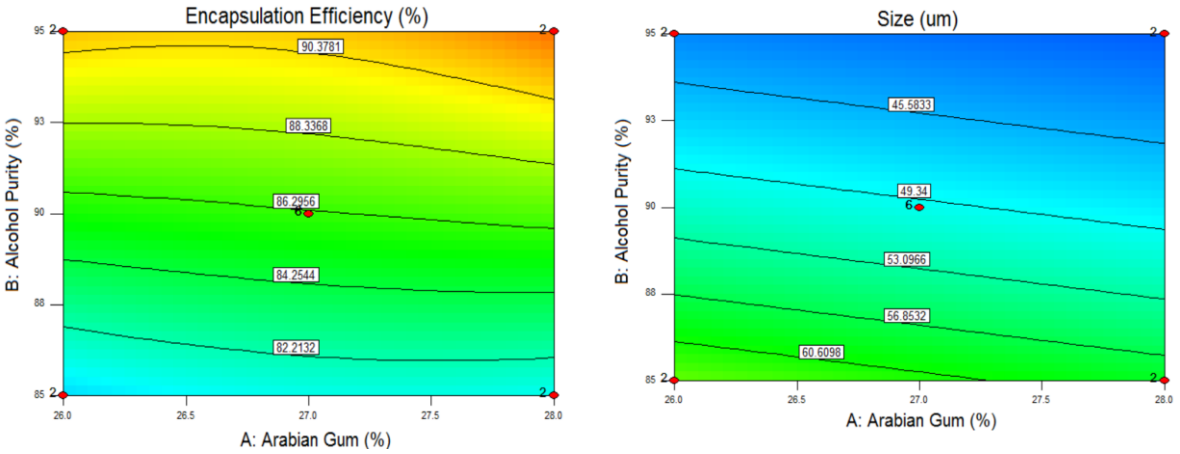
$$(\text{اندازهٔ ذرات})^{-1.87} = -4.30 \times 10^{-3} + 3.84 \times 10^{-5}(A) + 4.37 \times 10^{-5}(B)$$

R-Squared=0.97

در رابطهٔ (۳)، ضریب خطی A (درصد صمغ عربی) و B (درصد خلوص اتانول) تأثیر معنی‌داری بر اندازهٔ کپسولاسیون داشتند و باتوجه‌به ضرایب آنها در رابطهٔ (۲) ضریب B تأثیر بیشتری نسبت به بقیه داشت. بررسی ضریب تبیین مدل‌ها نشان‌دهندهٔ این بود که این مقادیر برای رابطهٔ درجه‌یک به میزان ۰/۹۷ بود که نسبت به سایر مدل‌ها دارای مقادیر بالاتری بوده، بنابراین در برازش داده‌ها توان بیشتری داشته و برای پیشگویی پیشنهاد گردید.

اعداد پیشگویی شامل راندمان (۸۹/۵ درصد) و اندازهٔ ذرات (۴۴/۶ میکرومتر) و اعداد تجربی شامل راندمان (۸۸ درصد) و اندازهٔ ذرات (۴۷ میکرومتر) برای فرمول بهینهٔ انتخابی شمارهٔ ۱ زمانی به‌دست‌آمد که غلظت صمغ عربی ۲۷ درصد، صمغ فارسی ۳ درصد و درصد خلوص اتانول ۹۴ درصد بود و همچنین اعداد پیشگویی شامل راندمان (۸۶ درصد) و اندازهٔ ذرات (۴۸/۵ میکرومتر) و اعداد تجربی شامل راندمان (۸۵/۵ درصد) و اندازهٔ ذرات (۴۹ میکرومتر) برای فرمول بهینهٔ انتخابی شمارهٔ ۲ زمانی به‌دست‌آمد که غلظت صمغ عربی ۲۹ درصد، صمغ فارسی ۱ درصد و خلوص اتانول ۸۹ درصد بود. یافته‌های این تحقیق حاکی از وجود رابطهٔ مستقیم میان غلظت صمغ عربی و درصد خلوص اتانول با راندمان کپسولاسیون بود، به‌طوری‌که با افزایش غلظت صمغ عربی و درصد خلوص اتانول راندمان کپسولاسیون افزایش یافت (شکل ۱).

درحالی‌که رابطهٔ میان غلظت صمغ عربی و درصد خلوص اتانول با اندازهٔ ذرات معکوس بود. یعنی با افزایش غلظت صمغ عربی و خلوص اتانول اندازهٔ ذرات کاهش یافت و باتوجه به ضرایب در رابطه‌های (۱) و (۲) درصد خلوص اتانول تأثیر بیشتری بر افزایش کارایی و کاهش سایز ذرات داشت.



شکل ۱- بررسی اثر متقابل درصد صمغ عربی و خلوص الکل بر میزان ابعاد و راندمان کپسولاسیون سلنیوم

بهینه‌سازی

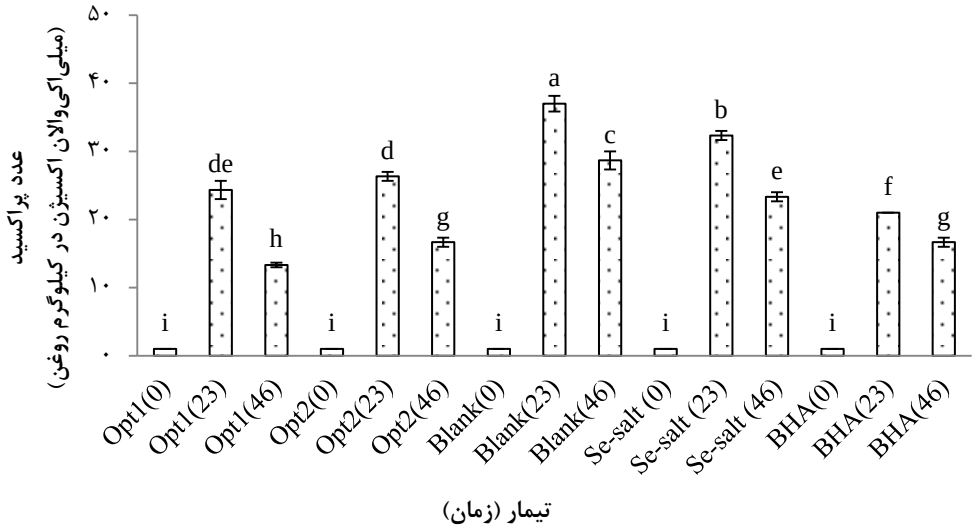
بهینه‌سازی براساس میزان صمغ عربی (۲۵، ۲۶، ۲۷، ۲۸ و ۲۹ درصد)، صمغ فارسی (۵، ۴، ۳، ۲ و ۱ درصد)، خلوص اتانول (۸۰، ۸۵، ۹۰، ۹۵ و ۱۰۰ درصد)، کارایی (۹۰-۹۴/۶۳ درصد) و سایز (۳۷/۵-۵۰ میکرومتر) طراحی شد. دو نمونهٔ بهینهٔ ۱ (صمغ عربی ۲۷ درصد، صمغ فارسی ۳ درصد و درصد خلوص اتانول ۹۴ درصد با راندمان ۸۹/۵ درصد، اندازهٔ ذرات ۴۴/۶ میکرومتر) و نمونهٔ بهینهٔ ۲ (صمغ عربی ۲۹ درصد، صمغ فارسی ۱ درصد و خلوص اتانول ۸۹ درصد با راندمان ۸۶ درصد، اندازهٔ ذرات ۴۸/۵ میکرومتر) انتخاب گردید.

اثر متقابل تیمار در زمان بر ویژگی‌های کیفی روغن سویا

عدد پراکسید

عدد پراکسید شاخصی است که نشان‌دهندهٔ مرحلهٔ آغازین اکسایش می‌باشد. این شاخص غلظت هیدروپراکسیدها و پراکسیدها را نشان می‌دهد که ترکیباتی ناپایدار هستند و می‌توانند به آسانی اسیدهای چرب را به ترکیباتی با وزن مولکولی کم نظیر الکل، آلدئید، اسیدهای چرب آزاد و کتون‌ها، شکسته و موجب فساد اکسایشی روغن شوند (Sun-Waterhouse, Penin-Peyta, Wadhwa, & Waterhouse, 2012؛ محمدی، فاضل و خسروی، ۱۳۹۵).

همان‌طورکه در شکل (۲) مشاهده می‌شود کلیهٔ نمونه‌های روغن در روز صفر، پایین‌ترین عدد پراکسید را نشان داده‌اند. میزان پراکسید از روز صفر تا روز ۲۳ دورهٔ نگهداری، یک روند افزایشی را نشان‌داده است که نشان‌دهندهٔ آغاز فرایند اکسایش و تجمع ترکیبات حاصل از آنها مانند پراکسیدهاست و پس از آن، تا روز ۴۶ روند کاهشی داشته است. ازآنجایی‌که مالون آلدئیدها از تجزیهٔ هیدروپراکسیدها حاصل می‌گردد، پس از گذشت مدت زمانی معین، که مقدار محصولات اولیهٔ اکسایش افزایش یافت، پراکسیدها و هیدروپراکسیدها شروع به تجزیه‌شدن کرده و بنابراین عدد پراکسید کاهش می‌یابد (کبیری و سیدالنگی، ۱۳۹۴). نمونه‌های روغن دارای سلنیت سدیم کپسوله‌شده در مقایسه با نمونهٔ روغن حاوی سلنیت سدیم کپسوله‌نشده، عدد پراکسید پایین‌تری را نشان داد، که علت آن را می‌توان به حفظ پایداری آنتی‌اکسیدان درون کپسول نسبت داد. چرا که کپسول موجب آزادسازی کنترل‌شدهٔ آنتی‌اکسیدان در طی دورهٔ نگهداری می‌شود، درحالی‌که آنتی‌اکسیدان در حالت آزاد بیشتر در معرض عوامل اکسیدکننده قرارگرفته و خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود را زودتر از دست می‌دهد.



شکل ۲- اثر متقابل تیمار در زمان نگهداری (روز) بر میزان پراکسید روغن سویا (انکوبه‌شده در ۵۵ درجهٔ سانتی‌گراد)

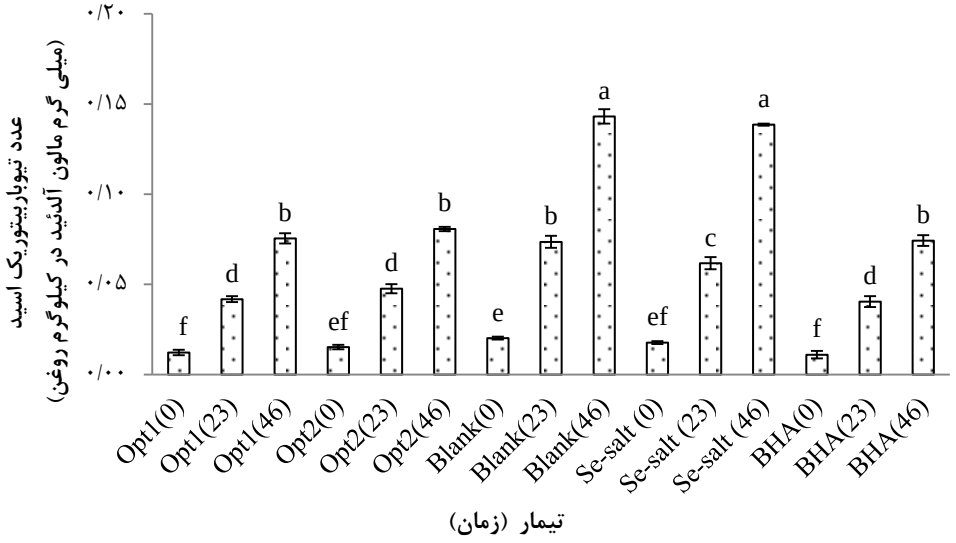
(تیمار Opt_1: (۲۷درصد صمغ عربی، ۳ درصد صمغ فارسی، ۹۴ درصد خلوص اتانول، با غلظت *۱۸۰/۶ پی‌پی‌ام (حاوی ۳/۹۲ پی‌پی‌ام سلنیوم))، تیمار Opt_2: (۲۹ درصد صمغ عربی، ۱ درصد صمغ فارسی، ۸۹ درصد خلوص اتانول، با غلظت *۱۸۰/۶ پی‌پی‌ام (حاوی ۳/۹۲ پی‌پی‌ام سلنیوم))، تیمار Se-salt (Na_2SeO_3): نمک سلنیت سدیم با غلظت ۸/۶ پی‌پی‌ام (حاوی ۳/۹۲ پی‌پی‌ام سلنیوم)، تیمار BHA: آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل‌هیدروکسی آنیزول با غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام و(Antioxidant free) Blank: روغن سویای فاقد آنتی‌اکسیدان)

در تحقیقی مشابه Ben-Ali، Dhouib، Damak و Allouche (۲۰۱۴) گزارش کردند که عصارهٔ متانولی ریحان اثر آنتی‌اکسیدانی خوبی بر پایداری روغن‌آفتاب‌گردان در طول ۲۴ روز دورهٔ نگهداری داشته و موجب تأخیر در تشکیل هیدروپراکسیدها شده است و با افزایش غلظت عصاره، کاهش بیشتری در عدد پراکسید مشاهده نمودند. عدد پراکسید نمونهٔ شاهد تا روز ۲۰ روند افزایشی و پس از آن تا روز ۲۴ روند کاهشی نشان داده است.

در تحقیقی Batool و همکاران (۲۰۱۸) تأثیر ویتامین E و سلنیوم بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و اکسایش چربی پنیر چدار را بررسی کردند و نتایج آنها نشان داد سلنیوم و ویتامین E به‌طور قابل‌توجهی اکسایش لیپیدها را درحین‌رسیدن پنیر مهار می‌کنند. سلنیوم و ویتامین E می‌توانند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در تسریع رسیدن پنیر استفاده شوند. در این تحقیق مقدار پراکسید و غلظت آنتی‌اکسیدان‌ها به‌طور کامل در ارتباط بودند.

عدد تیوباربیتوریک اسید

تعیین عدد تیوباربیتوریک اسید، میزان مالون‌آلدئید را که محصول جانبی مرحلهٔ ثانویهٔ اکسایش می‌باشد، نشان می‌دهد. میزان عدد تیوباربیتوریک اسید، تحت‌تأثیر مدت زمان دورهٔ نگهداری قرار می‌گیرد و با افزایش زمان دورهٔ نگهداری، افزایش می‌یابد (محمدی و همکاران، ۱۳۹۵). باتوجه‌به شکل (۳)، میزان عدد تیوباربیتوریک اسید از روز صفر تا روز ۴۶ دورهٔ نگهداری روند افزایشی داشت. زمانی که میزان پراکسید به حد معینی برسد، تغییرات مختلفی ایجاد می‌شود و مواد فرار آلدئیدی و کتونی حاصل از تجزیهٔ هیدروپراکسیدها تولید می‌شوند که در ایجاد بو و طعم نامطبوع مواد چرب، مؤثر می‌باشند و باعث بالارفتن عدد تیوباربیتوریک اسید می‌شوند. علاوه‌بر این، آنتی‌اکسیدان‌ها طی مدت زمان معینی فعال باقی‌مانده و با گذشت زمان به تدریج از درجهٔ تأثیر آنها کاسته می‌شود که دلیل آن می‌تواند نگهداری نمونه در شرایط اکسایش و حرارت باشد. ازاین‌رو با افزایش زمان دورهٔ نگهداری، میزان عدد تیوباربیتوریک اسید افزایش می‌یابد (Farag, Mahmoud, & Basuny, 2007؛ کبیری و سیدالنگی، ۱۳۹۴). اگرچه گاهی با گذشت زمان دورهٔ نگهداری، آنتی‌اکسیدان (سلنیت سدیم) می‌تواند باعث بلوکه‌شدن مولکول‌های آنتی‌اکسیدان و حتی اثرات پراکسیدانی گردد (Armando, Maythe, & Beatriz, 1998).



شکل ۳- اثر متقابل تیمار در زمان نگهداری (روز) بر میزان عدد تیوباربیتوریک اسید روغن سویا (انکوبه‌شده در ۵۵ درجهٔ سانتی‌گراد)

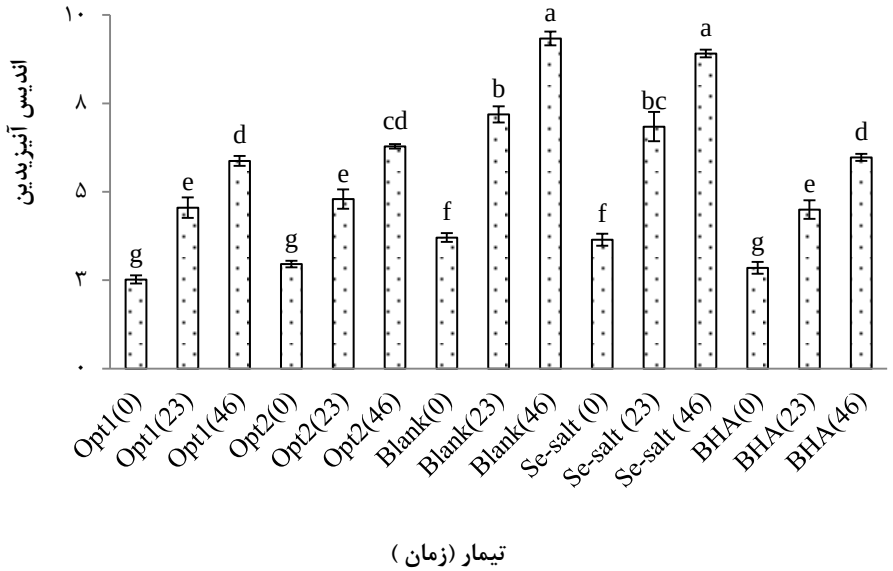
(تیمار Opt_1: (۲۷درصد صمغ عربی، ۳ درصد صمغ فارسی، ۹۴ درصد خلوص اتانول، با غلظت *۱۸۰/۶ پی‌پی‌ام (حاوی ۳/۹۲ پی‌پی‌ام سلنیوم))، تیمار Opt_2: (۲۹ درصد صمغ عربی، ۱ درصد صمغ فارسی، ۸۹ درصد خلوص اتانول، با غلظت *۱۸۰/۶ پی‌پی‌ام (حاوی ۳/۹۲ پی‌پی‌ام سلنیوم))، تیمار Se-salt (Na_2SeO_3): نمک سلنیت سدیم با غلظت ۸/۶ پی‌پی‌ام (حاوی ۳/۹۲ پی‌پی‌ام سلنیوم)، تیمار BHA: آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل‌هیدروکسی آنیزول با غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام و(Blank (Antioxidant free: روغن سویای فاقد آنتی‌اکسیدان)

کبیری و سیدالنگی (۱۳۹۴) با بررسی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف برگ گیاه بادرنجبویه حاصل از دو روش استخراج غرقابی و استخراج به کمک امواج مایکروویو و تأثیر آن بر پایداری اکسایشی روغن سویا نشان دادند که با افزایش زمان دورهٔ نگهداری، میزان عدد تیوباربیتوریک اسید افزایش می‌یابد. سلنیوم و ویتامین E به‌طور قابل‌توجهی اکسایش لیپیدها و بخصوص تولید محصولات ثانویهٔ اکسایش مانند مالون‌دی‌آلدئید را درحین‌رسیدن پنیر مهار کرد. به‌طوری‌که از سلنیوم و ویتامین E به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در تسریع رسیدن پنیر استفاده شدند. مقدار تولید مالون‌دی‌آلدئید و غلظت آنتی‌اکسیدان ترکیبی ویتامین E و سلنیوم رابطهٔ غیرمستقیم داشتند (Batool *et al.*, 2018).

اندیس آنیزیدین

اندازه‌گیری اندیس آنیزیدین میزان محصولات ثانویه حاصل از اکسایش ازجمله آلفا و بتا-آلدئیدهای[1] غیراشباع را نشان می‌دهد (Sun-Waterhouse *et al.*, 2012). براساس شکل (۴)، کلیهٔ نمونه‌های روغن در روز صفر کمترین اندیس آنیزیدین را داشتند. میزان اندیس آنیزیدین از روز صفر تا روز ۴۶ دورهٔ نگهداری، یک روند افزایشی نشان داد. با افزایش زمان دورهٔ نگهداری، روند اکسایش شدت‌یافته و مقدار محصولات ثانویهٔ اکسایش افزایش می‌یابند.

بالاترین اندیس آنیزیدین در نمونهٔ شاهد (فاقد آنتی‌اکسیدان) در روز ۴۶ مشاهده شد. در میان تیمارها، نمونهٔ دارای آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل هیدروکسی‌آنیزول و نمونه‌های حاوی سلنیت سدیم کپسوله‌شده (بهینهٔ انتخابی اول و دوم) پایین‌ترین اندیس آنیزیدین را در روز ۲۳ داشتند.



شکل ۴- اثر متقابل تیمار در زمان نگهداری (روز) بر میزان اندیس آنیزیدین روغن سویا (انکوبه‌شده در ۵۵ درجهٔ سانتی‌گراد)

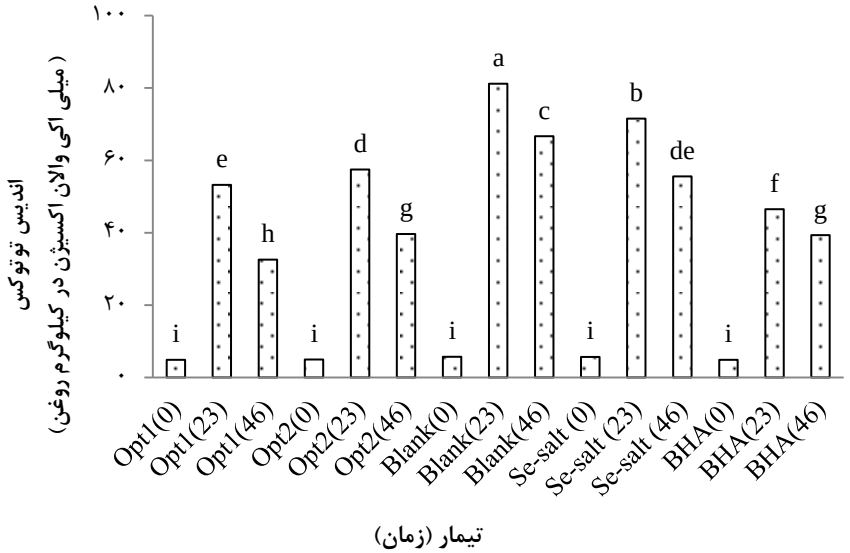
(تیمار Opt_1: (۲۷درصد صمغ عربی، ۳ درصد صمغ فارسی، ۹۴ درصد خلوص اتانول، با غلظت *۱۸۰/۶ پی‌پی‌ام (حاوی ۳/۹۲ پی‌پی‌ام سلنیوم))، تیمار Opt_2: (۲۹ درصد صمغ عربی، ۱ درصد صمغ فارسی، ۸۹ درصد خلوص اتانول، با غلظت *۱۸۰/۶ پی‌پی‌ام (حاوی ۳/۹۲ پی‌پی‌ام سلنیوم))، تیمار Se-salt (Na_2SeO_3): نمک سلنیت سدیم با غلظت ۸/۶ پی‌پی‌ام (حاوی ۳/۹۲ پی‌پی‌ام سلنیوم)، تیمار BHA: آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل‌هیدروکسی آنیزول با غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام و(Blank (Antioxidant free: روغن سویای فاقد آنتی‌اکسیدان)

[1] α and β-Aldehydes

اندیس توتوکس

شاخص توتوکس نشان‌دهندهٔ اکسایش کامل است و شامل فراورده‌های اولیه و ثانویهٔ اکسایش می‌باشد (Sun-Waterhouse *et al*., 2012). این اندیس طبق فرمولی از عدد پراکسید و اندیس آنیزیدین به‌دست می‌آید و تغییرات آن تقریباً مشابه این دو اندیس است (فتح الهی و کرامت، ۱۳۹۶). همان‌طورکه نتایج نشان می‌دهد، روند تغییرات اندیس توتوکس تقریباً مشابه روند تغییرات عدد پراکسید بوده است.

باتوجه‌به نتایج شکل (۵)، کلیهٔ نمونه‌های روغن در روز صفر، پایین‌ترین اندیس توتوکس را نشان داده‌اند. میزان اندیس توتوکس از روز صفر تا روز ۲۳ دورهٔ نگهداری، یک روند افزایشی و پس از آن تا روز ۴۶ روند کاهشی داشت.



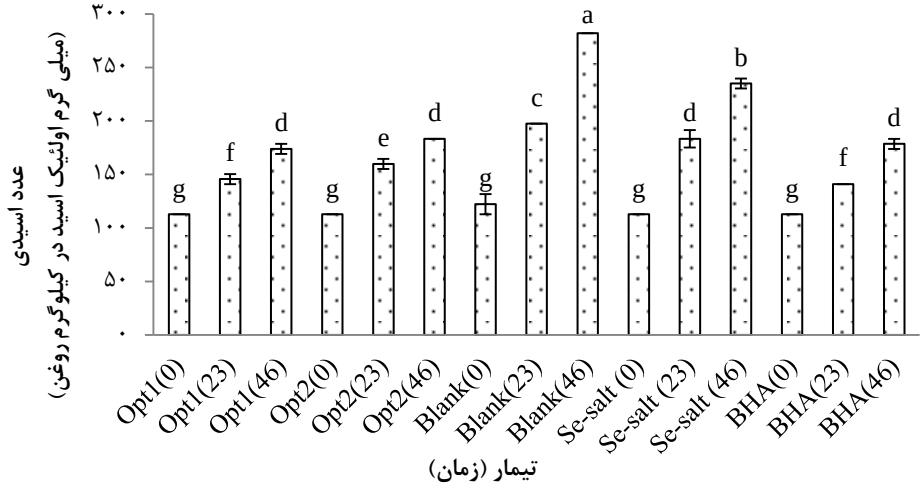
شکل ۵- اثر متقابل تیمار در زمان نگهداری (روز) بر میزان اندیس توتوکس روغن سویا (انکوبه‌شده در ۵۵ درجهٔ سانتی‌گراد)

(تیمار Opt_1: (۲۷درصد صمغ عربی، ۳ درصد صمغ فارسی، ۹۴ درصد خلوص اتانول، با غلظت *۱۸۰/۶ پی‌پی‌ام (حاوی ۳/۹۲ پی‌پی‌ام سلنیوم))، تیمار Opt_2: (۲۹ درصد صمغ عربی، ۱ درصد صمغ فارسی، ۸۹ درصد خلوص اتانول، با غلظت *۱۸۰/۶ پی‌پی‌ام (حاوی ۳/۹۲ پی‌پی‌ام سلنیوم))، تیمار Se-salt (Na_2SeO_3): نمک سلنیت سدیم با غلظت ۸/۶ پی‌پی‌ام (حاوی ۳/۹۲ پی‌پی‌ام سلنیوم)، تیمار BHA: آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل‌هیدروکسی آنیزول با غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام و(Blank (Antioxidant free: روغن سویای فاقد آنتی‌اکسیدان)

عدد اسیدی

عدد اسیدی نشان‌دهندهٔ شروع اکسایش روغن و از شاخص‌های مهم کیفی روغن در شرایط ذخیره‌سازی می‌باشد. باتوجه‌به شکل (۶)، کلیهٔ نمونه‌های روغن در روز صفر، پایین‌ترین عدد اسیدی را نشان دادند. میزان عدد اسیدی از روز صفر تا روز ۴۶ دورهٔ نگهداری، یک روند افزایشی داشت. زیرا با افزایش زمان ذخیره‌سازی، روند اکسایش شدت می‌یابد. فدوی و کوهساری (۱۳۹۴) با بررسی روغن سویا پس از افزودن عصارهٔ برگ سبزوسیاه‌شدهٔ پرتقال، نشان دادند که اسیدیتهٔ تمامی تیمارها در مدت نگهداری، کاهش می‌یابند و عصاره‌ها توانایی جلوگیری از افزایش اسیدیته را دارند.

آنتی‌اکسیدان‌های معدنی، با رادیکال‌های آزاد حاصل از اکسایش لیپیدها واکنش نشان‌داده و موجب قطع واکنش‌های زنجیره‌ای و افزایش زمان اکسایش در مقایسه با نمونهٔ شاهد فاقد آنتی‌اکسیدان گردید و ازآنجایی‌که اسیدهای آلی از محصولات نهایی اتوکسیداسیون چربی‌های غیراشباع است (Batool *et al*., 2018) لذا شاخص اسیدی به‌طور معنی‌داری در مقایسه با نمونهٔ شاهد بدون آنتی‌اکسیدان و نمک سلنیت سدیم کاهش یافت و مشابه با نمونهٔ حاوی آنتی‌اکسیدان بوتیل هیدروکسی‌آنیزول بود.



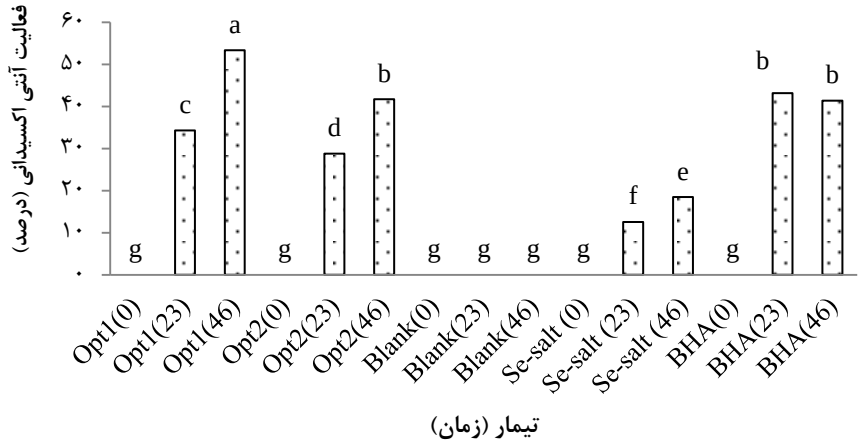
شکل ۶- اثر متقابل تیمار در زمان نگهداری (روز) بر میزان عدد اسیدی روغن سویا (انکوبه‌شده در ۵۵ درجهٔ سانتی‌گراد)

(تیمار Opt_1: (۲۷درصد صمغ عربی، ۳ درصد صمغ فارسی، ۹۴ درصد خلوص اتانول، با غلظت *۱۸۰/۶ پی‌پی‌ام (حاوی ۳/۹۲ پی‌پی‌ام سلنیوم))، تیمار Opt_2: (۲۹ درصد صمغ عربی، ۱ درصد صمغ فارسی، ۸۹ درصد خلوص اتانول، با غلظت *۱۸۰/۶ پی‌پی‌ام (حاوی ۳/۹۲ پی‌پی‌ام سلنیوم))، تیمار Se-salt (Na_2SeO_3): نمک سلنیت سدیم با غلظت ۸/۶ پی‌پی‌ام (حاوی ۳/۹۲ پی‌پی‌ام سلنیوم)، تیمار BHA: آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل‌هیدروکسی آنیزول با غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام و(Blank (Antioxidant free: روغن سویای فاقد آنتی‌اکسیدان)

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

مطابق با نتایج شکل (۷)، کلیهٔ نمونه‌ها در روز صفر، فاقد فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند. از روز ۲۳ تا ۴۶، یک روند افزایشی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی کلیهٔ نمونه‌ها به‌جز نمونهٔ شاهد، مشاهده گردید. همان‌طورکه عنوان کردند، مهاجرت آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل هیدروکسی‌تولوئن به داخل روغن نارگیل در دمای ۲۳ درجهٔ سانتی‌گراد حتی پس از گذشت ۱۰۰ روز نیز متوقف نمی‌شود.

دراین‌راستا گزارش کردند که سیر به‌دلیل غنی‌بودن از سلنیوم و ترکیبات ارگانوسولفور، دارای فعالیت بازدارندگی رادیکال آزاد دی‌فنیل پیکریل هیدرازیل هیدرات (DPPH[1]) و همچنین بازداری اکسایش اسید لینولئیک می‌باشد.



شکل ۷- اثر متقابل تیمار در زمان نگهداری (روز) بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن سویا (انکوبه‌شده در ۵۵ درجهٔ سانتی‌گراد)

(تیمار Opt_1: (۲۷درصد صمغ عربی، ۳ درصد صمغ فارسی، ۹۴ درصد خلوص اتانول، با غلظت *۱۸۰/۶ پی‌پی‌ام (حاوی ۳/۹۲ پی‌پی‌ام سلنیوم))، تیمار Opt_2: (۲۹ درصد صمغ عربی، ۱ درصد صمغ فارسی، ۸۹ درصد خلوص اتانول، با غلظت *۱۸۰/۶ پی‌پی‌ام (حاوی ۳/۹۲ پی‌پی‌ام سلنیوم))، تیمار Se-salt (Na_2SeO_3): نمک سلنیت سدیم با غلظت ۸/۶ پی‌پی‌ام (حاوی ۳/۹۲ پی‌پی‌ام سلنیوم)، تیمار BHA: آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل‌هیدروکسی آنیزول با غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام و(Blank (Antioxidant free: روغن سویای فاقد آنتی‌اکسیدان)

[1] 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate

نتیجه‌گیری

استفاده از تکنیک ریزپوشانی با محافظت از آنتی‌اکسیدان، منجربه‌افزایش توان ضداکسایشی سلنیت سدیم شد و همچنین با رهایش کنترل‌شدهٔ سلنیت سدیم از کپسول به درون روغن، باعث افزایش پایداری اکسیداتیو روغن طی مدت زمان نگهداری شد. همچنین با حضور سلنیت سدیم میکروکپسوله‌شده و آنتی‌اکسیدان سنتزی (BHA) در روغن سویا، عدد پراکسید، عدد تیوباربیتوریک اسید، اندیس آنیزیدین، اندیس توتوکس و عدد اسیدی کاهش و فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن سویا افزایش یافت.

آنتی‌اکسیدان سنتزی (BHA) نسبت به نمونه‌های بهینه، بهینهٔ اول و دوم ازنظر عدد پراکسید، اندیس توتوکس و عدد اسیدی و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در روز ۲۳ نگهداری روغن سویا در دمای ۵۵ درجهٔ سانتی‌گراد ارجحیت داشت و نمونهٔ بهینهٔ اول نسبت به نمونهٔ بهینهٔ دوم و آنتی‌اکسیدان سنتزی (BHA) از حیث عدد پراکسید و اندیس توتوکس و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در روز ۴۶ نگهداری روغن در دمای ۵۵ درجهٔ سانتی‌گراد برتری داشت. میان نمونه‌های بهینهٔ اول و دوم و آنتی‌اکسیدان سنتزی (BHA) از حیث عدد تیوباربیتوریک اسید و اندیس آنیزیدین در روزهای ۲۳ و ۴۶ و ازنظر عدد اسیدی در روز ۴۶ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). در مجموع باتوجه‌به اینکه سلنیت سدیم، کاربرد زیادی در درمان بسیاری از بیماری‌ها دارد و خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن هم به اثبات رسیده است و همچنین با درنظرگرفتن اثرات نامطلوب آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی روی سلامتی، می‌توان آنتی‌اکسیدان سلنیت سدیم میکروکپسوله‌شده را به‌عنوان جایگزین مناسب آنتی‌اکسیدان سنتزی (BHA) جهت حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری روغن سویا به‌کار برد.

منابع

حسینی‌مظهری، س.، کبریتی، م.، غیاثی‌طرزی، ب.، گرامی، ع. و اسفندیاری، چ. (۱۳۹۱). بررسی میزان ضایعات و زائدات در واحدهای تصفیه روغن خام استان تهران. *علوم غذایی و تغذیه*، ۹(۲(۳۵))، ۴۷-۵۶.

دباغها، م. و وثوقی، م. (۱۳۹۰). استخراج آبی آنزیمی روغن از دانه روغنی سویا. *مجله علوم و صنایع غذایی*، ۸(۲۸ (ویژه نامه))، ۷۳-۸۱.

سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۷). روغن‌ها و چربی‌های گیاهی و حیوانی-اندازه‌گیری مقدار پراکسید به روش یدومتری-تعیین نقطهٔ پایانی به طریق چشمی (استاندارد ملی ایران، شمارهٔ ۴۱۷۹، تجدیدنظر اول)، برگرفته از http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=44376

سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۹۵). روغن‌ها و چربی‌های گیاهی و حیوانی-اندازه‌گیری پایداری اکسیداتیور (روش تسریع شده)-روش آزمون. (استاندارد ملی ایران، شمارهٔ ۳۷۳۴، تجدیدنظر دوم)، برگرفته از http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=47422

فتح الهی، ا. و کرامت، ج. (۱۳۹۶-اردیبهشت). اثر آنتی اکسیدانی اسانس چغندر و هویج در پایداری روغن سویا. ارائه شده در اولین همایش ملی تکنولوژی های نوین در علوم و صنایع غذایی و گردشگری ایران، کرمان، ۲۲ اردیبهشت. https://www.civilica.com/Paper-FITI01-FITI01_037.html

فدوی، ا. و کوهساری، ه. (۱۳۹۴). اثرات ضد اکسندگی و ضد میکروبی عصاره برگ درخت پرتقال (*Citrus sinensis*) کشت شده در ایران و بررسی پایداری اکسیداسیون روغن سویای غنی سازی شده با آن. *فناوری‌های نوین غذایی*، ۲(۳)، ۸۵-۹۶. doi:https://doi.org/10.22104/jift.2015.128

قنبری، ر.، قوامی، م. و صفافر، ح. (۱۳۸۵). بررسی امکان تولید آنتی اکسیدان طبیعی از گیاه مریم گلی و تاثیر آن در افزایش زمان ماندگاری روغن دنبه، کانولا، پنبه دانه. علوم غذایی و تغذیه، ۳(۳)، ۱۸-۲۶.

کبیری، س. و سیدالنگی، س.ز. (۱۳۹۴). مقایسه ویژگی های آنتی اکسیدانی عصاره های مختلف برگ گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) حاصل از دو روش استخراج غرقابی و استخراج به کمک امواج مایکروویو و تاثیر آن بر پایداری اکسایشی روغن سویا. *فناوری‌های نوین غذایی*، ۲(۴)، ۲۳-۳۸. doi:https://doi.org/10.22104/jift.2015.201

محمدی، ر.، فاضل، م. و خسروی، ا. (۱۳۹۵). بررسی اثر آنتی اکسیدانی عصاره گیاه بیلهر (*Dorema aucheri*) بر پایداری روغن سویا. علوم غذایی و تغذیه، ۱۴(۱ (۵۳))، ۷۷-۸۸.

یارنظری، آ.، نوروزی‌یگانه، م.، پورصالح‌کچومثقالی، ع.، زارعی، ر.، نجفی، م. و اسفندیاری، گ. (۱۳۹۵). بررسی ارتباط برخی از ترکیبات آنتی اکسیدانی در افراد با آب سیاه (گلوکوم). مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ۲۴(۶)، ۱۲۷-۱۳۷. doi:https://doi.org/10.18869/acadpub.sjimu.24.6.127

Agarwal, A., & Prabakaran, S. A. (2005). Mechanism, measurement, and prevention of oxidative stress in male reproductive physiology. *NISCAIR-CSIR, India*, *43*(11), 963-974.

Ahmadi, F., Kadivar, M., & Shahedi, M. (2007). Antioxidant activity of Kelussia odoratissima Mozaff. in model and food systems. *Food chemistry*, *105*(1), 57-64. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.056

AOAC. (2005). Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists International (18th Ed.): 481. North Fredrick Avenue Gaithersburg, Maryland, USA.

Armando, C., Maythe, S., & Beatriz, N. P. (1998). Antioxidant activity of grapefruit seed extract on vegetable oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *77*(4), 463-467. doi: https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199808)77:4<463::AID-JSFA62>3.0.CO;2-1

Batool, M., Nadeem, M., Imran, M., Gulzar, N., Shahid, M. Q., Shahbaz, M., . . . Khan, I. T. (2018). Impact of vitamin E and selenium on antioxidant capacity and lipid oxidation of cheddar cheese in accelerated ripening. *Lipids in health and disease*, *17*(1), 79. doi:https://doi.org/10.1186/s12944-018-0735-3

Ben-Ali, M., Dhouib, K., Damak, M., & Allouche, N. (2014). Stabilization of sunflower oil during accelerated storage: use of basil extract as a potential alternative to synthetic antioxidants. *International journal of food properties*, *17*(7), 1547-1559. doi:https://doi.org/10.1080/10942912.2012.723659

Combs, G., & Combs, S. (1984). The nutritional biochemistry of selenium. *Annual review of nutrition*, *4*(1), 257-280. doi:https://doi.org/10.1146/annurev.nu.04.070184.001353

Dabbaghha, M., & Vossoughi, M. (2011). Effect of operational variables on aqueous enzymatic oil extraction from soybean. *Iranian Journal Of Food Science And Technology*, *8*(28), 73-81 . (in Persian)

Djujić ,I. S., Jozanov-Stankov, O. N., Milovac, M., Janković, V., & Djermanović, V. (2000). Bioavailability and possible benefits of wheat intake naturally enriched with selenium and its products. *Biological Trace Element Research*, *77*(3), 273-285. doi:https://doi.org/10.1385/BTER:77:3:273

Dziezak, J. (1986). Preservatives: antioxidants. The ultimate answer to oxidation. *Food technology (Chicago)*, *40*(9), 94-102 .

Egan, H., Kirk, S., & Sawyer, R. (1997). *Pearson's composition and analysis of foods* London: (9th Ed .(Longman Scientific and Technical Group Ltd. 609-634.

Eskin, M., & Robinson, D. S. (2000). *Food shelf life stability: chemical, biochemical, and microbiological changes*: CRC Press.

Fadavi, A., & Koohsari, H. (2015). Antioxidant and antimicrobial effects of orange (Citrus sinensis) leaves extract cultivated in Iran and stability investigation of soybean oil enriched with that. *Innovative Food Technologies*, *2*(3), 85-96. doi:https://doi.org/10.22104/jift.2015.128 (in Persian)

Farag, R. S., Mahmoud, E. A., & Basuny, A .M. (2007). Use crude olive leaf juice as a natural antioxidant for the stability of sunflower oil during heating. *International Journal of Food Science & Technology*, *42*(1), 107-115. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01374.x

Fathollahi, A., & Keramat, j. (2017, May). *Anti-Oxidative Activities of Carrot and Beet Extract on Soybean Oil*. Paper presented at the 1st National Conference on New Technologies in Food Science and Tourism, Sari, 11 May. https://www.civilica.com/Paper-FITI01-FITI01_037.html (in Persian)

Firestone, D. (1994). AOCS, Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. 4th Ed.: AOCS Press, Champaign.

Fraga, C. G. (2005). Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. *Molecular Aspects of Medicine*, *26*(4), 235-244. doi:https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.013

Ghanbari, R., Ghavami, M., & Safafar, H. (2006). Evaluation of the possibility of natural antioxidant production from salvia officinalis increase shelf life of oily, canola, cottonseed oil. *Journal of Food Science and Technology*, *3*, 18-26 . (in Persian)

Gupta, C., Chawla, P., Arora, S., Tomar, S. K., & Singh, A. K. (2015). Iron microencapsulation with blend of gum arabic, maltodextrin and modified starch using modified solvent evaporation method – Milk fortification. *Food Hydrocolloids, 43*, 622-628. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.07.021

Haumann, B. (1994). Antioxidants: health implications. *Inform, 5*, 242-252 .

Hoseini Mazhari, S. Z., Kebriti, M., Gerami, A., Ghiassi, B., & Esfandyari, C. (2011). Survey on the rate of losses and wastes in crude oil treatment units in Tehran province. *Food Technology & Nutrition, 9*(3-35), 47-56 . (in Persian)

Iranian National Standardization Organization. (2017). Animl and vegetable fast and oils-Determination of oxidative stability (accelerated oxidation)-test method. (ISIRI Standard No. 3734, 2nd. Revision). Retrieved from http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=47422 (in Persian)

Iranian National Standardization Organization. (2008). Animal and vegetable fast and oils-Determination of peroxide value-Iodometric (visual) endpoint determination. (ISIRI Standard No. 4179, 1st. Revision). Retrieved from http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=44376 (in Persian)

Kabiri, S., & Sayyed-Alangi, S. Z. (2015). Comparison of Antioxidant effect of different extracts from Melissa officinalis leaves with immersion and microwave-assisted extractions and its oxidative stability on soybean oil. *Innovative Food Technologies, 2*(4), 23-38. doi:https://doi.org/10.22104/jift.2015.201 (in Persian)

Labuza, T. P., & Schmidl, M. K. (1985). Accelerated shelf-life testing of foods. *Food technology (USA), 39*(9), 57-64 .

Martínez, M. L., Penci, M. C., Ixtaina, V., Ribotta, P. D., & Maestri, D. (2013). Effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of walnut oil under different storage conditions. *LWT - Food Science and Technology, 51*(1), 44-50. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.10.021

Meltzer, H. M., Bibow, K., Paulsen, I. T., Mundal, H. H., Norheim, G., & Holm, H. (1993 .(Different bioavailability in humans of wheat and fish selenium as measured by blood platelet response to increased dietary Se. *Biological Trace Element Research, 36*(3), 229-241. doi:https://doi.org/10.1007/BF02783957

Mohammadi, R., Fazel, M., & Khosravi ,E. (2017). Evaluation of the antioxidant activity of dorema aucheri extract in soybean oil. *Journal Of Food Technology And Nutrition, 14*(1-53), 77-88 . (in Persian)

Ortega-Ramirez, L. A., Rodriguez-Garcia, I., Leyva, J. M., Cruz-Valenzuela, M. R., Silva-Espinoza, B .A., Gonzalez-Aguilar, G. A., . . . Ayala-Zavala, J. F. (2014). Potential of medicinal plants as antimicrobial and antioxidant agents in food industry: a hypothesis. *Journal of food science, 79*(2), R129-R137. doi:https://doi.org/10.1111/1750-3841.12341

Rotruck, J. T., Pope, A. L., Ganther, H. E., Swanson, A. B., Hafeman, D. G., & Hoekstra, W. G. (1973). Selenium: Biochemical Role as a Component of Glutathione Peroxidase. *Science, 179*(4073), 588. doi:https://doi.org/10.1126/science.179.4073.588

Sariri, R. (2012). 10. Antioxidant activity exhibited by medicinal plants, vegetables and fruits from North of Iran. *Research Signpost, Fort PO Trivandrum, Kerala, India*, 205-236 .

Stewart, W., Bobe, G., Vorachek, W., Pirelli, G., Mosher, W., Nichols, T., . . . Hall ,J. (2012). Organic and inorganic selenium: II. Transfer efficiency from ewes to lambs1. *Journal of Animal Science, 90*(2), 577-584. doi:https://doi.org/10.2527/jas.2011-4076

Sun-Waterhouse, D., Penin-Peyta, L., Wadhwa, S. S., & Waterhouse, G. I. N. (2012 .(Storage Stability of Phenolic-Fortified Avocado Oil Encapsulated Using Different Polymer Formulations and Co-extrusion Technology. *Food and Bioprocess Technology, 5*(8), 3090-3102. doi:https://doi.org/10.1007/s11947-011-0591-x

Tompkins, C., & Perkins, E .G. (1999). The evaluation of frying oils with the p-Anisidine value. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 76*(8), 945-947. doi:https://doi.org/10.1007/s11746-999-0111-6

Wanasundara, P. K. J. P. D., & Shahidi, F. (2005). Antioxidants: Science, Technology, and Applications. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. doi:https://doi.org10.1002/047167849X.bio002

Wanasundara, U. N., & Shahidi, F. (1996). Stabilization of seal blubber and menhaden oils with green tea catechins. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 73*(9), 1183-1190. doi:https://doi.org/10.1007/BF02523382

White, P. J., Bowen, H. C., Parmaguru, P., Fritz, M., Spracklen, W. P., Spiby, R. E., . . . Broadley, M. R. (2004). Interactions between selenium and sulphur nutrition in Arabidopsis thaliana. *Journal of Experimental Botany, 55*(404), 1927-1937. doi:https://doi.org/10.1093/jxb/erh192

Yarnazai, A., Nourozi yeganeh, M., Poursaleh kachoumesghali, A., Zarei, R., Najafi, M., & Esfandiari, G. (2017). The Study of Relationships between Some Antioxidants in Patients with Glaucoma. *Ilam-University-of-Medical-Sciences, 24*(6), 127-137. doi:https://doi.org/10.18869/acadpub.sjimu.24.6.127 (in Persian)

Comparison of the Antioxidant Effect of Microencapsulated and Un-microencapsulated Sodium Selenite with Butyl Hydroxyanisole in Soybean Oil

Sepideh Moshtaghi[1], Mohammad Goli[2*]

1- MSc. Student, Department of Food Science and Technology, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
2- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
[*]Corresponding author (mgolifood@yahoo.com)

Abstract

Microencapsulation of sodium selenite (15000 ppm) was carried out, comprising the following combination: Arabic gum (25, 26, 27, 28 and 29%) and a proportionate amount of Farsi gum (1, 2, 3, 4 and 5%) and using the solvent evaporation method, where the Ethanol purity percentages (80, 85, 90, 95 and 100%) and the ratio of solvent to the mixture [gum+sodium selenite] was 10:1. Subsequently, utilizing the response surface methodology (RSM) software, the optimization was carried out based on the highest efficiency of encapsulation and the smallest size of particles. Two formulas of the optimization were chosen for this study comprised the following: the optimization formula 1 (efficiency 89.5%, particle-size 44.6μm, Arabic gum 27%, Farsi gum 3%, and the percentage of ethanol purity 94%) and the optimization formula 2 (efficiency 86%, particle-size 48.5 μm, Arabic gum 29%, Farsi gum 1%, and the percentage of ethanol purity 89%). Ultimately, the two selected optimal (180.6 ppm), the synthetic antioxidants butylated hydroxyanisole (BHA) (200 ppm), and the un-microencapsulated sodium-selenite(8.6 ppm) were added to antioxidant-free soybean oil and then were placed at the 55 °C for (0, 23 and 46 days) equal to 20 °C (0, 180 and 360 days). The oxidation indices were compared with soybean oil that did not contain anti-oxidant. A direct relation was detected between the concentration of Arabic gum and alcohol purity percentage with the efficiency of the encapsulation (94.63%). A reverse relation was detected between the concentration of Arabic gum and alcohol purity percentage with the particle-size (37.5 μm). The effective and propositional treatments are presented including, Opt1, Opt2, BHA, un-microencapsulated sodium-selenite and blank (antioxidant-free), respectively.

Keywords: Antioxidant activity, Arabic-Farsi gum, Microencapsulation, Sodium-selenite, Soybean oil

JRIFST
مقالهٔ کامل پژوهشی

www.journals.rifst.ac.ir
نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی
سال ۱۳۹۹، جلد ۹، شماره ۱، صفحات ۹۹-۱۱۲
DOI: 10.22101/JRIFST.2020.195971.1110

بررسی اثر افزودن *سودوموناس پوتیدا* بر کاهش لیمونین در تلخی‌زدایی کنسانتره‌های پرتقال و گریپ‌فروت و ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی

یاسمین محمدی[۱]، پیمان رجایی[۲*]، محمدرضا اسحاقی[۲]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا، ورامین، ایران
۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا، ورامین، ایران
* نویسندهٔ مسئول (rajaei@iauvaramin.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۰۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۱۲

واژه‌های کلیدی
تلخی
سودوموناس پوتیدا
کنسانتره پرتقال
کنسانتره گریپ‌فروت
لیمونین

چکیده

تلخی آب مرکبات یکی از مهم‌ترین عوامل کاهش بازارپسندی در تولید آب‌میوه می‌باشد. لیمونین به‌عنوان ترکیب مهم در تلخی آب مرکبات طی زمان نگهداری شناخته شده است. فرایندهای مختلفی ازجمله روش‌های شیمیایی، میکروبی و آنزیمی در کاهش این ترکیبات تلخ به‌کارگرفته شده‌اند. هدف از این تحقیق بررسی اثر باکتری *سودوموناس پوتیدا* بر کاهش میزان لیمونین و همچنین اندازه‌گیری خواص فیزیکوشیمیایی و حسی بود. باکتری *سودوموناس پوتیدا* با دو غلظت $۱۰^{۲}$ و $۱۰^{۴}$ (واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر) به‌عنوان عامل کاهش تلخی در کنسانتره پرتقال و گریپ‌فروت موردبررسی قرار گرفت. همچنین ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی کنسانتره‌ها در زمان ۱۲۰ ساعت موردسنجش قرار گرفت. آزمون با ۶ نمونه در ۴ زمان مختلف، انجام شد. آزمایش‌ها به‌صورت فاکتوریل و در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شدند. نتایج نشان داد که میزان رشد باکتری و زمان نگهداری تأثیر معنی‌داری بر کاهش میزان لیمونین، مواد جامد محلول، کدورت و pH ($P<۰/۰۵$) و افزایش میزان اسیدیته داشته است ($P\leq۰/۰۱$). بعد از پاستوریزاسیون، جهت اطمینان از عدم برگشت تلخی، نمونه‌ها به مدت ۴۵ روز در دمای ۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری‌شده و ویژگی‌های حسی در روز صفر، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ موردارزیابی قرار گرفتند. در بین نمونه‌ها، تیمارهای T_4 و T_6 بیشترین میزان کاهش لیمونین را در ۱۲۰ ساعت داشت و همچنین ازنظر پذیرش کلی و مزه امتیاز بیشتری نسبت به سایر تیمارها در زمان انبارداری ۴۵ روز داشته است و درنتیجه این دو تیمار به‌عنوان تیمار برتر شناخته شدند.

مقدمه

مصرف میوه و آب‌میوه در رژیم غذایی روزانه به‌دلیل داشتن ویتامین‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات مغذی باعث کاهش خطر ابتلابه بسیاری از بیماری‌ها ازقبیل سرطان و بیماری‌های قلبی-عروقی می‌شود. اثرات مفید میوه بر سلامت انسان‌ها به‌دلیل داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی متعدد چون ویتامین C، پلی‌فنول‌ها، فلاونوئیدها و کاروتنوئیدهاست. میوهٔ مرکبات به‌ویژه سرشار از این ترکیبات زیست فعال مفید برای سلامت بشر است (Maier & Dreyer, 1965). مصرف میوه‌ها و سبزی‌ها به‌عنوان منبع غنی از فیبر، مواد معدنی، ویتامین‌های محلول در آب، به‌ویژه ویتامین‌های C و A و دیگر مواد طبیعی

جایگاه ویژه‌ای در رژیم غذایی انسان دارند (Chong, Jin, Chow, & Saint, 2010؛ شجاع، قاسم نژاد مرتضوی، ۱۳۹۰).

آژانس استانداردهای غذایی (FSA[1]) مصرف حداقل ۵ وعده میوه‌وسبزی در روز را یکی از عوامل رژیم غذایی سالم مطرح کرده است. براساس آخرین آمار درمورد سبد غذایی ایرانیان، سرانهٔ مصرف سالیانهٔ میوه‌وسبزی، یک چهارم استاندارد جهانی است. این در حالی است که ایران در تولید ۱۰ محصول اصلی باغی دنیا مقام اول تا دهم را دارد و بیش از ۱ درصد از میوه و مرکبات جهان را تولید می‌کند (وزارت جهاد کشاورزی-معاونت برنامه‌ریزی و اقتصادی، ۱۳۹۰). این مسأله متخصصین صنایع غذایی را بر آن داشته است تا با توسعهٔ محصولات جدید حاصل از فراوری میوه‌ها و همچنین بسته‌بندی مناسب و آسان آنها، علاقهٔ مردم را نسبت به رژیم غذایی رایج خود تغییر دهند. انواع آب‌میوه، آب‌میوهٔ تغلیظ‌شده، نکتار میوه، پورهٔ میوه، نوشیدنی میوه‌های گازدار و شربت، فراورده‌های حاصل از میوه‌ها می‌باشند (سازمان ملی استاندارد ایران [ISIRI]، ۱۳۸۶)، که از بین آنها، آب‌میوه‌ها به‌دلیل میزان بالای املاح و ویتامین‌ها ضمن رفع عطش، بخش قابل‌توجهی از نیازهای تغذیه‌ای بدن انسان را تأمین می‌کنند (Liu, Zhang, Zhao, Wang, & Liao, 2016). پرتقال و گریپ‌فروت به‌عنوان پرمصرف‌ترین مرکبات دنیا شناخته شده‌اند و درصد بالایی از کل مرکبات را تشکیل می‌دهند. آب پرتقال و گریپ‌فروت یکی از مهم‌ترین تولیدات مغذی که شامل انرژی، مقدار متوسط ویتامین C، پتاسیم و غیره می‌باشد (Syed, Ghatge, Machewad, & Pawar, 2012). آب پرتقال حاوی مقادیر بالای ویتامین C، فلاونوئیدها، ترکیبات فنولیک و پکتین‌ها می‌باشند. ویتامین C آنتی‌اکسیدان اولیهٔ محلول در آب می‌باشد که از ایجاد رادیکال‌های آزاد در بدن و همین‌طور از تخریب بافت‌های بدن در درون و خارج سلول جلوگیری می‌کند (Milind & Chaturvedi, 2012). آب‌میوهٔ گریپ فروت به‌عنوان یک مکمل غذایی در درمان کمبود پتاسیم کاربرد دارد. پکتین موجود در آن عامل مؤثری در کاهش کلسترول خون و بهبود تدریجی عارضهٔ سفت و سخت‌شدن عروق خونی است. سایر آثار آن شامل القای تجمع گلبول‌های قرمز، کاهش هماتوکریت[2]ها و اثرات احتمالی ضدسرطان است. برخی فرایندها ممکن است عاملی برای کاهش بازارپسندی آب‌میوهٔ مرکبات شود. اما مهم‌ترین عامل، افزایش میزان تلخی در آب مرکبات بعد از عصاره‌گیری می‌باشد. حتی اگر آب‌میوه و یا عصاره تلخ نباشد. این تلخی توسط ترکیباتی ازقبیل لیمونین، نومیلین[3] و نارنجین در مرکباتی ازجمله پرتقال و گریپ‌فروت ایجاد می‌شود (Maier & Dreyer, 1965). این تلخی ایجادشده توسط لیمونین از ابتدای آب‌میوه‌گیری وجود ندارد اما در اثر زمان و نگهداری آب‌میوه و فرایند دمایی به تدریج گسترش می‌یابد (Maier & Beverly, 1968).

تلخی حاصل از لیمونین در انواع مختلف آب مرکبات یکی از بزرگ‌ترین مشکلات در صنایع آب‌میوه در دنیا می‌باشد و تأثیر منفی قابل‌توجهی در تولید آب‌میوه دارد. تلخی بیش‌ازحد باعث تأثیر نامطلوب در محصول نهایی شده و درنتیجه کاهش قابل‌توجه بازارپسندی توسط مصرف‌کننده را به‌همراه خواهد داشت. در کنگرهٔ سلامت غذایی در آمریکا در سال ۱۹۶۹، مرکبات منوط به ادامهٔ تحقیق‌ها دربارهٔ این مسأله می‌باشد (Premi, Lal, & Joshi, 1994).

در میوهٔ سالم میزان لیمونین موجود به مقدار ناچیز، حدوداً ۶-۵ پی‌پی‌ام می‌باشد اما حاوی پیش‌لیمونین غیرتلخ، حلقهٔ A لاکتون است. حلقهٔ A لاکتون در داخل سلول سیتوپلاسم در pH خنثی و کمی قلیایی در کیسه‌های غشایی وجود دارد. در اثر برش و یا فشردن میوه، کیسه‌های غشایی پاره‌شده و حلقه‌های A لاکتون در اثر برخورد با ترکیبات اسیدی، دمای محیط، زمان و وجود آنزیم لیمونوئید لاکتون هیدرولاز[4] به لیمونین تبدیل و باعث ایجاد تلخی می‌شود. این فرایند را تلخی تأخیری می‌نامند. همچنین شرایط غیرمعمول ازجمله یخ‌زدگی، آسیب‌دیدگی فیزیکی باعث افزایش pH اسیدی و فعالیت آنزیمی و درنتیجه افزایش میزان لیمونین در بافت میوه می‌شود. این مکانیسم و ایجاد تلخی و تولید لیمونین ۷ ساعت پس از آب‌میوه‌گیری در دمای ۱۲ درجهٔ سانتی‌گراد و یا ۴ ساعت در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد انجام می‌شود (Sharma & Bansal, 2007).

[1] Food Standards Agency (FSA)

[2] Hematocrit

[3] Nomilin

[4] Limonoid Lactone Hydrolase

تلاش‌های زیادی برای کاهش تجمع ترکیبات تلخ در طول رشد و بلوغ مرکبات تا زمان مصرف آنها ازطریق اسپری‌های شیمیایی، روش‌های زراعی و درمان پس‌ازبرداشت میوه انجام شده است. همچنین فرایندهای فیزیکوشیمیایی شامل استفاده از رزین‌ها، سایکلودکسترین[1]ها، سیلیکات منیزیم فعال، استات سلولز می‌باشند. در فرایندهای میکروبی استفاده از میکروارگانیسم‌هایی شامل *آرتروباکتر گلوبیوفرمیس*[2]، *کورینه باکتریوم فسینس*[3]، *پنی‌سیلیوم*[4]، *اسینتوباکتر*[5]، *رودوکوکوس فسینس*[6] و *سودوموناس پوتیدا*[7] موردتحقیق و مطالعه قرارگرفته‌اند. این روش‌های ازبین‌برندهٔ تلخی عمدتاً به دو گروه کلی روش‌های پیش‌برداشت و پس‌ازبرداشت تقسیم می‌شوند (Roy & Saraf, 2006).

باکتری *سودوموناس پوتیدا* جزء باکتری‌های فرصت‌طلب می‌باشد و به‌دلیل شرایط زندگی‌اش قادر به استفاده از طیف وسیعی از منابع کربنی و همچنین شکستن مولکول‌هایی که تنها تعداد کمی از میکروارگانیسم‌ها قادر به شکستن آنها هستند، می‌باشد. *سودوموناس پوتیدا* با تولید دو آنزیم «لیمونین دی‌لاکتون هیدرولاز[8]» و «لیمونین دهیدروژناز[9]» باعث شکستن لیمونین و تبدیل آن به ترکیبات غیرتلخ می‌شود (Taneja, 2007).

در سال ۱۹۸۲ طی مطالعه‌هایی در انستیتو بین‌المللی سلامت آمریکا، باکتری *سودوموناس پوتیدا* را به‌عنوان یک سویه ایمن که قابلیت کپی‌کردن ژن‌های سایر باکتری ساکن در خاک را دارد، معرفی کردند. گونه‌های این باکتری به‌دلیل عدم وجود ژن‌های خاص ازجمله آنزیم‌های هضم غشاء سلولی بدن انسان و گیاهان جزء میکروارگانیسم‌های بی‌خطر شناخته شده است (Altinok, Kayis, & Capkin, 2006).

بسیاری از پژوهش‌ها دربارهٔ تلخی‌زدایی توسط روش‌های مختلف میکروبی و فیزیکوشیمیایی در آب مرکبات انجام شده است.

پاسدار و محمدی (۱۳۹۱)، تولید و تثبیت آنزیم نارنجیناز توسط *آسپرژیلوس نایجر* جهت تلخی‌زدایی آب‌میوهٔ مرکبات را موردبررسی قرار دادند که کاهش میزان نارنجین به میزان ۳۶ درصد مشاهده شد.

Kola، Kaya، Duran و Altan (۲۰۱۰) کاهش میزان تلخی لیمونین توسط بستر تعویض یون و رزین‌های جاذب را بررسی کردند. رزین‌های پلیمر پلی‌استیرن دی‌وینیل بنزن[10] و دوکس[11] به‌طور موفقیت‌آمیزی در کاهش میزان تلخی آب پرتقال مؤثر بوده است.

Patil و Dhake (۲۰۱۴) استفاده از کپک *پنیسیلیوم پورپوروژنوم*[12] جهت تلخی‌زدایی آب مرکبات را موردبررسی قرار دادند که بیشترین میزان کاهش نارنجین به میزان ۷۴ درصد در نمونهٔ آب‌میوه به میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر با غلظت ۱/۵ گرم حجمی نارنجیناز و انکوباسیون ۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت مشاهده شده است.

Kaur، Sahota، Sharma و Sood (۲۰۱۸) به بررسی تلخی‌زدایی آب‌میوهٔ کینو[13] توسط مخمر *کلاویسپورا لاسیتانیا*[14] پرداختند. بیشترین میزان کاهش لیمونین و نارنجین در آب‌میوهٔ تلقیح‌شده که به مدت ۳۰ روز نگهداری‌شده، به‌ترتیب ۷۳ و ۷۹ درصد گزارش شده است.

باتوجه‌به موارد مطرح‌شده، در این تحقیق به بررسی کاهش میزان لیمونین موجود در کنسانترهٔ گریپ‌فروت و پرتقال توسط باکتری *سودوموناس پوتیدا* و همچنین ارزیابی حسی در زمان انبارداری به جهت برگشت و یا عدم برگشت تلخی به‌منظور تعیین مدت زمان انبارداری و مصرف آب‌میوهٔ تلخی‌زدایی‌شده پرداخته‌شده است.

مواد و روش‌ها

محل انجام آزمایش‌ها

تهیهٔ آب‌میوه و کنسانتره در آزمایشگاه تولید عصارهٔ شرکت آدونیس گل دارو و انجام آزمون‌های میکروبی، شیمیایی و ارزیابی حسی در آزمایشگاه همکار مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران واقع در کرج انجام شد.

---

[1] Cyclodextrin
[2] *Arthrobacter globiformis*
[3] *Corynebacterium facians*
[4] *Penicillium*
[5] *Acinetobactor*
[6] *Rhodococcus facians*
[7] *Pseudomonas Putida*
[8] Lemonine di lactone hydrolas
[9] Lemonine dehydrogenase
[10] Amberlite XAD-2
[11] Dowex Optipore
[12] *Penicillium Purpurogenum*
[13] Kinnow
[14] *Clausipura Lacania*

مواد اولیه

در تحقیق حاضر مواد اولیه شامل میوهٔ پرتقال و گریپ‌فروت که از بازار میوه در تهران تهیه شد. باکتری *سودوموناس پوتیدا* (شرکت مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی، ساخت ایران)، محیط کشت TSB و TSA (مرک آلمان) و همچنین دستگاه‌های مایکروویو (LG، ساخت کره‌جنوبی)، رنگ‌سنج (Konica Minolta، ساخت ژاپن)، رفراکتومتر (Atago، ساخت ژاپن)، اسپکتروفتومتر (ChromTech، ساخت تایوان)، pHمتر (Senseline، ساخت سنگاپور) و انکوباتور (Binder، ساخت آلمان) استفاده شده است.

تولید آب‌میوه و کنسانتره

گریپ‌فروت نوع رابی‌رد[1] و پرتقال نوع والنسیا[2] از میدان تره‌بار مرکزی تهران خریداری شد و به‌منظور حذف آلودگی‌های سطحی، عمل شست‌وشو انجام پذیرفت. سپس آب گریپ‌فروت و پرتقال توسط آب‌میوه‌گیری دستی استخراج و جداسازی پالپ توسط صافی استریل با منافذ کوچک‌تر از ۰/۰۲ میلی‌متر انجام شد. جهت تهیهٔ کنسانتره از دستگاه مایکروویو قابل برنامه‌ریزی به‌منظور غلیظ‌کردن آب‌میوهٔ تهیه‌شده استفاده شد. ازآنجایی‌که استفاده از توان‌های بالای ۳۵۰ وات برای حرارت‌دهی در این روش سبب مشکلاتی ازجمله ایجاد کف می‌شود (ذوقی، خسروی‌دارانی، سهراب‌وندی، عطار و علوی، ۱۳۹۸). در این تحقیق از حداکثر توان ۳۵۰ وات استفاده شد. ۵۰۰ میلی‌لیتر نمونه در بشر ریخته و در محفظهٔ داخلی مایکروویو قرار داده شد. نمونه‌ها بعد از هر ۲ دقیقه از داخل محفظهٔ مایکروویو برای اندازه‌گیری درصد مواد جامد محلول خارج‌شده (حدود ۱ دقیقه) و سپس در جای خود قرار می‌گرفت. تا زمانی که درجهٔ بریکس آب پرتقال به ۴۵ و آب گریپ‌فروت به ۴۲ برسد. کنسانتره‌های تولیدی تا زمان انجام آزمایش‌ها، در یخچال در دمای صفر الی ۳ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند (Arena, Fallico, & Maccarone, 2001).

آماده‌سازی سویه

باکتری *سودوموناس پوتیدا* (MTCC 1072) از بانک میکروارگانیسم مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران به‌صورت کشت خالص سویه تهیه شد. به‌منظور تهیهٔ مایع تلقیح در محیط (TSB[3]) کشت داده شد و سپس گرماگذاری در شیکر ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد با سرعت ۱۳۰ دو در دقیه قرار داده شد (Vaks & Lifshitz, 1981).

تهیهٔ کدورت نیم مک فارلند

برای تعیین مقدار باکتری تلقیح‌شده از روش مک فارلند استفاده شد. کدورت ایجادشده تقریباً معادل $1/5\times10^{8}$ واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر سلول باکتری است. برای سنجش جذب نوری (OD[4]) کدورت از اسپکتروفتومتر مرئی-فرابنفش با طول موج ۶۰۰ نانومتر استفاده گردید که میزان جذب در این طول موج باید در محدودهٔ ۰/۱۳–۰/۸ باشد (عباس‌نیا، تیموری، مرادپور، درخشان و قزوینی، ۱۳۹۵).

رقت‌سازی و تلقیح

بعد از آماده‌سازی غلظت 10^{8} واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر رقت‌سازی مرحله‌ای تا به‌دست‌آمدن غلظت 10^{4} و 10^{2} واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر ادامه یافت. پس از این مرحله سویه آمادهٔ تلقیح گردید. از رقت‌های تهیه‌شده به نمونه‌ها، تحت شرایط استریل و زیر هود لامینار انجام شد. در این تحقیق ۶ تیمار موردبررسی قرار گرفت که شامل: T_1 (کنسانترهٔ پرتقال)، T_2 (کنسانترهٔ گریپ‌فروت)، T_3 (کنسانترهٔ پرتقال با غلظت میکروبی 10^{2} واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر)، T_4 (کنسانترهٔ پرتقال با غلظت 10^{4} واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر)، T_5 (کنسانترهٔ گریپ‌فروت با غلظت 10^{2} واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر) و T_6 (کنسانترهٔ گریپ‌فروت با غلظت 10^{4} واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر) می‌باشد (Vaks & Lifshitz, 1981).

شمارش میکروبی

در هر مرحله جهت اطمینان از رشد باکتری به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر (با سمپلر ۱۰۰) درون ظروف پتری‌دیش حاوی محیط کشت (TSA[5]) یکبارمصرف ریخته و به‌وسیلهٔ میلهٔ Lشکل کشت داده شد. پس از بسته‌شدن پلیت،

[1] Ruby Red
[2] Valencia
[3] Tryptic Soy Broth
[4] Oculus Dexter
[5] Tryptic Soy Agar

گرم‌خانه‌گذاری به مدت ۷۲ ساعت انجام شد و پس از ۳ روز شمارش کلنی‌ها صورت پذیرفت (Yoon, Kang, Lee, & Oh, 2005).

آزمون اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی

در هر مرحله طی ۱۲۰ ساعت آزمون‌های فیزیکوشیمیایی انجام گردید. اندازه‌گیری pH طبق استاندارد ملی ایران به شمارهٔ ۲۶۸۵ ([ISIRI]، ۱۳۸۶)، اندازه‌گیری اسیدیته به روش تیتراسیون (سهراب‌وندی و همکاران، ۱۳۹۴)، اندازه‌گیری بریکس ([ISIRI]، ۱۳۸۶)، اندازه‌گیری لیمونین (Bicas & Pastore, 2007)، کدورت (Dahdouh *et al.*, 2016) و اندازه‌گیری رنگ (AOAC, 1999) طی ۴ زمان صفر، ۲۴، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت انجام شد.

پاستوریزاسیون و گرم‌خانه‌گذاری نمونه‌ها

پس از انجام پاستوریزاسیون در بن‌ماری در دمای ۹۰ درجهٔ سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه جهت غیرفعال‌کردن باکتری‌ها، نمونه‌ها در دمای ۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۴۵ روز گرم‌خانه‌گذاری می‌گردد. این زمان و دما طبق دستورالعمل واحد Shelf Life شرکت عالیفرد (تولیدکنندهٔ محصولات سن‌ایچ) انجام شد. هدف از انجام این مرحله اطمینان از عدم برگشت تلخی کنسانتره و ارزیابی حسی نمونه‌ها در زمان انبارداری می‌باشد. لذا ویژگی‌های حسی نمونه‌ها در روزهای صفر، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ موردبررسی قرار گرفت.

ارزیابی حسی

جهت بررسی ویژگی‌های رنگ، بو، مزه و پذیرش کلی نمونه‌ها از روش هدونیک ۵ نقطه‌ای استفاده گردید که براساس استاندارد ملی ایران به شمارهٔ ۲۶۸۵ ([ISIRI]، ۱۳۸۶) انجام شد. برای تهیهٔ نمونهٔ موردآزمایش جهت ارزیابی حسی، ۲۲/۸ درصد حجمی کنسانتره و ۷۷/۲ درصد آب رقیق‌سازی شد. سپس در فنجان‌های شماره‌گذاری‌شده در اختیار ۱۰ نفر ارزیاب حسی آموزش‌دیده قرار گرفت. شاخص‌های رنگ، بو، مزه و پذیرش کلی به روش هدونیک ۵ نقطه‌ای (عدد ۵ بیانگر کمترین امتیاز و عدد ۱ بیانگر بیشترین امتیاز) موردارزیابی قرار گرفت (Dawood, 1995).

روش آماری

آزمایش‌ها به روش فاکتوریل و در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شدند. به‌منظور ارزیابی داده‌ها از نرم‌افزار SAS نسخهٔ ۹,۱، برای تجزیهٔ واریانس از آزمون F و برای کلاس‌بندی میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده گردید. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel نسخهٔ ۲۰۱۳ استفاده شد.

نتایج و بحث

اسیدیته و pH

تغییرات مقدار pH در تمامی نمونه‌ها در طول مدت دورهٔ نگهداری کاملاً معنی‌دار بود ($P<۰/۰۱$). پس از ۱۲۰ ساعت نگهداری نمونه، کمترین میزان تغییرات pH متعلق به تیمار T_1 (کنسانترهٔ گریپ‌فروت بدون‌میکروب) و بیشترین میزان تغییرات pH متعلق به تیمار T_5 (کنسانترهٔ گریپ‌فروت با جمعیت میکروبی $۱۰^{۲}$ واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر) و تیمار T_6 (کنسانترهٔ گریپ‌فروت با جمعیت میکروبی $۱۰^{۴}$ واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر) بود (جدول ۱). میزان pH نمونه‌ها از زمان تلقیح باکتری به مدت ۱۲۰ ساعت روند کاهشی کمی داشته است. همچنین مطابق با نتایج مشخص گردید غلظت‌های مختلف باکتری اثر کاملاً معنی‌داری روی اسیدیتهٔ نوشیدنی داشته است ($P<۰/۰۱$) مقادیر اسیدیته برای هر دو مدل تیمار (کنسانترهٔ بدون میکروب و کنسانتره + غلظت میکروبی تلقیح‌شده) پس از ۱۲۰ ساعت نگهداری روند افزایشی داشته است ($P<۰/۰۱$). نتایج نشان داد که مدت زمان نگهداری روی اسیدیته تأثیر معنی‌داری داشته است. به‌طوری‌که با افزایش زمان نگهداری اسیدیتهٔ تیمارها افزایش یافت که علت این امر را می‌توان به علت غلظت اسید ضعیف یونیزه‌شده و نمک‌های آن یا به‌دلیل تشکیل اسید توسط تخریب پلی‌ساکاریدها عنوان کرد.

محمدی و همکاران (۱۳۹۵) به بررسی خواص بیوشیمیایی و میکروبی نوشیدنی مالت پروبیوتیک پرداختند. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که گونهٔ پروبیوتیک تلقیح‌شده در نوشیدنی مالت، باعث افزایش اسیدیته و کاهش میزان pH نمونه‌ها در زمان نگهداری شده است.

توتونچی (۱۳۹۲) به بررسی اثر افزودن *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به آب‌انگور قرمز جهت تولید محصول پروبیوتیک پرداختند که بعد از تلقیح

باکتری به نمونه‌ها میزان اسیدیته بعد از ۲۱ روز نگهداری روند افزایشی و کاهش pH نمونه‌ها مشاهده شده است.

امینی‌نیا، رضوی و عیوض‌زاده (۱۳۹۵) بررسی تولید نوشیدنی فراسودمند بر پایهٔ آب‌کرفس پرداختند. در این تحقیق توانایی باکتری‌های اسید لاکتیک، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت پرداختند که باعث کاهش pH و افزایش اسیدیته گردید.

جدول ۱- مقایسهٔ میانگین pH و اسیدیتهٔ کنسانترهٔ پرتقال و گریپ‌فروت

	تیمار	زمان (ساعت)			
		۰	۲۴	۷۲	۱۲۰
ph	T_1	۳/۸۳±۰/۰۰^{dA}	۳/۸۱±۰/۰۱^{dB}	۳/۸۰±۰/۰۰^{dB}	۳/۷۹±۰/۰۰^{eC}
	T_2	۳/۴۳±۰/۰۰^{bA}	۳/۴۱±۰/۰۰^{bB}	۳/۴۰±۰/۱۷^{bB}	۳/۴۱±۰/۰۰^{cB}
	T_3	۳/۸۲±۰/۰۰^{cA}	۳/۸۰±۰/۰۰^{cdB}	۳/۷۹±۰/۰۰^{cC}	۳/۷۸±۰/۰۰^{dD}
	T_4	۳/۸۲±۰/۰۰^{cA}	۳/۸۰±۰/۰۰^{cdB}	۳/۷۹±۰/۰۰^{cC}	۳/۷۸±۰/۰۰^{dD}
	T_5	۳/۴۲±۰/۰۰^{aA}	۳/۴۰±۰/۰۰^{abB}	۳/۳۹±۰/۰۰^{aC}	۳/۳۸±۰/۰۰^{bD}
	T_6	۳/۴۲±۰/۰۰^{aA}	۳/۴۰±۰/۰۰^{aB}	۳/۳۸±۰/۰۰^{aC}	۳/۳۶±۰/۰۰^{aD}
اسیدیته	T_1	۲/۷۱±۰/۰۰^{aA}	۲/۷۴±۰/۰۰^{aB}	۲/۷۶±۰/۰۰^{aC}	۲/۷۹±۰/۰۰^{aD}
	T_2	۵/۲۱±۰/۰۰^{bcA}	۵/۲۲±۰/۰۰^{dB}	۵/۲۳±۰/۰۰^{dC}	۵/۲۵±۰/۰۰^{dD}
	T_3	۲/۷۲±۰/۰۰^{aA}	۲/۷۷±۰/۰۰^{bB}	۲/۸۰±۰/۰۰^{bC}	۲/۸۰±۰/۰۰^{bC}
	T_4	۲/۷۱±۰/۰۰^{aA}	۲/۷۹±۰/۰۰^{cB}	۲/۹۱±۰/۰۰^{cC}	۲/۹۶±۰/۰۰^{cD}
	T_5	۵/۲۱±۰/۰۰^{cA}	۵/۲۴±۰/۰۰^{eB}	۵/۲۶±۰/۰۰^{eC}	۵/۲۸±۰/۰۰^{deD}
	T_6	۵/۲۰±۰/۰۰^{bA}	۵/۲۶±۰/۰۰^{fB}	۵/۲۷±۰/۰۰^{fC}	۵/۳۱±۰/۰۰^{fD}

حروف کوچک مشابه در هر ستون نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین تیمارهاست.

حروف بزرگ مشابه در هر ردیف نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین زمان‌هاست.

کدورت

مطابق با نتایج مشخص گردید میزان تلقیح باکتری و زمان نگهداری اثر معنی‌داری بر شاخص کدورت نمونه‌ها داشته است (P<۰/۰۱). پس از ۱۲۰ ساعت نگهداری، بیشترین میزان کاهش کدورت در تیمارهای T_4 و T_6 بود. همچنین کمترین میزان کاهش کدورت متعلق به تیمارهای T_3 و T_5 بود. درحالی‌که در تیمارهای T_1 و T_2 روند افزایشی داشته است. دلیل این امر را می‌توان ناشی از رسوب ذرات معلق موجود در کنسانتره عنوان کرد (جدول ۲).

Kaur و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی تلخی‌گیری آب‌میوهٔ کینو توسط مخمر *کلاویسپورا لاسیتانیا* پرداختند. در این آزمایش از ۳ تیمار مختلف شاهد، آنزیم و تلقیح میکروبی استفاده شد که در نتایج به‌دست‌آمده کاهش کدورت آب‌میوهٔ تلخی‌گیری‌شده پس از ۳۰ روز نگهداری مشاهده شد.

جدول ۲- مقایسهٔ میانگین میزان کدورت کنسانترهٔ پرتقال و گریپ‌فروت

تیمار	زمان (ساعت)			
	۰	۲۴	۷۲	۱۲۰
T_1	۱۶۲۲/۶۷±۲/۵۱^{eA}	۱۶۱۵/۳۳±۱/۵۲^{fB}	۱۶۲۳/۰۰±۱/۰۰^{fC}	۱۶۲۵/۶۷±۱/۱۵^{fD}
T_2	۱۵۸۶/۳۳±۱/۱۵^{cA}	۱۵۷۷/۳۳±۱/۱۵^{dB}	۱۵۷۲/۶۷±۱/۱۵^{eC}	۱۵۷۴/۳۳±۰/۵۷^{eD}
T_3	۱۶۱۶/۶۷±۴/۰۴^{dA}	۱۵۸۱/۳۳±۱/۱۵^{eB}	۱۵۲۱/۳۳±۱/۵۲^{dC}	۱۴۸۱/۰۰±۰/۰۰^{dD}
T_4	۱۶۱۹/۳۳±۴/۵۰^{dA}	۱۵۶۵/۳۳±۰/۵۷^{cB}	۱۵۰۸/۶۷±۱/۱۵^{cC}	۱۴۴۳/۳۳±۱/۵۲^{cD}
T_5	۱۵۲۶/۶۷±۳/۷۸^{bA}	۱۴۶۴/۶۷±۱/۵۲^{bB}	۱۴۲۳/۰۰±۰/۰۰^{bC}	۱۳۷۱/۳۳±۰/۵۷^{bD}
T_6	۱۵۱۹/۰۰±۰/۰۰^{aA}	۱۴۳۴/۳۳±۰/۵۷^{aB}	۱۳۹۸/۶۷±۰/۵۷^{aC}	۱۳۴۱/۳۳±۰/۵۷^{aD}

حروف کوچک مشابه در هر ستون نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین تیمارهاست.

حروف بزرگ مشابه در هر ردیف نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین زمان‌هاست.

درصد مواد جامد محلول

مطابق با نتایج جدول (۳) مشخص گردید غلظت‌های مختلف باکتری اثر معنی‌داری روی شاخص درصد مواد جامد محلول داشته است ($P<۰/۰۱$). تغییرات مواد جامد محلول کنسانتره از لحظهٔ تلقیح باکتری به مدت ۱۲۰ ساعت نگهداری روند کاهشی داشت. نتایج نشان داده است که نوع تیمار روی مواد جامد محلول کاملاً معنی‌دار بوده ولی افزایش زمان نگهداری بر مواد جامد محلول نمونه‌ها معنی‌دار نبود ($P\leq۰/۰۵$). دلیل این امر را می‌توان ناشی از فعالیت باکتری *سودوموناس پوتیدا* و متابولیت‌های حاصل از فعالیت باکتری و همچنین کاهش میزان محتوی لیمونین در نمونه‌های کنسانتره می‌باشد.

Yahyaei (۲۰۱۵) کاهش میزان قندهای احیاکننده و مواد جامد محلول در نوشیدنی فراسودمند بر پایهٔ مخلوط عصارهٔ مالت و کنسانترهٔ آب‌میوه‌های قرمز طی ۲۸ روز نگهداری را گزارش نمودند.

Zandi، Hashemiravan و Berenjy (۲۰۱۶) اعلام نمودند که مقدار مواد جامد محلول در نوشیدنی فراسودمند تخمیری بر پایهٔ مخلوط آب‌سیب، هویج، چغندرقرمز طی ۲۸ روز نگهداری در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد کاهش پیدا کرد.

جدول ۳- مقایسهٔ میانگین بریکس کنسانترهٔ پرتقال و گریپ‌فروت

تیمار	زمان (ساعت)			
	۰	۲۴	۷۲	۱۲۰
T_1	۵۱/۳۲±۰/۰۰ ^{dA}	۴۷/۹۹±۰/۰۰ ^{cB}	۵۱/۳۳±۰/۰۰ ^{fC}	۵۱/۳۳±۰/۰۰ ^{fD}
T_2	۲/۸۱±۰/۰۰ ^{bA}	۴۲/۸۱±۰/۰۰ ^{bA}	۴۲/۸۱±۰/۰۰ ^{cA}	۴۲/۸۱±۰/۰۰ ^{cA}
T_3	۵۱/۳۲±۰/۰۰ ^{cA}	۵۱/۲۹±۰/۰۰ ^{cB}	۵۱/۲۹±۰/۰۰ ^{dB}	۵۱/۲۶±۰/۰۰ ^{dC}
T_4	۵۱/۳۲±۰/۰۰ ^{cdA}	۵۱/۳۰±۰/۰۰ ^{dB}	۵۱/۲۸±۰/۰۰ ^{eC}	۵۱/۲۴±۰/۰۰ ^{eD}
T_5	۴۲/۸۰±۰/۰۰ ^{aA}	۴۲/۸۰±۰/۰۰ ^{bA}	۴۲/۷۸±۰/۰۰ ^{bB}	۴۲/۷۶±۰/۰۰ ^{bC}
T_6	۴۲/۸۰±۰/۰۰ ^{aA}	۴۲/۷۹±۰/۰۰ ^{aB}	۴۲/۷۷±۰/۰۰ ^{aC}	۴۲/۷۶±۰/۰۰ ^{aD}

حروف کوچک مشابه در هر ستون نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین تیمارهاست.

حروف بزرگ مشابه در هر ردیف نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین زمان‌هاست.

لیمونین

مطابق با نتایج مشخص گردید غلظت‌های مختلف باکتری اثر معنی‌داری ($P\leq۰/۰۱$) روی محتوای لیمونین داشته است. میزان تغییرات لیمونین در تیمارهای فاقد باکتری و تیمارهای حاوی باکتری *سودوموناس پوتیدا* متفاوت می‌باشد. تغییرات میزان لیمونین در تیمارهای T_1 و T_2 روند افزایشی داشته است. اما در نمونه‌های حاوی غلظت میکروبی میزان لیمونین روند کاهشی داشته است. در تیمارهای T_3 و T_5 کمترین کاهش میزان لیمونین و در تیمارهای T_4 و T_6 بیشترین میزان کاهش لیمونین در ۱۲۰ ساعت را داشته است. دلیل افزایش میزان لیمونین را می‌توان واکنش پیش‌سازهای این ماده و تولید آن توسط آنزیم‌های موجود در کنسانتره عنوان کرد و همچنین دلیل کاهش میزان لیمونین را می‌توان به مصرف این مادهٔ تولیدشده در کنسانتره توسط باکتری *سودوموناس پوتیدا* به‌عنوان منبع کربن و رشد و تکثیر اشاره کرد (جدول ۴).

Puri، Marwaha، Kothari و Kennedy (۱۹۹۶) کاهش میزان لیمونین در میوهٔ کینو توسط باکتری *رودوکوکوس فسینس* را موردبررسی قرار دادند. گرم‌خانه‌گذاری ۵۰ میلی‌لیتر آب‌میوهٔ کینو با ۵ درصد کشت میکروبی در ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد و pH، ۴ به‌طور مطلوب باعث کاهش ۶۸ درصد لیمونین گردید.

Hasegawa (۱۹۸۷) به بررسی کاهش میزان لیمونین به روش باکتری تثبیت‌شدهٔ *کورینه باکتریوم* پرداختند که پس از ۱۵ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری، ۷۵ درصد از میزان لیمونین نسبت به روز صفر کاهش پیدا کرده است.

جدول ۴- محتوای لیمونین کنسانترهٔ پرتقال و گریپ‌فروت

تیمار	زمان (ساعت)			
	۰	۲۴	۷۲	۱۲۰
T_1	۱۰/۲۳±۰/۰۰^{abA}	۱۱/۹۱±۰/۰۳^{cB}	۱۲/۸۸±۰/۰۲^{cC}	۱۴/۰۹±۰/۰۳^{cD}
T_2	۱۵/۶۳±۰/۰۱^{eA}	۱۶/۱۷±۰/۰۳^{fB}	۱۶/۹۶±۰/۰۲^{fC}	۱۷/۷۷±۰/۰۲^{fD}
T_3	۱۰/۲۲±۰/۰۱^{aA}	۹/۶۶±۰/۰۱^{bB}	۸/۹۸±۰/۰۷^{bC}	۸/۵۳±۰/۰۱^{bD}
T_4	۱۰/۲۳±۰/۰۰^{abA}	۹/۵۰±۰/۰۱^{aB}	۸/۷۵±۰/۰۳^{aC}	۷/۹۶±۰/۰۳^{aD}
T_5	۱۵/۵۴±۰/۰۲^{cbA}	۱۴/۹۴±۰/۰۰^{eB}	۱۴/۵۴±۰/۰۲^{eC}	۱۴/۰۲±۰/۰۵^{eD}
T_6	۱۵/۵۲±۰/۰۲^{cA}	۱۰/۵۴±۰/۰۱^{dB}	۱۴/۳۴±۰/۰۲^{dC}	۱۳/۸۴±۰/۰۲^{dD}

حروف کوچک مشابه در هر ستون نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین تیمارهاست.

حروف بزرگ مشابه در هر ردیف نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین زمان‌هاست.

رنگ

براساس نتایج جدول (۵) مقادیر *L طی دورهٔ نگهداری روند کاهشی داشته است. به‌عبارت‌دیگر با افزایش زمان نگهداری شاخص *L به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P\leq$۰/۰۱). مطابق با نتایج مقادیر شاخص *a طی دورهٔ نگهداری روند افزایشی داشته است. همچنین شاخص *b مطابق با نتایج ارائه‌شده طی دورهٔ نگهداری روند کاهشی داشته است. کاهش شاخص *L بیانگر تغییر رنگ نمونه‌ها از روشنایی به سمت تیره‌ترشدن و افزایش شاخص *a طی مدت نگهداری بیانگر تغییر رنگ نمونه‌ها به سمت سبزی یا قرمزی می‌باشد و کاهش شاخص *b بیانگر کم‌شدن زردی در سیستم رنگی *L*a*b می‌باشد. به‌عبارت‌دیگر نمونه‌ها از رنگ زرد روشن به سمت تیره‌شدن طی دورهٔ نگهداری متمایل شده‌اند. باتوجه‌به اینکه کاروتنوئیدهای آب‌میوه‌ها به شکل ترانس بوده و شدت رنگ بالاتری دارند، ممکن است در شرایط اسیدی پایین و یا قلیایی بالا و همچنین زمان نگهداری زنجیرهٔ پلی‌ان‌کاروتنوئیدها ناپایدار شود بنابراین دلیل تغییرات در شاخص‌های ذکرشده می‌تواند فرایند ایزومراسیون (ایجادشده با دما، نور و اسید) و یا اکسیداسیون (ناشی از نور، دما، فلزات و آنزیم‌ها) مولکول‌های کاروتنوئید آب پرتقال و درنتیجه تغییر در رنگ نمونه باشد. همچنین ممکن است فعالیت باکتری *سودوموناس پوتیدا* در آب پرتقال منجربه تبدیل‌شدن ایزومرهای ترانس به سیس شده و باعث تغییر در پارامترهای L، a و b رنگ شود.

شیخ‌قاسمی و زمردی (۱۳۹۲) در مطالعه‌ای تأثیر کپسوله‌کردن بر زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* را در آب سیب طی ۶۰ روز نگهداری در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد بررسی کردند. نتایج نشان داد رنگ نمونه‌ها طی دورهٔ نگهداری به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و دلیل آن ایزومراسیون مولکول‌های کاروتنوئید و فعالیت باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در آب سیب و درنتیجه تغییر در رنگ نمونه‌ها بود.

Pereira، Maciel وRodrigues (۲۰۱۱) طی مطالعه‌ای نوشیدنی پروبیوتیک تخمیرشده از آب سیب را با استفاده از باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* طی مدت نگهداری ۴۲ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد موردبررسی قرار دادند. نتایج این تحقیق نشان داد شاخص‌های رنگی *L و *b کاهش و شاخص *a افزایش یافته است.

جدول ۵- مقایسهٔ میانگین رنگ کنسانترهٔ پرتقال و گریپ‌فروت

	تیمار	زمان (ساعت)			
		۰	۲۴	۷۲	۱۲۰
*L**	T_1	۳۹/۴۳±۰/۰۲^{abA}	۳۹/۴۳±۰/۰۲^{cA}	۳۹/۱۲±۰/۰۱^{cB}	۳۸/۸۹±۰/۰۱^{cC}
	T_2	۴۳/۱۸±۰/۰۲^{eA}	۴۳/۰۲±۰/۰۲^{fB}	۴۲/۹۳±۰/۰۲^{fC}	۴۲/۸۵±۰/۰۱^{fD}
	T_3	۳۹/۴۲±۰/۰۲^{aA}	۳۸/۸۶±۰/۰۱^{aB}	۳۸/۴۰±۰/۰۰^{aC}	۳۷/۹۹±۰/۰۱^{aD}
	T_4	۳۹/۴۳±۰/۰۱^{abA}	۳۷/۹۷±۰/۰۲^{bB}	۳۸/۶۲±۰/۰۰^{bC}	۳۸/۴۲±۰/۰۱^{bD}
	T_5	۴۳/۰۸±۰/۰۴^{cA}	۴۲/۹۲±۰/۰۳^{eB}	۴۲/۳۵±۰/۰۳^{dC}	۴۲/۰۴±۰/۰۵^{dD}
	T_6	۴۳/۰۹±۰/۰۳^{cdA}	۴۲/۸۶±۰/۰۱^{dB}	۴۲/۴۵±۰/۰۳^{eC}	۴۲/۱۸±۰/۰۲^{eD}
a*	T_1	۱۸/۷۴±۰/۰۱^{aA}	۱۸/۸۶±۰/۰۱^{aB}	۱۸/۹۱±۰/۰۱^{aC}	۱۹/۰۴±۰/۰۱^{aD}
	T_2	۲۲/۵۷±۰/۰۲^{fA}	۲۲/۸۰±۰/۰۱^{eB}	۲۲/۹۹±۰/۰۲^{eC}	۲۳/۰۴±۰/۰۱^{eD}
	T_3	۱۸/۸۵±۰/۰۱^{cA}	۱۸/۹۴±۰/۰۱^{cB}	۱۹/۱۳±۰/۰۱^{cC}	۱۹/۲۸±۰/۰۱^{cD}
	T_4	۱۸/۷۸±۰/۰۲^{bA}	۱۸/۹۰±۰/۰۰^{bB}	۱۹/۰۲±۰/۰۰^{bC}	۱۹/۱۳±۰/۰۱^{bD}
	T_5	۲۲/۵۳±۰/۰۴^{eA}	۲۲/۸۲±۰/۰۳^{fB}	۲۳/۰۳±۰/۰۲^{fC}	۲۳/۳۱±۰/۰۳^{fD}
	T_6	۲۱/۵۴±۰/۰۵^{dA}	۲۱/۷۲±۰/۰۱^{dB}	۲۱/۹۴±۰/۰۱^{dC}	۲۱/۹۴±۰/۰۱^{dC}
b*	T_1	۷۷/۷۸±۰/۰۰^{eA}	۷۷/۱۳±۰/۰۳^{fA}	۷۶/۹۹±۰/۰۱^{eA}	۷۶/۸۱±۰/۰۲^{eA}
	T_2	۶۹/۳۰±۰/۰۴^{bA}	۶۹/۲۹±۰/۰۱^{aA}	۶۸/۸۲±۰/۰۱^{bA}	۶۸/۷۵±۰/۰۳^{bA}
	T_3	۷۷/۴۶±۰/۰۴^{cA}	۷۷/۰۲±۰/۰۳^{eA}	۷۶/۶۲±۰/۰۲^{dA}	۷۶/۴۹±۰/۱۳^{dA}
	T_4	۷۷/۴۸±۰/۱۱^{cdA}	۷۶/۸۰±۰/۰۲^{dA}	۷۶/۵۰±۰/۰۲^{cA}	۷۶/۲۶±۰/۰۳^{cA}
	T_5	۶۹/۲۶±۰/۰۲^{aA}	۶۹/۰۱±۰/۰۳^{bA}	۶۸/۸۰±۰/۰۳^{aA}	۶۸/۵۳±۰/۰۲^{aA}
	T_6	۶۹/۳۰±۰/۰۲^{bA}	۶۹/۰۸±۰/۰۳^{cA}	۶۸/۹۴±۰/۰۱^{cA}	۶۸/۷۳±۰/۰۳^{bA}

حروف کوچک مشابه در هر ستون نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین تیمارهاست.

حروف بزرگ مشابه در هر ردیف نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین زمان‌هاست.

رشد باکتری

مطابق نتایج جدول (۶) اثر زمان بر تیمارها معنی‌دار بود. در تیمارهای حاوی غلظت میکروبی، میزان رشد باکتری با گذشت زمان به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P\leq$۰/۰۵). همچنین در بین تیمارها بیشترین تعداد رشد میکروبی متعلق به تیمارهای T_3 و T_5 و کمترین میزان رشد میکروبی متعلق به تیمارهای T_4 و T_6 بود. به‌طورکلی نتایج نشان داده است که افزایش زمان نگهداری باعث افزایش رشد باکتری شده است. دلیل این امر را می‌توان مصرف لیمونین و قند توسط باکتری و درنتیجه رشد و تکثیر باکتری *سودوموناس پوتیدا* عنوان کرد.

Brewster، Hasegawa و Maier (۱۹۷۶) از باکتری *آرتروباکتر*[1] جهت کاهش میزان لیمونین در آب پرتقال استفاده کرده‌اند. در این آزمایش با افزودن باکتری به ۲۰۰ میلی‌لیتر نمونهٔ آب‌میوه و پس از انجام آزمون‌های شیمیایی و تخمین میزان لیمونین، مقدار این ماده در نمونه از ۲۱ پی‌پی‌ام به ۳ پی‌پی‌ام کاهش پیدا کرده است که طی فرایند بیولوژیکی میزان رشد سلول در اثر هم‌زمان کاهش میزان لیمونین مشاهده شد.

Kaur و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی تغییرات میزان لیمونین و نارنجین در آب پرتقال توسط مخمر *کلاویسپورا لاسیتانیا* پرداختند. در این مطالعه جمعیت 10^4 واحد تشکیل کلی در میلی‌لیتر که تلقیح مخمر به آب‌میوه بعد از ۳۰ روز نگهداری باعث کاهش میزان نارنجین، لیمونین و افزایش رشد میزان مخمر شد.

[1] *Arthrobacter*

جدول ۶- مقایسهٔ میانگین شمارش *سودوموناس پوتیدا* در کنسانترهٔ پرتقال و گریپ‌فروت

تیمار	زمان (ساعت)			
	۰	۲۴	۷۲	۱۲۰
T_1	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
T_2	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
T_3	۰/۰۶±۰/۰۰^{bA}	۰/۳۰±۰/۰۰^{bB}	۰/۷۲±۰/۰۰^{bC}	۱/۱۲±۰/۰۰^{bD}
T_4	۰/۰۶±۰/۰۰^{cA}	۰/۳۷±۰/۰۲^{dB}	۰/۸۸±۰/۰۱^{cC}	۱/۱۵±۰/۰۱^{aD}
T_5	۰/۰۶±۰/۰۰^{bA}	۱/۳۷±۰/۰۱^{eB}	۱/۹۷±۰/۰۰^{eC}	۱/۹۸±۰/۰۱^{eC}
T_6	۰/۰۷±۰/۰۱^{dA}	۰/۳۵±۰/۰۱^{cB}	۰/۹۰±۰/۰۲^{dC}	۱/۱۸±۰/۰۱^{dD}

حروف کوچک مشابه در هر ستون نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین تیمارهاست.
حروف بزرگ مشابه در هر ردیف نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین زمان‌هاست.

ارزیابی حسی

باتوجه‌به نتایج یادشده غلظت میکروبی و زمان نگهداری تأثیر معنی‌داری بر رنگ و طعم و مزهٔ کنسانتره داشته است ($P<۰/۰۵$). اما در پارمتر بو تغییر معنی‌داری پیدا نکرده است. با گذشت زمان امتیاز رنگ به‌طورکلی افزایش پیدا کرده است. همچنین امتیاز مزه در تیمارهای دارای غلظت میکروبی از روز ۳۰ روند افزایشی داشته است. مطابق با نتایج مربوط به پذیرش کلی در جدول (۷)، اثر تیمار بر پذیرش کلی تا روز ۳۰ روند افزایش کمی و سپس تا روز ۴۵ روند افزایشی بیشتری داشته است. دلیل این امر را می‌توان افزایش اسیدیتهٔ کنسانتره و همچنین کاهش و ازبین‌رفتن غلظت باکتری *سودوموناس پوتیدا* در کنسانتره تا روز ۳۰ و درنتیجه تولید ترکیبات تلخ و افزایش مجدد تلخی کنسانتره عنوان کرد.

جدول ۷- ارزیابی حسی کنسانتره‌ها در طی ۴۵ روز ذخیره‌سازی

تیمار	زمان (روز)			
	۰	۱۵	۳۰	۴۵
T_1	۱/۷۰±۰/۰۴۸^{aA}	۳/۲۰±۰/۷۸^{abcdAB}	۴/۳۰±۰/۴۸^{dA}	۴/۷۰±۰/۴۸^{deA}
T_2	۲/۷۰±۰/۴۸^{cB}	۳/۱۰±۰/۵۶^{abcC}	۴/۳۰±۰/۴۸^{dA}	۴/۳۰±۰/۴۸^{abcA}
T_3	۲/۱۰±۰/۳۱^{abA}	۲/۷۰±۰/۴۸^{aA}	۳/۳۰±۰/۴۸^{aba}	۴/۱۰±۰/۳۱^{abA}
T_4	۲/۰۰±۰/۴۷^{abAB}	۲/۸۰±۰/۴۲^{abA}	۳/۵۰±۰/۵۲^{abcdA}	۴/۱۰±۰/۵۶^{abA}
T_5	۲/۲۰±۰/۴۲^{bA}	۳/۲۰±۰/۶۳^{abcdB}	۳/۲۰±۰/۴۲^{aA}	۴/۵۰±۰/۵۲^{abcdA}
T_6	۲/۱۰±۰/۵۶^{abAB}	۲/۸۰±۰/۴۲^{abA}	۳/۴۰±۰/۵۱^{abcA}	۴/۰۰±۰/۰۰^{aA}

حروف کوچک مشابه در هر ستون نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین تیمارهاست.
حروف بزرگ مشابه در هر ردیف نشان‌دهندهٔ عدم معنی‌داری بین زمان‌هاست.

نتیجه‌گیری

غلظت باکتری و زمان نگهداری اثر کاملاً معنی‌داری بر مقدار pH، اسیدیته و درصد مواد جامد محلول کنسانتره داشته است ($P<۰/۰۱$). با افزایش زمان نگهداری pH، مواد جامد محلول و کدورت نوشیدنی به‌طور معنی‌داری کاهش یافته ($P\leq۰/۰۱$) و اسیدیتهٔ نوشیدنی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<۰/۰۱$). با افزایش زمان نگهداری میزان لیمونین در تیمارهای فاقد غلظت میکروبی (شاهد) افزایش پیدا کرده است. اما در تیمارهای حاوی غلظت میکروبی میزان لیمونین به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرده است ($P<۰/۰۵$) و در مقابل رشد باکتری *سودوموناس پوتیدا* با مصرف لیمونین افزایش پیدا کرده است. زمان در نگهداری و انبارداری نمونه‌ها اثر کاملاً معنی‌داری بر رنگ و مزهٔ تیمارها داشته است ($P\leq۰/۰۵$). پذیرش کلی در تیمارهای تلخی‌زدایی‌شده، تا روز ۳۰ نگهداری مناسب بوده اما از روز ۳۰ تا روز ۴۵ باتوجه‌به امتیازبندی نمونه‌ها روند افزایشی بر امتیاز مزهٔ این تیمار داشته است. همچنین رنگ نوشیدنی به‌دلیل تغییرات حاصل از کاروتنوئیدها روند کاهشی داشته و به رنگ تیره متمایل شده است. در بین نمونه‌ها، تیمارهای T_4 و T_6 بیشترین میزان کاهش لیمونین را در ۱۲۰ ساعت داشته است و همچنین ازنظر پذیرش کلی و مزه امتیاز بیشتری نسبت به سایر تیمارها در زمان انبارداری ۴۵روزه داشته است و درنتیجه این دو تیمار به‌عنوان تیمار برتر شناخته شدند.

منابع

امینی‌نیا، ه.، رضوی، س. و عیوض‌زاده، ا. (۱۳۹۵). تولید نوشیدنی فراسودمند آب کرفس با استفاده از باکتری های اسید لاکتیک. *فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران*، ۱۳(۵۱)، ۱۰۳-۱۱۱.

پاسدار، ن. و محمدی، م. (۱۳۹۱، شهریور). تولید و تثبیت آنزیم نارنجیناز با *آسپرژیلوس نایجر* جهت تلخی زدایی آبمیوه مرکبات. ارائه‌شده در سومین همایش ملی بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (گیاهی، دامی و صنعتی) https://www.civilica.com/Paper-AGRIBIOTECH03-AGRIBIOTECH03_112.html

توتونچی، پ. (۱۳۹۲). ارزیابی امکان تولید آب انگور قرمز پروبیوتیک با استفاده از *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی* ۴۳۱. (پایان‌نامه کارشناسی ارشد منتشرنشده)، دانشگاه تبریز.

ذوقی، آ.، خسروی‌دارانی، ک.، سهراب‌وندی، س.، عطار، ح. و علوی، س. (۱۳۹۸). تأثیر پروبیوتیک ها بر کاهش میزان پاتولین موجود در آب سیب سین بیوتیک. *علوم غذایی و تغذیه*، ۱۶(تابستان ۹۸)، ۵-۱۶.

سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۶). آب‌میوه‌ها-روش‌های آزمون. (استاندارد ملی ایران، شمارهٔ ۲۶۸۵، تجدیدنظر اول). برگفته از http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=46001

سهراب‌وندی، س.، مرتضویان، س.، جهانی، ح.، ایوانی، م.، نعمت‌الهی، آ. و کمیلی‌فنود، ر. (۱۳۹۴). بررسی اثر برخی پری‌بیوتیک‌ها بر خواص فیزیکوشیمیایی و حسی آب پرتقال رژیمی. *فصلنامه علمی پژوهشی زیست پزشکی جرجانی*، ۳(۱)، ۱۶-۳۱.

شجاع، آ.، قاسم نژاد، م. و مرتضوی، س. ا. (۱۳۹۰). تغییرات ظرفیت آنتی اکسیدانی و کیفیت پس از برداشت میوه پرتقال های تامسون ناول و خونی در طی انبارداری. *علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)*، ۲۵(۲)، ۱۴۷-۱۵۵.

شیخ‌قاسمی، ش. و زمردی، ش. (۱۳۹۲). تاثیر کپسوله کردن بر زنده مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و خواص کیفی آب سیب در طول نگهداری در دمای محیط. *مجله علوم غذایی و تغذیه*، ۱۱(۳)، ۸۱-۹۰.

عباس‌نیا، ش.، تیموری، ف.، مرادپور، م.، درخشان، م. و قزوینی، ک. (۱۳۹۵). ارزیابی تاثیر ضدباکتریایی ژل بهداشت دست در غلظت‌های مختلف باکتری. *مجله دانشکده کشاورزی دانشگاه علوم پزشکی مشهد*، ۵۹(۶)، ۳۱۲-۳۲۱.

محمدی، ر.، ذبیح‌زاده، م.، دلشادیان، ز.، سرلک، ز.، مرتضویان، س. و حسینی، م. (۱۳۹۵). بررسی ویژگی‌های بیوشیمیایی و میکروبیولوژیک سویه‌های مختلف پروبیوتیک در نوشیدنی مالت طی دوره نگهداری یخچالی. *مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران*، ۱۱(۳)، ۵۳-۶۲.

وزارت‌جهادکشاورزی-معاونت‌برنامه‌ریزی‌واقتصادی. (۱۳۹۰). آمارنامه کشاورزی- محصولات باغی، جلد سوم. تجدیدنظر اول. برگفته از https://www.maj.ir/Index.aspx?page_=form&lang=1&PageID=11583&tempname=amar&sub=65&methodName=ShowModuleContent

Abbasnia, S., Teymouri, F., Moradpour, M., Derakhshan, M., & Ghazvini, K. (2017). Evaluation Of Antibacterial Effect Of Hand Hygiene Gel On Different Concentrations Of Bacteria. *Medical Journal Of Mashhad University Of Medical Sciences*, *59*(6), 312-321. (in Persian)

Altinok, I., Kayis, S., & Capkin, E. (2006). Pseudomonas putida infection in rainbow trout. *Aquaculture*, *261*(3), 850-855. doi:https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.09.009

Amini niya, H., & Razavi, S. H. (2016). Producing celery juice as functional drink by lactic acid bacteria. *Food Science and Technology*, *13*(51), 103-111 .(in Persian)

AOAC. (1999). Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, . *AOAC International*, *Gaithersburg*.

Arena, E., Fallico, B., & Maccarone, E. (2001). Evaluation of antioxidant capacity of blood orange juices as influenced by constituents, concentration process and storage. *Food Chemistry*, *74*(4), 423-427. doi:https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00125-X

Bicas, J. L., & Pastore, G. M. (2007). Isolation and screening of d-limonene-resistant microorganisms. *Brazilian Journal of Microbiology, 38*(3), 563-567 .

Brewster, L. C., Hasegawa, S., & Maier, V. P. (1976). Bitterness prevention in citrus juices. Comparative activities and stabilities of the limonoate dehydrogenases from Pseudomonas and Arthrobacter. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 24*(1), 21-24. doi:https://doi.org/10.1021/jf60203a041

Chong, M. N., Jin, B., Chow, C. W. K., & Saint, C. (2010). Recent developments in photocatalytic water treatment technology: A review. *Water Research, 44*(10), 2997-3027. doi:https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.02.039

Dahdouh, L., Wisniewski, C., Ricci, J., Vachoud, L., Dornier, M., & Delalonde, M. (2016). Rheological study of orange juices for a better knowledge of their suspended solids interactions at low and high concentration. *Journal of Food Engineering, 174*, 15-20. doi:https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.11.008

Dawood, A. A. (1995). Physical and sensory characteristics of Najdi-camel meat. *Meat Science, 39*(1), 59-69. doi:https://doi.org/10.1016/0309-1740(95)80007-7

Hasegawa, S. (1987). Limonoid debittering of citrus juices using immobilized bacterial cell systems. *Food Biotechnology, 1*(2), 249-261. doi:https://doi.org/10.1080/08905438709549668

Iranian Nationa Standardization Organization. (2007). Fruit juices-Test methods. (ISIRI Standard No. 2685, 1st. Revision). Retrieved from http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=46001 (in Persian)

Kaur, M., Sahota, P., Sharma, N., Kaur, K., & Sood, B. (2018). Enzymatic production of debittered kinnow juice and beverage. *Int J Curr Microbiol App Sci, 7*, 1180-1186 .

Kola, O., Kaya, C., Duran, H., & Altan, A. (2010). Removal of limonin bitterness by treatment of ion exchange and adsorbent resins. *Food Science and Biotechnology, 19*(2), 411-416. doi:https://doi.org/10.1007/s10068-010-0058-2

Liu, F., Zhang, X., Zhao, L., Wang, Y., & Liao, X. (2016). Potential of high-pressure processing and high-temperature/short-time thermal processing on microbial, physicochemical and sensory assurance of clear cucumber juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies, 34*, 51-58. doi:https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.12.030

Maier, V. P., & Beverly, G. D. (1968). Limonin Monolactone, the Nonbitter Precursor Responsible for Delayed Bitterness in Certain Citrus Juices. *Journal of Food Science, 33*(5), 488-492. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1968.tb03661.x

Maier, V. P., & Dreyer, D. L. (1965). Citrus Bitter Principles IV. Occurrence of Limonin in Grapefruit Juice. *Journal of Food Science, 30*(5), 874-875. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1965.tb01857.x

Milind, P., & Chaturvedi, D. (2012). Anti-alzheimer potential of orange juice. *International Research Journal of Pharmacy, 3*(9), 312-316 .

Ministry of Agriculture–Jahad: Planning & Economic Affairs. (2011). Economic statistics-garden products, Volume 3. Retrieved from https://www.maj.ir/Index.aspx?page_=form&lang=1&PageID=11583&tempname=amar&sub=65&methodName=ShowModuleContent (in Persian)

Mohammadi, R., Zabihzadeh, M., Delshadian, Z., Sarlak, Z., Mortazavian, A., & Hosseini, M. (2016). Study on the Biochemical and Microbiological Characteristics of Several Probiotic Strains in Non-Alcoholic Beer during Storage Period. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 11(3),*53-62 . (in Persian)

Pasdar, N., & Mohammadi, M. (2012, September). *Production and stabilization of nanjinase enzymes with Aspergillus niger for the de-bittering of citrus juices*. Paper presented at the 3rd National Conference on Iranian Agricultural Biotechnology (Plant, Animal and Industrial), Mashhad, September 3rd. https://www.civilica.com/Paper-AGRIBIOTECH03-AGRIBIOTECH03_112.html (in Persian)

Patil, M. B., & Dhake, A. B. (2014). Debittering of citrus fruit juice by naringinase of Penicillium purpurogenum. *International Journal Engineering. Research Science & Technology, 3*(2), 266-270 .

Pereira, A. L. F., Maciel, T. C., & Rodrigues, S. (2011). Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with Lactobacillus casei. *Food Research International, 44*(5), 1276-1283. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.035

Premi, B., Lal, B., & Joshi, V. (1994). Distribution pattern of bittering principles in Kinnow fruit. *Assn Food Scient Techn India Central Food Technol Res Inst, Mysore 570013, India, 31*(2), 140-141 .

Puri ,M., Marwaha, S. S., Kothari, R. M., & Kennedy, J. F. (1996). Biochemical Basis of Bitterness in Citrus Fruit Juices and Biotech Approaches for Debittering. *Critical Reviews in Biotechnology, 16*(2), 145-155. doi:https://doi.org/10.3109/07388559609147419

Roy, A., & Saraf ,S. (2006). Limonoids: Overview of Significant Bioactive Triterpenes Distributed in Plants Kingdom. *Biological and Pharmaceutical Bulletin, 29*(2), 191-201. doi:https://doi.org/10.1248/bpb.29.191

Sharma, R., & Bansal, G. G. (2007). *Studies on Limonin Biotransformat Ion by Pseudomonas Putida*. (Master thesis), Department Of Biotechnology And Enviromental Sciences. Retrieved from http://hdl.handle.net/123456789/283

Sheikh Ghasemi, S., & Zomorodi, S. (2014). The Effect of Microencapsulation on Survival of lactobacillus acidophilus and on the Quality Characteristics of Apple Juice During Storage at Ambient Temperature. *Journal of Food Technology & Nutrition, 11*(3), 81-90 . (in Persian)

Shojah, A., Ghasemnezhad, M., & Mortazavi, S. N. (2011). The changes of antioxidant caoacity and pot harvest quality thomson navel and blood orange fruits during storage. *Journal of Horticulture Science (Agricultural Sciences and Technology), 25*(2), 147-155 . (in Persian)

Sohrabvandi, S., Mortazavian, S. A. M., Jahani, H., Eivani, M. J., Nematollahhi, A., & Komeili, R. (2015). Study the Effect of Some Prebiotics on Physicochemical and Sensory Properties of Dietary Orange Juice. *Jorjani Biomedicine Journal, 3*(1), 16-31 . (in Persian)

Syed, H., Ghatge, P., Machewad, G., & Pawar, S. (2012). Studies on preparation of squash from sweet orange. *Open Access Scientific Reports, 1*(6), 185-187 .

Taneja, D. (2007). *Biochemical studies on limonin biotransformation by Pseudomonas putida.* (Master of Science), Citeseer. Retrieved from https://citeseerx.ist.psu.edu

Totonchi ,P. (2013). *Probiotic organic red grape juice produced by Lactobacillus Acidophilus and Lactobacillus Caesi.* (Unpublished Master's thesis), Tabriz University. (in Persian)

Vaks, B., & Lifshitz, A. (1981). Debittering of orange juice by bacteria which degrade limonin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 29*(6), 1258-1261. doi:https://doi.org/10.1021/jf00108a039

Yahyaei, S. Z. (2015). Production of beverage based on probiotic fermented mixture of malt extract and red fruit juices. *Advances in Environment Biology, 9*(2), 762-769 .

Yoon, J.-H., Kang, S.-J., Lee, C.-H., & Oh, T.-K. (2005). Marinicola seohaensis gen. nov., sp. nov., isolated from sea water of the Yellow Sea, Korea. *International journal of systematic and evolutionary microbiology, 55*(2), 859-863 .

Zandi, M. M., Hashemiravan, M., & Berenjy, S. (2016). Production of probiotic fermented mixture of carrot, beet and apple juices. *Journal of Paramedical Sciences, 7*(3), 17-23 .

Zoghi, A., Khosravi-Darani, K., Sohrabvandi, S., Attar, H., & Alavi, S. A. (2019). Effect of Probiotics on Patulin Content Reduction of Synbiotic Apple Juice. *Journal of Food Technology and Nutrition, 16*(3), 5-16. (in Persian)

The Effect of *Pseudomonas putida* on the Reduction of Limonin in the De-bittering of Orange and Grapefruit Concentrates and Assessment of Physicochemical and Organoleptic Features

Yasamin Mohammadi[1], Payman Rajaei[2*], Mohammadreza Eshaghi[2]

1- MSc. Student, Department Food Science and Technology, Islamic Azad University of Varamin-Pishva, Varamin, Iran
2- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology. Islamic Azad University of Varamin-Pishva, Varamin, Iran
* Corresponding author (rajaei@iauvaramin.ac.ir)

Abstract

The bitterness of citrus juice is one of the most important factors in the reduction of marketability in juice industry. Limonin and Narengin are known as two important compounds in bitter citrus juice during storage. Therefore, various processes, including chemical, microbial and enzymatic methods, have been used to reduce these bitter compounds. The purpose of this study was to investigate the effect of adding *Pseudomonas putida* bacteria on the reduction of the level of limonin and also the measurement of physicochemical and organoleptic properties. *Pseudomonas putida* bacteria with two concentrations of 10^2 and 10^4 cfu/mL as a causative agent of orange and grapefruit concentrate were studied. Also, the physicochemical properties of concentrates were measured at 120 h (growth time and bacterial activity). The results showed that the growth rate of bacteria had a significant effect on the reduction of lemonin, pH and turbidity levels ($P<0.05$). Also, it has a significant effect on increasing the acidity of the treatments ($P<0.01$). After pasteurization and inactivation of *Pseudomonas putida* bacteria, to ensure that bitterness is not rejected the specimens were incubated at 40 °C for 45 days and sensory characteristics were measured on days 0, 15, 30 and 45. Among the samples, T_4 (orange concentrate + 10^4 cfu/mL) and T_6 (grapefruit concentrate + 10^4 cfu/mL) treated with the lowest microbial growth rate in 120 h and also, in terms of general acceptance and taste, it has more points than other samples during 45 days of storage were identified as superior samples.

Keywords: Bitter, Grapefruit concentrate, Limonin, Orange concentrate, *Pseudomonas putida*

قالب پیش‌نویس مقاله برای مجله پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی با به‌کارگیری امکانات استایل (سبک) در نرم‌افزار وُرد 2007 (سبک عنوان)

نام و نام‌خانوادگی نگارنده اول[1]، نام و نام‌خانوادگی نگارنده دوم[2*]، نام و ... نگارنده سوم[1]، .... (سبک نویسندگان)

1- مرتبه علمی نگارنده، رشته تخصصی، نام سازمان، نام شهر، نام کشور (سبک مشخصات نویسندگان)

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

* نویسنده مسئول (email@address.ac.ir)

تاریخ دریافت:

تاریخ پذیرش:

چکیده (سبک عنوان چکیده)

چکیده فارسی با قلم B Nazanin11 در قالب یک پاراگراف، پس از اسامی نویسنده(گان) قرار گیرد. چکیده باید در عین مختصر بودن، به روشنی گویای محتوای مقاله بوده و صنعتی‌بودن 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 د. از ذکر منابع نیز خودداری گردد. تعداد کلمات چکیده بین 150 تا 250 کلمه است. واژه های کلیدی با قلم B Nazanin11 به صورت برجسته و به ترتیب حروف الفبا نگارش شوند. تعداد **واژگان کلیدی** از 5 مورد بیشتر نباشد. **از آوردن پاورقی در عنوان، چکیده فارسی و انگلیسی اجتناب گردد** (سبک چکیده)

واژه‌های کلیدی (سبک عنوان واژه های کلیدی)

اختصاری

الفبا

پاراگراف

کلمات (سبک واژه های کلیدی)

مقدمه (سبک عنوان سطح 1)

مقاله باید با حروف خوانا و در کاغذ A_4 و حداکثر در 20 صفحه به‌صورت دوستونی و حاشیه‌های آن از هر طرف 2/5 سانتی‌متر تهیه و ازطریق سامانهٔ نشریه ارسال گردد. این قالب جهت آماده‌سازی مقاله آماده شده است. کلیهٔ تنظیمات مربوط به صفحه و فواصل از اطراف، در این قالب اعمال شده است. لطفا یک کپی از این فایل را در قسمتی از رایانه ذخیره نموده و پس از آن با کپی و سپس چسباندن[1] متن خود در این فایل، سبک[2] 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

مقاله‌ای برای چاپ پذیرفته خواهد شد که متن کامل آن قبلاً در هیچ مجله یا نشریه‌ای منتشر و یا برای چاپ به سایر مجلات ارائه نگردیده باشد. در مقالاتی که دارای چند مؤلف هستند ترتیب اسامی و حقوق مؤلفین برعهده ارسال کننده مقاله (نویسنده مسئول) خواهد بود. مسئولیت هر مقاله از نظر علمی بر عهده نویسنده(گان) 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 مروری بر پژوهش‌های گذشته با استناد به مدارک منتشرشدهٔ قبلی و شامل معرفی و توجیه موضوع موردبررسی باشد و هدف بررسی را به‌وضوح روشن نماید.

مواد و روش‌ها شامل شرح کامل مواد یا وسایل به‌کارگرفته‌شده و روش آزمایش در بررسی باشد. نتایج و بحث باید شامل تجزیه‌وتحلیل نتایج به‌دست‌آمده دربارهٔ تحقیق موردنظر باشد.

نتیجه‌گری کلی مقاله باید دربرگیرندهٔ اهداف کلی پژوهش و با درنظرگرفتن نتایج کاربردی پژوهش باشد

[1] Paste
[2] Style

قلم‌های مورداستفاده: متن مقاله با قلم B Nazanin 12 و عناوین اول و دوم به ترتیب با قلم B Nazanin 12 و B Nazanin 11 به‌صورت برجسته تایپ شود. از سیستم شماره‌گذاری برای عناوین استفاده **نشود**. همچنین شمارهٔ زیرنویس‌ها در هر صفحه از یک شروع شده و توسط خود نرم‌افزار word شماره‌گذاری شود و از تایپ‌کردن شماره خودداری شود. فاصلهٔ بین خطوط در متن مقاله Single بدون فاصلهٔ قبل و بعد انتخاب گردد. کلمات انگلیسی در متن با قلم Times New Roman 10 تایپ شوند. کلیهٔ معادلات و روابط موجود در متن مقاله در سطر جداگانه و به‌ترتیب شماره‌گذاری گردند. واحدها باید در مقیاس متریک (SI) ارائه گردند و تمامی آنها به‌صورت کلمات فارسی و بعد از اعداد آورده شوند (مثال: 25 درجهٔ سانتی‌گراد، 100 میلی‌گرم در لیتر). از به‌کاربردن کلمات خارجی- غیر از اسامی علمی- در متن خودداری و درصورت نبودن معادل فارسی فراگیر، آنها را به فارسی نوشته و اصل کلمه به‌صورت زیرنویس در همان صفحه ارجاع داده شود. اسامی علمی (جنس و گونهٔ گیاهان، جانوران و میکروارگانیسم‌ها) در تمام مقاله به‌صورت مایل تایپ شود.

پاراگراف‌های دوم به بعد در هر عنوان با فرورفتگی به اندازهٔ 5 میلی‌متر از شروع سطر و بدون فاصله پس یا پیش از پاراگراف است. هنگام استفاده از علایمی نظیر ، : . ؛ و غیره، به‌خاطر داشته باشید که کلیهٔ این علایم بدون فاصله از حرف قبلی و با یک فاصله از حرف بعدی نوشته می‌شوند.

جهت مشخص‌نمودن احتمال، حرف P به‌صورت حرف بزرگ انگلیسی و مایل با قلم Times New Roman 10 درج گردد ($P<0/05$). پرانتزها با قلم فارسی تایپ شوند.

* درصورتی‌که اصول بدیهی نگارش در مقاله رعایت نگردیده باشد، پیش از ارسال به داوری به نویسنده مسترد خواهد شد (برخی از اصول نگارشی در جدول (1) آورده شده است) (سبک متن اصلی).

جدول، شکل و عکس (سبک عنوان سطح 2 و 3)

عنوان جدول و شکل با قلم B Nazanin10 و به‌صورت برجسته و متن مربوط به توضیح جدول‌ها و شکل‌ها با قلم B Nazanin10 و به‌صورت 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. مجموع جدول‌ها و شکل‌ها از 8 مورد تجاوز **ننماید**. توضیحات اضافی عنوان و متن جدول به‌صورت زیرنویس ارائه گردد. جدول‌ها و شکل‌ها در محل مناسب و به‌ترتیب در داخل متن مقاله گنجانده شود. جدول‌ها بدون خطوط عمودی و با حداقل خطوط افقی باشند. عنوان جدول باید مختصر و گویای ارتباط عوامل موردبحث جدول باشد. اعداد در جدول‌ها، شکل‌ها و سایر قسمت‌های مقاله باید به فارسی باشند. عکس‌ها باید دارای مقیاس باشند و درصورت اقتباس از منابع دیگر باید منبع مورداستفاده ذکر گردد.

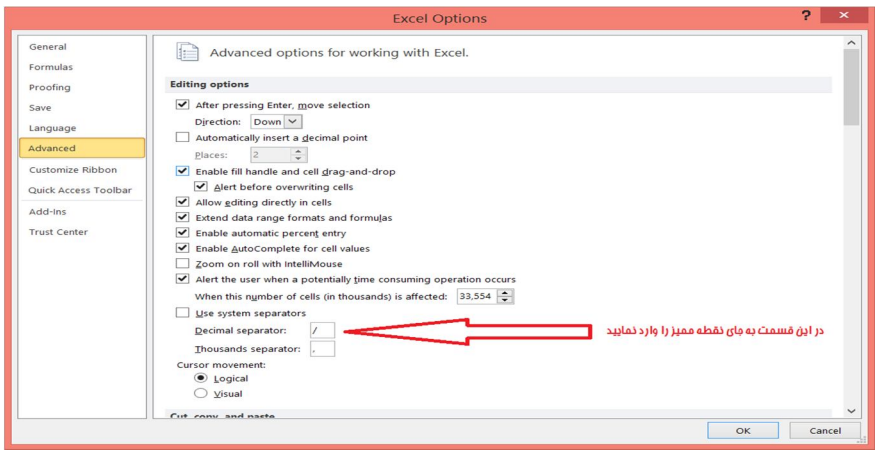
توجه: شکل‌ها باید از کیفیت مناسب برای چاپ برخوردار باشند (حتی‌الامکان در قالب TIFF). ممکن است برای چاپ، شکل‌ها کوچک‌تر شوند؛ بنابراین نوشته‌ها و اعداد روی شکل‌ها باید متناسب و کاملاً خوانا باشند.

نکتهٔ مهم: جهت درج اعداد اعشاری روی محور نمودارها می‌بایست از اعداد فارسی با ممیز (/) استفاده گردد و استفاده از نقطه به‌عنوان ممیز قابل‌قبول نخواهد بود. برای این منظور می‌توانید قلم‌های واجد این قابلیت (مجموعهٔ قلم پروین) را دانلود نمایید. نحوهٔ درج ممیز فارسی به‌جای نقطه در شکل (1) آورده شده است.

جدول (2) و شکل‌های (2) و (3) به‌عنوان نمونه پیشنهاد می‌شود.

جدول 1- برخی از اصول نگارش (سبک عنوان جدول) (http://www.persianacademy.ir/fa/das.aspx)

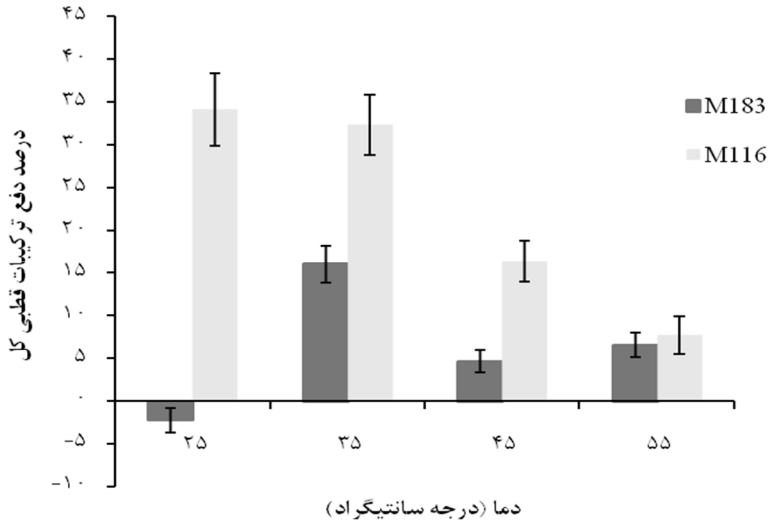
نکتهٔ نگارشی	راهنمای صفحه کلید
گذاشتن تشدید همیشه ضرورت ندارد مگر در جایی که موجب ابهام شود: معین/معیّن	SHIFT+ب
تنوین (اً)	ض+SHIFT=ً
آن همیشه جدا نوشته می‌شود مگر: آنها، آنجا، آنکه، بدان، آنچه، وانگهی	
این همیشه جدا نوشته می‌شود مگر: اینها، اینجا، اینکه، بدین	
-تر/ -ترین به غیر از بیشتر/ بیشترین، کمتر/ 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	
حرکت‌گذاری تنها در حدی لازم است که احتمال بدخوانی و ابهام داده شود: عُرضه/عَرضه؛ حَرف/حِرَف	ی/س/ش+SHIFT
که همیشه جدا نوشته می‌شود به جز در سه مورد: بلکه، اینکه، آنکه	
می– نمی با رعایت نیم‌فاصله، همواره جدا نوشته می‌شوند.	نیم‌فاصله (Ctrl+-)
ها (نشانه جمع) با رعایت نیم‌فاصله جدا از کلمه پیش از خود نوشته می‌شود (به جز در مورد آنها)	
یک در ترکیب، جدا از جزءِ پس از خود نوشته می‌شود، مگر در موارد: یکتا، یکجا، یکدست، یکدفعه، یکدیگر، یکرنگ، یکرو، یکسان، یکسره، یکسو، یکشنبه، یکنواخت	
نقطه (.)، دونقطه (:)، ویرگول (،) همواره به کلمه پیش از خود می‌چسبند ولی بعد از آنها درج یک فاصله الزامی است.	ک+SHIFT=: ف+SHIFT=،
تأمین، تأثیر و امثال این کلمات با حمزهٔ ساکن در وسط کلمه (أ) نوشته می‌شوند.	د+SHIFT=أ
حمزهٔ پایانی پس از حرف صدادار بلند «آ» حذف می شود، مانند: ابتدا، انتها، املا، انشا، اجرا و ...	
در حالت نسبت و همراهی با «یا» ی وحدت و نکره و نیز در اضافه، به جای حمزه، «ی» قرار می گیرد، مانند: ابتدای، انتهای، املای، انشای، اجرای و ...	
اگر کلمه-ی 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 ...	
نشانه اضافه پس از کلمه‌های مختوم به های بیان حرکت (ـه) به صورتی یایی نیمه (ء) بالای (ها) نوشته می‌شود، مانند: محمولهٔ غذا	ل+SHIFT=ۀ
(پرانتز ابتدا، به کلمه بعد و پرانتز انتها، به کلمه قبل از خود می‌چسبند) و به ترتیب از کلمه قبل و بعد از خود فاصله می‌گیرند.	
به املای برخی از کلمات رایج در مقالات حوزه صنعت غذا نظیر فرآوری/فراوری، فرآیند/فرایند و ... توجه شود.	ا+SHIFT=آ



شکل 1- نحوه درج ممیز فارسی به‌جای نقطه در نرم افزار اکسل 2010 (سبک عنوان شکل)

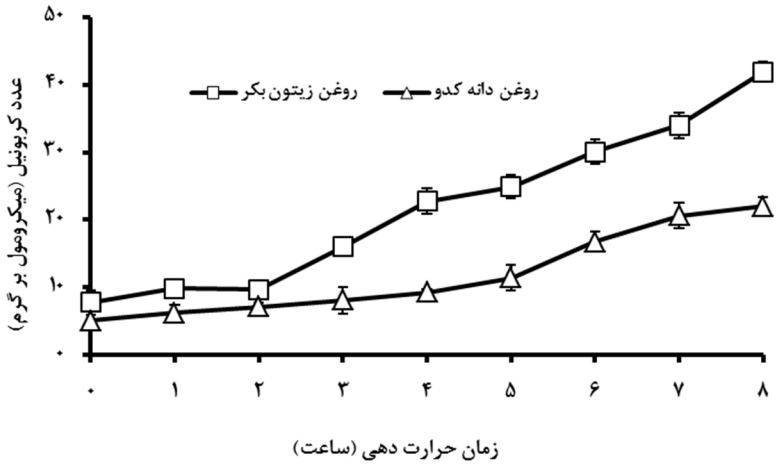
جدول 2- برخی خصوصیات شیمیایی مواد آلی مورداستفاده

	pH	فلزات سنگین (میلی‌گرم بر کیلوگرم)		خاکستر (درصد)
		Cd	Pd	
لجن فاضلاب	7/4	0/88	1/2	86/8
کمپوست	7/08	657/83	9/4	9/4



شکل 2- اثر اندازهٔ حفره‌های غشا و دما بر درصد دفع ترکیبات قطبی کل تراوه طی اولترافیلتراسیون روغن کانولا با غشا PVDF

تیرک‌های ترسیم‌شده نشان دهندهٔ خطای استاندارد میانگین داده‌های اندازه‌گیری شده است.



شکل 3- تغییر عدد کربونیل روغن‌های زیتون بکر و دانهٔ کدو طی فرایند حرارتی در دمای 180 درجهٔ سانتی‌گراد

تیرک‌های ترسیم‌شده روی نقاط، نشان‌هندهٔ انحراف استاندارد داده‌های اندازه‌گیری شده است.

روابط و فرمول‌های ریاضی (سبک عنوان سطح 2 و 3)

جهت تایپ روابط و فرمول‌های ریاضی از ابزار معادله[1] موجود در در نرم‌افزار آفیس با قلم کامبریا مث[2] 9 استفاده شود و نحوهٔ تایپ از سمت چپ انجام شود و جهت شماره‌گذاری از شمارهٔ فرمول در داخل پرانتز استفاده شود. دقت شود فرمول‌ها به‌صورت عکس در متن قرار داده **نشود**.

در نوشتن فرمول‌ها رعایت نکات زیر الزامی است:

1- در فرمول‌نویسی پارامترها و متغیرها به‌صورت ایتالیک می‌آیند، ولی اعداد، کلمات، توابع مشخص و واحدها به‌صورت غیرایتالیک می‌آیند.

2- درصورتی‌که فرمول طولانی باشد و طول آن از یک سطر تجاوز کند، باید در جای مناسب شکسته شده و ادامهٔ فرمول در سطر بعدی آورده شود و از فشرده‌کردن آن پرهیز شود.

3- وقتی ادامهٔ فرمول در سطرهای بعدی آورده می‌شود، باید از سطر دوم به بعد از سمت چپ فرورفتگی داشته باشد.

4- شمارهٔ هر فرمول در گوشه سمت راست فرمول داخل پرانتز درج و قبل از آن در متن به آن ارجاع داده شود (رابطهٔ 1).

5- دقت شود از نقطه‌ممیز یا همان نقطهٔ پایان جمله ($a.b$) به‌جای نقطه‌ضرب ($a.b$) استفاده نشود.

رابطهٔ (1)

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

نحوهٔ ارسال مقاله (سبک عنوان سطح 1)

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

هزینهٔ مقالات (سبک عنوان سطح 1)

درصورت پذیرش مقاله جهت چاپ، به‌ازای هر صفحه مبلغ یکصد و پنجاه هزار ریال بابت هزینه‌های داوری، ویراستاری و صفحه‌آرایی دریافت می‌گردد.

تقدیر و تشکر (سبک عنوان سطح 1)

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

فرم تعهد نویسندگان (سبک عنوان سطح 1)

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

فرم تعارض منافع (سبک عنوان سطح 1)

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

[1] Insert -> Symbols -> Equation
[2] Cambria Math

منابع

منابع مورد استفاده باید شامل جدیدترین اطلاعات در زمینه کار مورد نظر باشند. استناد بـه منـابع در مـتن مقالـه بـه سـبک APA 6th (APA System: Author – Date Scheme) با استفاده از نرم‌افزار EndNote انجام گیرد. کلیه منابع در مقالات فارسی می‌بایست بـه زبـان 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 برگـردان انگلیسی آن (مانند مثال‌ها) نیز ذکر و در انتهای منبع حتماً واژهٔ (in Persian) قید شود. برای کسب اطلاعات بیشتر می‌توانید از راهنمای رفرنس‌دهی نسخهٔ APA 6th استفاده نمایید.

لینک 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 8pt انتخاب شود. تورفتگی منابع به صورت Hanging و 0/5 لحاظ گردد.

تمام منابع در متن باید به صورت زیر درج شود:

1- یک نویسنده: نام نویسنده و سال انتشار (Smith, 2003) – (کرمی، 1374)

2- دو نویسنده: نام هر دو نویسنده و سال انتشار (Smith & Jones, 2004) – (مهدویان و زنجیریان، 1383)

3- بیش از دو نویسنده:

برای اولین بار: (Hoges, Jensen, Olsen, & Forgan, 2013) - (قربانی حسن‌سرایی، شهیدی، بهادر قدوسی و معتمـدزادگان، 1391)

در ارجاعات بعدی: (Hoges *et al*., 2013) – (قربانی حسن‌سرایی و همکاران، 1391)

منابع ممکن است به صورت مستقیم و یا اینکه داخل پرانتز قرار گیرند. منابع باید به‌ترتیب حروف‌الفبا و سال انتشار درج گردند.

مثال:

برای اولـین‌بـار: (Allan, 1996a,b, 1999; Allan & Jones, 1995; Hoges, Jensen, Olsen, & Forgan, 2013)- (سـازمان ملـی استاندارد ایران، 1389 و 1382؛ کوروشیان، شریفی، مهدویان و بلوریان، 1394)

در ارجاعات بعدی:

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

Kramer (2000): Kramer و Smith (2000)؛ Hoges و همکاران (2013)؛ سازمان ملی استاندارد ایران (1389)

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. (1387). میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام-روش جامع برای شمارش کپک‌ها و مخمرها-قسمت اول: روش شمارش کلنی در فرآورده‌های با فعالیت آبی (a_w) بیشتر از 0/95. (شماره استاندارد ملی ایران 10899-1). 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

پورعاشوری، پ. (1387). خصوصیات فیزیکوشیمیایی و پایداری اکسایشی میکروکپسول‌های حاوی روغن ماهی و اسیدهای چرب امگا-3 (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.* (mastre'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. (1385). تهیهٔ پلی‌پیرول و کامپوزیت‌های آن در محلول‌های گوناگون با استفاده از مواد افزودنی مختلف و مطالعهٔ شکل‌شناسی و رسانندگی فیلم تهیه‌شده. مجله علوم و تکنولوژی پلیمر، 19(2):131-136. doi: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 orphology 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. (1395). شیمی مواد غذایی. شرکت سهامی انتشار. تعداد صفحات:4870 یا صفحات 368-333

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.، شهیدی، ف.، بهادر قدوسی، ح. و معتمدزادگان، ع. (1391، مهر). قابلیت‌های منابع مختلف اسیدهای چرب امگا-3 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 Author[1], 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

چکیدهٔ انگلیسی در انتهای مقاله (بعد از فهرست منابع) قرار گیرد. عنوان انگلیسی با قلم Times New Roman 14 و به‌صورت برجسته در وسط سطر آورده شود. ابتدای واژه‌های اصلی عنوان انگلیسی مقاله با حروف بزرگ نوشته شود. اسامی نویسنده(گان) با قلم Times New Roman 12 و به‌صورت برجسته در وسط سطر و پس از آن درجهٔ علمی و محل خدمت با قلم Times New Roman 11 و به‌صورت معمولی تایپ شود. چکیدهٔ انگلیسی باید ترجمهٔ کامل چکیده فارسی باشد و تعداد کلمات چکیده بین 150 تا 250 کلمه است. چکیدهٔ انگلیسی با قلم Times New Roman 11 معمولی پس از اسامی نویسنده(گان) قرار گیرد. واژگان کلیدی انگلیسی (keywords) با قلم Times New Roman 11 به‌صورت برجسته پس از چکیدهٔ انگلیسی آورده شوند. تعداد واژگان کلیدی انگلیسی برابر فارسی آن باشد.

مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی

http://journals.rifst.ac.ir
نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی

JRIFST

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 12 بزرگراه مشهد ـ قوچان، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی

صندوق پستی: **91895/157/356**، کدپستی: **91851-76933** نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی

نام و نام خانوادگی: .....

نشانی: .....

.....

تلفن: .....

مایل به اشتراک مجله از تاریخ / / می‌باشم.

بهای اشتراک سالیانه 1000000 ریال

(بهای اشتراک سالیانه برای دانشجویان شامل 50 درصد تخفیف، معادل 500000 ریال می‌باشد.)

حق اشتراک بایستی 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 کپی کارت دانشجویی (درصورت استفاده از تخفیف دانشجویی) ارسال گردد.

شماره حساب تمرکزی: **400-102-540-301-9829**

شناسهٔ واریز (حتماً قید شود): **338-0254-6011-3557-0000-0000-0000-203**

شبا حساب: **IR41-0100-0040-0102-5403-0198-29**

تاریخ: **امضاء:**

هیأت داوران مقالات این شماره:

دکتر الهام انصاری‌فر	گروه علوم و صنایع غذایی، گروه بهداشت عمومی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند
دکتر آرام بستان	گروه نانوفناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی
دکتر شهرام بیرقی طوسی	گروه فرآوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی، جهاد دانشگاه خراسان رضوی
دکتر شیما پیری قشلاق	دانشگاه ارومیه
دکتر سیدمهدی جعفری	گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
دکتر مسلم جهانی	گروه شیمی مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی
دکتر محمدباقر حبیبی نجفی	گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر مرضیه حسینی‌نژاد	گروه زیست فناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی
دکتر محمدعلی حصاری‌نژاد	گروه فرآوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی
دکتر محسن زندی	گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه زنجان
دکتر محبوبه سرابی جماب	گروه زیست فناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی
دکتر منیرالسادات شاکری	گروه زیست فناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی
دکتر پروین شرایعی	بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی
دکتر مصطفی شهیدی نوقابی	گروه شیمی مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی
دکتر عباس عابدفر	گروه زیست فناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی
دکتر بهاره عمادزاده	گروه نانوفناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی
دکتر سودابه عین‌افشار	بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی
دکتر میلاد فتحی	گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه صنعتی اصفهان
دکتر محسن فتحی‌نجفی	مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی-واحد مشهد
دکتر محسن قدس روحانی	گروه علوم و صنایع غذایی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی
دکتر بهروز قرآنی	گروه نانوفناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی
دکتر رسول کدخدایی	گروه نانوفناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی
دکتر داود کلانتری	گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
دکتر محمد گلی	گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی-واحد اصفهان (خوراسگان)
دکتر اسعد محمدامینی	گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان
دکتر جلال محمدزاده	بخش تحقیقات فنی و مهندسی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گلستان
دکتر سیدمحمود موسوی	گروه مهندسی شیمی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر الهام مهدیان	گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی-واحد قوچان
دکتر سارا ناجی طبسی	گروه نانوفناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی
دکتر راضیه نیازمند	گروه شیمی مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی
دکتر سمیه نیک‌نیا	گروه صنایع غذایی، دانشگاه زابل

Contents

Antioxidant Activity of Faba Bean (*Vicia Faba*) Proteins Hydrolysates Produced by Alcalase and Trypsin 1
Seyedeh Parya Samaei, Mohammad Ghorbani, Alireza Sadeghi Mahoonak, Mehran Alami

The Evaluation of Structural Properties and Release Behavior of D-limonene Nanoencapsulated with *Alyssum Homolocarpum* Seed Gum Applying Electrospraying 11
Khadije Khoshakhlagh, Mohebbat Mohebbi, Arash Koocheki

Physicochemical and Antimicrobial Properties and Determination of Phenols and Flavonoids Content of Propolis from Bee Hives in Khorasan Razavi Province 27
BiBi Marzieh Razavizadeh, Razieh Niazmand, Somayeh Hajinezhad, Ehsan Akbari

Optimizations of Probiotic Yogurt Formulation Containing Eggplant Puree Based on Analytic Hierarchy Process 41
Hossein Jooyandeh, Mohammad Noshad, Kowsar Kakaei, Mitra Ghodsi Sheikhjan

Using Arabic Gum, Maltodextrin and Inulin for Wall Compounds Microencapsulation and Rapid Release of the Bioactive Compounds from Cardamom Essential Oil in Saliva 57
Mostafa Shahidi Noghabi, Mohammad Molaveisi

A Comparison of Physicochemical and Sensory Characteristics of Ice Cream made from Cow's Milk, Soy Milk, or their Mix Powder 73
Abdolreza Mirchouli Borazgh, Mostafa Mazaheri Tehrani, Seyed Ali Mortazavi, Seyed Mohammad Ali Razavi

Comparison of the Antioxidant Effect of Microencapsulated and Un-microencapsulated Sodium Selenite with Butyl Hydroxyanisole in Soybean Oil 85
Sepideh Moshtaghi, Mohammad Goli

The Effect of *Pseudomonas putida* on the Reduction of Limonin in the De-bittering of Orange and Grapefruit Concentrates and Assessment of Physicochemical and Organoleptic Features 99
Yasamin Mohammadi, Payman Rajaei, Mohammadreza Eshaghi

Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology

License No. 92.20519 **Vol. 9, No. 1, 2020**

Published by: Research Institute of Food Science and Technology

Executive Manager: R. Kadkhodaee — 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
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. Kadkhodaee	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
R. Gooneratne	Department of Wine, Food and Molecular Biosciences, Faculty of Agriculture & Life Sciences, Lincoln University, New Zealand
I.I. Muhamad	Professor and Head of the Department of Bioprocess and Polymer Engineering, Faculty of Chemical and Energy Engineering, Universiti Teknologi Malaysia (UTM)
Q.D. Nguyen	Professor, Head of Department, Vice-Dean For Scientific and Innovation Affairs Faculty of Food Science Szent István University, Hungary
A.D.A Bekhit	Associate Professor, Department of Food Science, University of Otago, New Zealand
X. Wu	Vice Dean, Department of Food Science and Engineering, International School Jinan University, Guangzhou, China

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

Research Institute of Food Science and Technology

Journal of **Research and Innovation in Food Science and Technology**

Volume 9, Number 1, 2020 ISSN: 2252-0937 (Print), 2538-2357 (Online)

Contents

Antioxidant Activity of Faba Bean (*Vicia Faba*) Proteins Hydrolysates Produced by Alcalase and Trypsin 1
Seyedeh Parya Samaei, Mohammad Ghorbani, Alireza Sadeghi Mahoonak, Mehran Alami

The Evaluation of Structural Properties and Release Behavior of D-limonene Nanoencapsulated with *Alyssum Homolocarpum* Seed Gum Applying Electrospraying 11
Khadije Khoshakhlagh, Mohebbat Mohebbi, Arash Koocheki

Physicochemical and Antimicrobial Properties and Determination of Phenols and Flavonoids Content of Propolis from Bee Hives in Khorasan Razavi Province 27
BiBi Marzieh Razavizadeh, Razieh Niazmand, Somayeh Hajinezhad, Ehsan Akbari

Optimizations of Probiotic Yogurt Formulation Containing Eggplant Puree Based on Analytic Hierarchy Process 41
Hossein Jooyandeh, Mohammad Noshad, Kowsar Kakaei, Mitra Ghodsi Sheikhjan

Using Arabic Gum, Maltodextrin and Inulin for Wall Compounds Microencapsulation and Rapid Release of the Bioactive Compounds from Cardamom Essential Oil in Saliva 57
Mostafa Shahidi Noghabi, Mohammad Molaveisi

A Comparison of Physicochemical and Sensory Characteristics of Ice Cream made from Cow's Milk, Soy Milk, or their Mix Powder 73
Abdolreza Mirchouli Borazgh, Mostafa Mazaheri Tehrani, Seyed Ali Mortazavi, Seyed Mohammad Ali Razavi

Comparison of the Antioxidant Effect of Microencapsulated and Un-microencapsulated Sodium Selenite with Butyl Hydroxyanisole in Soybean Oil 85
Sepideh Moshtaghi, Mohammad Goli

The Effect of *Pseudomonas putida* on the Reduction of Limonin in the De-bittering of Orange and Grapefruit Concentrates and Assessment of Physicochemical and Organoleptic Features 99
Yasamin Mohammadi, Payman Rajaei, Mohammadreza Eshaghi