



## بهینه‌یابی شرایط استخراج آبی بتاگلوکان از جو بدون پوشینه رقم لوت به روش سطح پاسخ

عبدالله همتیان سورکی<sup>۱</sup> - آرش کوچکی<sup>۲\*</sup> - محمد الهی<sup>۳</sup> - سید محمد علی رضوی<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۸/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۲۱

## چکیده

در این پژوهش تاثیر شرایط استخراج شامل زمان، نسبت حلال به آرد جو و pH بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، رفتار جریان، پایداری و مولسیون و رنگ بتاگلوکان استخراج شده از دانه جو بدون پوشینه رقم لوت توسط طرح مرکب مرکزی و به روش سطح پاسخ تعیین گردید. نتایج تجزیه و تحلیل آماری و ضرایب مدل‌ها نشان داد که مدت زمان استخراج، نسبت حلال به آرد جو و pH اثر معنی‌داری بر بازدهی و خلوص بتاگلوکان، پایداری کف و امولسیون، ضریب قوام ( $k$ )، شاخص رفتار جریان ( $n$ ) و مولفه‌های رنگی  $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  داشت. افزایش زمان استخراج و نسبت حلال به آرد جو اثر مطلوبی بر بازدهی و خلوص بتاگلوکان استخراج شده گذاشت که این امر خود موجب بهبود خاصیت قوام‌دهندگی و ویژگی‌های رفتار جریان آن شد. از طرفی با افزایش قدرت قوام‌دهندگی بتاگلوکان، توانایی پایداری سیستم‌های کف و امولسیون نیز افزایش یافت. افزایش pH موجب کاهش بازدهی استخراج و افزایش خلوص بتاگلوکان گردید. بهترین شرایط استخراج زمانی حاصل شد که زمان استخراج ۹۰ دقیقه، نسبت حلال به آرد جو ۱۰ و ۱ و pH ۷/۳۳ بود. در این نقطه بهینه، بازدهی استخراج، ۴/۱۲ درصد؛ خلوص، ۶۹/۱۱ درصد؛ پایداری کف، ۸۶/۹۵ درصد؛ پایداری امولسیون، ۸۸/۷۷ درصد؛ ضریب قوام،  $Pa.s^n$  ۱/۵۱؛ شاخص رفتار جریان، ۰/۶۲؛  $L^*$ ، ۷۳/۴۲؛  $a^*$ ، ۰/۸۱ و  $b^*$ ، ۸/۷۲ بود.

واژه‌های کلیدی: بتاگلوکان، جو بدون پوشینه، روش سطح پاسخ، رفتار جریان و پایداری امولسیون

## مقدمه

بتاگلوکان‌ها گروهی از پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای هستند که از واحدهای گلوکز با پیوندهای بتا (۱→۴) (۷۰ درصد) و بتا (۱→۳) (۳۰ درصد) تشکیل شده‌اند. بتاگلوکان مهمترین فیبر محلول در آب موجود در دیواره سلولی برخی از دانه‌های غلات از جمله جو (۲/۵ - ۷ درصد)، یولاف (۲-۵ درصد) و گندم و چاودار (۲ درصد) است (Roman et al., 2013). در بین غلات، جو و یولاف غنی‌ترین منابع بتاگلوکان می‌باشند که میزان آن در این غلات بسته به ویژگی‌های ژنتیکی (نوع رقم) و شرایط آب و هوایی متفاوت می‌باشد (Peterson, 1991). این ترکیب بر کاهش میزان کلسترول بد خون موثر است و باعث کاهش اندیس گلیسمیک خون می‌شود (Skendi et al., 2003). به همین دلیل بتاگلوکان در گروه مواد غذایی عملگرا یا فراسودمند به‌عنوان فیبر رژیمی مطرح شده است. در برخی منابع بتاگلوکان را به دلیل ویژگی‌های رفتار جریان

محلول آن در فاز آبی به‌عنوان یک هیدروکلوئید مطرح می‌کنند (Vaikousi and Biliaderis, 2005؛ Burkus and Temelli, 2005؛ Hager et al., 2011). محلول‌های حاوی بتاگلوکان به دلیل گرانیوی بالا و خاصیت هیدروکلوئیدی و جذب آب آزاد موجود در مواد غذایی می‌توانند به‌عنوان یک قوام‌دهنده در برخی محصولات غذایی از جمله سس‌ها، چاشنی‌های سالاد و بستنی بکار برده شوند (Wood and Webster, 1986؛ Dawkins and Kontogiorgos et al., 1997؛ Nnanna, 1995؛ Temelli, 1997). بتاگلوکان علاوه بر قابلیت تغلیظ‌کنندگی می‌تواند در شرایط خاص تولید ژل نماید که از این ویژگی نیز می‌توان در صنعت غذا استفاده نمود (Ahmad et al., 2010؛ امیری و همکاران، ۱۳۸۹). روش استخراج تاثیر چشمگیری بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی بتاگلوکان دارد. افزایش دما موجب افزایش بازدهی استخراج بتاگلوکان می‌گردد (امیری و همکاران، ۱۳۸۹). وزن مولکولی پلی‌ساکارید بتاگلوکان یک عامل موثر بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و گرانیوی آن می‌باشد (Ebringerova et al., 2005). وزن مولکولی بتاگلوکان جو در محدوده ۲۵۰۰-۱۲۶ کیلودالتون است (Ebringerova؛ Beer et al., 1997؛ Lazaridou et al., 2004)

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار، استادیار و استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد.  
\* - نویسنده مسئول: Email: koocheki@um.ac.ir

پوشینه رقم لوت با حداکثر راندمان کیفی و کمی به شکلی که این روش ساده و کاربرد صنعتی نیز داشته باشد، مورد نیاز می‌باشد. بنابر دلایل مذکور هدف از این تحقیق، تعیین شرایط بهینه استخراج بتاگلوکان از دانه جو بدون پوشینه جهت دستیابی به بالاترین ویژگی‌های فیزیکیوشیمیایی و کیفیتی و معرفی این رقم جدید به‌عنوان یکی از مهمترین و پر بازده‌ترین منابع تولید بتاگلوکان به صنایع غذایی کشور می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

رقم لوت از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر با کد EH-83-7 تهیه و در سردخانه نگهداری شد. الکل مطلق (۹۹/۷ درصد) جهت استخراج از شرکت الکل زنجان تهیه گردید. کیت آنزیمی جهت اندازه‌گیری میزان بتاگلوکان از شرکت مگازیم (ایرلند) تهیه شد. آلبومین سفیده تخم مرغ، توئین ۸۰ و مواد شیمیایی مورد نیاز جهت استفاده در کیت آنزیمی بتاگلوکان شامل هیدروکسید سدیم، سدیم دی هیدروژن اورتوفسفات دی هیدرات، استیک اسید گلاسیال، سدیم آزید و اسید کلریدریک از شرکت مرک آلمان خریداری گردید.

## استخراج بتاگلوکان

پیش از فرایند استخراج، دانه‌های جو بدون پوشینه توسط آسیاب آزمایشگاهی آرد شده و پس از الک کردن با مش ۱۰۰ جهت غیرفعال‌سازی آنزیم و همچنین حذف چربی، به مدت ۳ ساعت درون محلول الکل اتیلیک ۸۰ درصد (وزنی / وزنی) در دمای محیط همراه با همزدن و رفلاکس قرار گرفت. سپس نمونه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت خشک شد (Skendi *et al.*, 2003). استخراج بتاگلوکان با استفاده از آب داغ به روش Skendi و همکاران (۲۰۰۳) و Ahmad و همکاران (۲۰۰۹) با کمی تغییر مطابق با شکل ۱ انجام شد. متغیرها و سطوح استفاده شده جهت استخراج بتاگلوکان در جدول ۱ گزارش شده است. میزان بتاگلوکان به روش McCleary and Holmes (1985) و با استفاده از کیت آنزیمی (شرکت مگازیم، ایرلند) تعیین گردید.

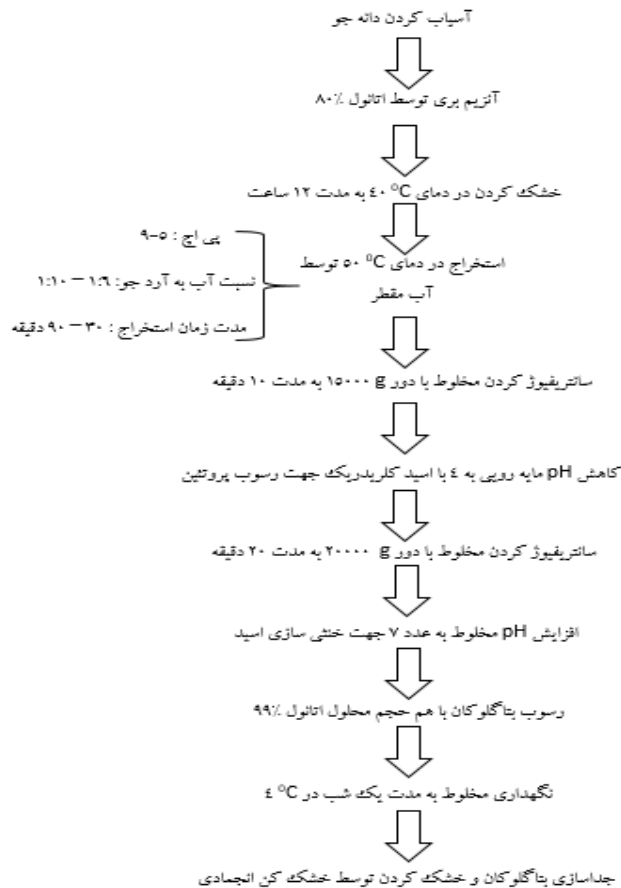
## تهیه محلول بتاگلوکان

برای تهیه محلول، یک گرم بتاگلوکان درون ۱۰۰ گرم آب مقطر به آرامی و توسط همزن مغناطیسی در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد حل گردید. بمنظور جذب آب کامل بتاگلوکان، محلول به مدت یک شب در دمای یخچال نگهداری شد.

(Papageorgiou *et al.*, 2005 ; *et al.*, 2005). این تفاوت، به روش و شرایط استخراج بتاگلوکان بستگی دارد. به‌عنوان مثال، افزایش دمای استخراج باعث افزایش وزن مولکولی بتاگلوکان استخراج شده می‌شود (Zhang *et al.*, 1998 ; 1998). نتایج تحقیق Temelli (1997)؛ Izydorczyk *et al.*، نشان داد که با افزایش دمای استخراج، میزان گرانروی محلول بتاگلوکان افزایش می‌یابد. این محقق دلیل این افزایش گرانروی را به افزایش میزان بتاگلوکان و نشاسته استخراج شده در دماهای بالا نسبت داده است.

یکی دیگر از پارامترهای موثر بر ویژگی‌های فیزیکیوشیمیایی بتاگلوکان، pH محیط استخراج آن می‌باشد. نتایج تحقیق Temelli (۱۹۹۷) نشان داد که با افزایش pH تا ۹، ویسکوزیته ظاهری افزایش می‌یابد. این محقق دلیل این افزایش ویسکوزیته را افزایش میزان بتاگلوکان استخراج شده در pH بالا بیان نمود. نتایج پژوهش Burkus and Temelli (1998) نیز نشان داد که ویسکوزیته ظاهری بتاگلوکان استخراج شده در pH ۹ نسبت به pH های پایین‌تر، بیشتر بوده و پایداری بیشتری در مقابل افزایش درجه برش داشت. این در حالی است که برخی محققان نتایجی بر خلاف این نظر ارائه کرده‌اند. نتایج این پژوهش‌ها نشان می‌دهد که استخراج بتاگلوکان در محیط‌های قلیایی باعث دپلمریزه شدن نسبی زنجیره خطی بتاگلوکان شده که این امر وزن مولکولی و ویسکوزیته ظاهری بتاگلوکان را کاهش می‌دهد (Carr *et al.*, 1990 ; Beer *et al.*, 1997 ; 1997 ; Brennan and Cleary., Knuckles *et al.*, 2005 ; Ahmad *et al.*, 2009).

جو بدون پوشینه یکی از ارقام دانه جو می‌باشد که به دلیل ساختار فنوتیپی آن (عدم وجود پوشش سخت اطراف دانه)، کاربرد تکنولوژیکی زیادی دارد. تحقیقات نشان داده است که میزان فیبرهای محلول لاین‌های جو بدون پوشینه نسبت به جو معمولی بیشتر می‌باشد. بطور متوسط ۴/۵ درصد وزن ماده خشک این نوع جو، بتاگلوکان می‌باشد که بیشتر از گندم و چاودار است (Storsley *et al.*, 2003). دانه جو بدون پوشینه رقم لوت اولین رقم جو بدون پوشینه تجاری در کشور می‌باشد که در سال ۱۳۹۲ توسط موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج معرفی و به ثبت رسیده است. تا کنون هیچ گونه پژوهشی بر روی خصوصیات و ویژگی‌های اجزای این رقم جو، از جمله بتاگلوکان انجام نشده است. از طرف دیگر بتاگلوکان به دلیل دارا بودن ویژگی‌های هیدروکلوئیدی و خواص تغذیه‌ای فراوان می‌تواند به‌عنوان یک فیبر هیدروکلوئیدی-رژیمی مورد پژوهش و بررسی قرار گیرد (Skendi *et al.*, 2003). با توجه به ویژگی‌های تغذیه‌ای و تکنولوژیکی بالای بتاگلوکان، بنظر می‌رسد تعیین یک روش بهینه جهت استخراج آن از جو بدون



شکل ۱- مراحل استخراج بتاگلوکان به روش آب داغ

سیرکولاتور حرارتی تعیین شد. در این آزمون پس از انجام پیش آزمون، با توجه به گشتاور ایجاد شده برای نمونه طبق دستورالعمل دستگاه اسپیندل SC4-18 انتخاب شد.

۶/۷ میلی لیتر از نمونه داخل ظرف نمونه شماره SC4-13R (P) متصل به سیرکولاتور حرارتی ریخته شد. نمونه به مدت ۲۰ دقیقه درون ظرف قرار گرفت تا دمای نمونه بر روی ۲۵ درجه سانتی گراد ثابت شود. تمامی آزمون‌ها در دامنه درجه برش ۱ تا  $s^{-1}$  انجام شد که طبق دستورالعمل دستگاه برای این اسپیندل، جهت تبدیل مقادیر سرعت چرخشی (r.p.m) به درجه برش از ضریب ۱/۳۲ استفاده شد.

بمنظور برازش داده‌ها از مدل قانون توان استفاده شد.

$$\tau = k \gamma^n \quad (1)$$

که در این مدل  $\tau$  نیروی برش،  $\gamma$  درجه برش،  $k$  ضریب قوام و  $n$  شاخص رفتار جریان می‌باشد  
برای تعیین قدرت پایداری کف، محلول ۱ درصد (وزنی/وزنی)

### ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و رفتار جریان بتاگلوکان

ویژگی‌های رنگی بتاگلوکان استخراج شده از جو بدون پوشینه با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج هانتربل (مدل Color Flex, 45 Reston VA، آمریکا) پس از خشک کردن و آسیاب کردن نمونه تعیین گردید. ۲ گرم از نمونه آسیاب شده درون سل دستگاه ریخته شد، سپس پوشش سل بر روی آن قرار گرفت و فاکتورهای  $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  توسط نرم‌افزار دستگاه تعیین گردید. مؤلفه  $L^*$  معادل روشنایی تصویر نمونه است که ۰ معادل مشکی و ۱۰۰ معادل انعکاس کامل نور می‌باشد.

مؤلفه  $a^*$  نامحدود بوده و مقادیر مثبت معادل رنگ قرمز و مقادیر منفی آن معادل رنگ سبز می‌باشد. مؤلفه  $b^*$  نیز نامحدود بوده و مقادیر مثبت آن معادل رنگ زرد و مقادیر منفی معادل رنگ آبی می‌باشد (افشاری جویباری و فرحناکی، ۱۳۸۸).

رفتار جریان محلول بتاگلوکان با استفاده از دستگاه ویسکومتر چرخشی بروکفیلد (مدل آر وی دی وی III، آمریکا) مجهز به

دقیقه درون حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از آن توسط سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰g سانتریفیوژ گردید. در نهایت ارتفاع امولسیون باقیمانده از روی لوله آزمایش اندازه‌گیری شد و قدرت پایداری امولسیون از رابطه زیر تعیین گردید:

$$(3) \quad 100 \times (v_1 - v_0) / v_0 = \text{پایداری امولسیون (درصد)}$$

که در این معادله  $v_0$  و  $v_1$  به ترتیب ارتفاع اولیه و نهایی امولسیون بود.

### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این تحقیق جهت بهینه‌سازی شرایط استخراج بتاگلوکان از دانه جو بدون پوشینه رقم لوت از روش سطح پاسخ و طرح مرکب مرکزی با پنج تکرار در نقطه مرکزی با استفاده از نرم‌افزار Design Expert (نسخه ۷.۰.۰) انجام گردید. متغیرهای مستقل شامل زمان، pH محلول و نسبت حلال (آب مقطر) به آرد جو در سه سطح مورد استفاده در جدول ۱ نشان داده شده است.

آلبومین در آب مقطر تهیه گردید. سپس ۱۰ گرم از محلول حاوی بتاگلوکان به محلول حاوی آلبومین اضافه شد. محلول به مدت ۲ دقیقه با دستگاه اولتراتوراکس (مدل تی ۲۵ دیجیتال، شرکت آی کی ای آلمان) با دور ۱۰۰۰۰rpm هم‌زده شد.

پایداری کف پس از ۱۲۰ دقیقه، به روش شکرالهی (۱۳۹۲) و با استفاده از فرمول ذیل محاسبه شد:

$$(2) \quad 100 \times (v_2 - v_1) / (v_1 - v_0) = \text{پایداری کف (درصد)}$$

که در این معادله  $v_0$  ارتفاع اولیه محلول،  $v_1$  ارتفاع کف بلافاصله پس از هم‌زدن با توراکس و  $v_2$  ارتفاع کف پس از ۱۲۰ دقیقه بود.

برای تعیین قدرت پایداری امولسیون ابتدا محلول نیم درصد بتاگلوکان به روش ذکر شده تهیه گردید. ۲۰ گرم روغن مایع ذرت به ظرف نمونه اضافه شد. توئین ۸۰ به میزان ۰/۱ درصد (وزنی/وزنی) به‌عنوان امولسیفایر به مخلوط اضافه گردید. سپس مخلوط به مدت ۲ دقیقه توسط دستگاه اولتراتوراکس با دور ۱۰۰۰۰rpm هم‌زده و درون لوله آزمایش ریخته شد. سپس لوله‌های آزمایش به مدت ۳۰

جدول ۱- متغیرها و سطوح استفاده شده در طرح مرکب مرکزی جهت استخراج بتاگلوکان به روش آب داغ.

مقادیر واقعی			شماره آزمون
pH	نسبت حلال به آرد جو	زمان (دقیقه)	
۷	۸	۶۰	۱
۷	۸	۶۰	۲
۷	۸	۶۰	۳
۷	۸	۳۰	۴
۷	۸	۹۰	۵
۷	۸	۶۰	۶
۵	۶	۹۰	۷
۹	۶	۳۰	۸
۷	۸	۶۰	۹
۹	۱۰	۹۰	۱۰
۷	۶	۶۰	۱۱
۵	۱۰	۳۰	۱۲
۵	۶	۳۰	۱۳
۷	۱۰	۶۰	۱۴
۹	۶	۹۰	۱۵
۹	۱۰	۳۰	۱۶
۵	۱۰	۹۰	۱۷
۹	۸	۶۰	۱۸
۷	۸	۶۰	۱۹
۵	۸	۶۰	۲۰

## نتایج و بحث

بازدهی استخراج بتاگلوکان از دو رقم جو واکسی افزایش یافت

## بازدهی استخراج و خلوص بتاگلوکان

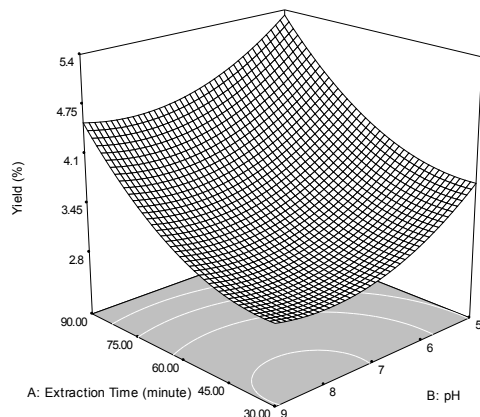
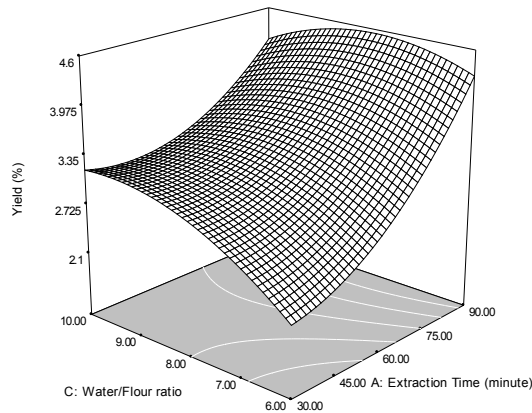
نتایج نشان داد که اثر خطی فاکتورهای مدت زمان استخراج، pH و نسبت حلال به آرد جو از نظر آماری تاثیر معنی‌داری بر بازدهی استخراج بتاگلوکان داشت ( $p < 0.01$ ).

که با توجه به میزان مجموع مربعات، زمان استخراج بیشترین اهمیت را در میزان بازدهی داشته است (جدول ۲). علاوه بر اثر خطی، اثر درجه دوم فاکتورهای مدت زمان استخراج، pH و نسبت حلال به آرد جو بر بازدهی روش استخراج معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). از بین اثرات متقابل تنها اثر متقابل زمان و نسبت حلال از نظر آماری معنی‌دار بود ( $p < 0.01$ ) (جدول ۲).

تغییرات بازدهی استخراج بتاگلوکان نسبت به مدت زمان استخراج، pH و نسبت حلال به آرد جو در شکل ۲ نشان داده شده است. با افزایش مدت زمان استخراج، میزان بازدهی بتاگلوکان استخراج شده افزایش یافت. با افزایش زمان استخراج، آب به عنوان حلال فرصت کافی برای نفوذ هرچه بیشتر درون ذرات آرد جو را یافته و می‌تواند مقادیر بیشتری ترکیبات محلول در آب از جمله بتاگلوکان را خارج نماید (Shi et al., 1996). نتایج تحقیق سایر محققان نیز نشان داد که افزایش زمان استخراج در کنار حرارت‌دهی تاثیر بسزایی بر افزایش سرعت خروج پلی‌ساکاریدهای محلول در آب از دیواره سلولی بافت‌های گیاهی دارد (Wu et al., 1996؛ Shi et al., 2007 و Koocheki et al., 2009).

با کاهش pH، میزان بازدهی استخراج بتاگلوکان افزایش یافت که مطابق با نتایج Temelli (۱۹۹۷) و Ahmad و همکاران (۲۰۰۹) بود. این افزایش می‌تواند به دلیل اثر pH‌های پایین در شکستن پلی‌ساکاریدها و فیبرهای نامحلول و تبدیل آن‌ها به اجزای کوچک‌تر و محلول در آب باشد که خود باعث افزایش بازدهی استخراج می‌گردد (Temelli, 1997). امیری و همکاران گزارش نمودند که با کاهش pH، میزان ورود ناخالصی‌هایی مانند نشاسته و مواد معدنی به بتاگلوکان استخراج شده از جو بدون پوشینه افزایش می‌یابد. افزایش این ناخالصی‌ها می‌تواند موجب افزایش بازدهی استخراج گردد (امیری و همکاران، ۱۳۸۹).

افزایش نسبت حلال به آرد جو نیز باعث افزایش بازدهی استخراج گردید (شکل ۲). با افزایش نسبت حلال به آرد جو، گرانبوی محلول کاهش می‌یابد لذا ورود مواد جامد محلول از جمله بتاگلوکان به درون محلول افزایش می‌یابد (Koocheki et al., 2009). با توجه به قانون انتشار، با کاهش نسبت مواد جامد در محلول، میزان ورود مواد جامد محلول به سیستم آرد جو- حلال نیز افزایش می‌یابد (Fennema, 1996). نتایج تحقیق Roman و همکاران (۲۰۱۱) نیز نشان داد که با افزایش نسبت حلال به آرد جو،



شکل ۲- اثر مدت زمان استخراج، pH، و نسبت حلال به آرد جو (الف: نسبت حلال به آرد جو = ۱:۸ و ب: pH = ۷) بر بازدهی استخراج بتاگلوکان از جو بدون پوشینه

برای تعیین میزان ناخالصی‌های موجود در بتاگلوکان استخراج شده و تعیین کارایی اثر فرایندهای اعمال شده بر استخراج بتاگلوکان، خلوص بتاگلوکان اندازه‌گیری گردید. اثر خطی هر سه پارامتر مدت زمان استخراج، pH و نسبت حلال به آرد جو اثر معنی‌داری بر خلوص بتاگلوکان داشت (جدول ۲). اثرات متقابل و درجه دوم هیچ یک از متغیرهای مستقل معنی‌دار نبود (جدول ۲). شکل ۳ تغییرات خلوص بتاگلوکان نسبت به مدت زمان استخراج، pH و نسبت حلال به آرد جو را نشان می‌دهد. با افزایش مدت زمان

یافت (شکل ۳). این امر احتمالاً به این دلیل است که در نسبت‌های پایین، با ورود بتاگلوکان و سایر ناخالصی‌ها از جمله نشاسته به داخل آب، گرانشی محلول افزایش یافته و حلال آزاد کمتری جهت نفوذ به داخل ذرات آرد و استخراج بتاگلوکان وجود خواهد داشت. بنابراین، میزان خلوص بتاگلوکان در ترکیب استخراج شده کاهش می‌یابد. در حالیکه در نسبت‌های بالای حلال، هم گرانشی محلول پایین بوده و ذرات به راحتی در درون حلال حرکت می‌کنند و هم میزان حلال آزاد بیشتری برای استخراج بتاگلوکان وجود خواهد داشت.

با کاهش pH، میزان خلوص بتاگلوکان کاهش یافت (شکل ۳ ب). همانطور که در بخش بازده ذکر شد در pHهای پایین سرعت هیدرولیز و شکسته شدن پلی‌ساکاریدها و فیبرهای نامحلول و تبدیل آنها به ترکیبات کوچکتر و محلول در آب افزایش می‌یابد که این مواد می‌توانند به‌عنوان ناخالصی وارد بتاگلوکان شده و خلوص آن را کاهش دهند (Temelli, 1997). امیری و همکاران گزارش نمودند که با کاهش pH، در اثر ورود ناخالصی‌هایی مانند نشاسته و مواد معدنی به بتاگلوکان استخراج شده خلوص بتاگلوکان کاهش یافت (امیری و همکاران، ۱۳۸۹).

استخراج خلوص بتاگلوکان افزایش یافت (شکل ۳، الف). بتاگلوکان در داخل دیواره سلولی سلول‌های اندوسپرم قرار گرفته است و نسبت به سایر ترکیبات محلول در آب با سرعت کمتری خارج می‌شود. بنابراین، در زمان‌های اولیه استخراج، ناخالصی‌هایی مانند سایر پلی‌ساکاریدهای محلول در آب، نشاسته، پروتئین‌ها و ... همراه با بتاگلوکان خارج می‌گردند (Kulp, 2000 و Roman et al., 2011). به تدریج با افزایش زمان استخراج و نفوذ هرچه بیشتر آب به عنوان حلال به درون ذرات آرد جو، بتاگلوکان بیشتری در آب حل شده و وارد سیستم می‌گردد. در نتیجه، غلظت بتاگلوکان نسبت به سایر ترکیبات افزایش یافته که باعث افزایش خلوص بتاگلوکان در ترکیب نهایی می‌شود (Roman et al., 2011). از همین رو Roman و همکاران (۲۰۱۱) معتقد هستند که مهمترین عوامل برای استخراج بتاگلوکان اندازه ذرات آرد جو، سرعت همزدن و مدت زمان استخراج می‌باشد. نتایج تحقیق Morgan و Ofman (۱۹۹۸) نشان داد که با افزایش مدت زمان استخراج در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد، خلوص بتاگلوکان افزایش یافت. با افزایش نسبت حلال به آرد جو، خلوص بتاگلوکان افزایش

جدول ۲- ضرایب رگرسیون و تجزیه و تحلیل واریانس برای ویژگی‌های بتاگلوکان استخراج شده به روش آب داغ

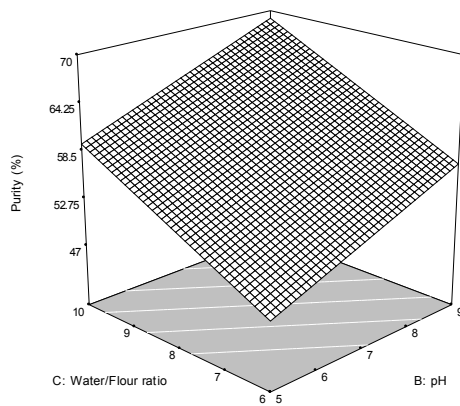
منبع	بازدهی (درصد)			خلوص (درصد)			پایداری کف (درصد)			پایداری امولسیون (درصد)		
	P-Value	SS	Coefficient	P-Value	SS	Coefficient	P-Value	SS	Coefficient	P-Value	SS	Coefficient
مدل خطی	<۰/۰۰۰۱	۱۰/۳۳	۱/۳۰۵	<۰/۰۰۰۱	۷۵۱/۱۰	۹/۵۲۰	<۰/۰۰۰۱	۲۳۷۸/۰۵	-۸۴/۵۲۰	<۰/۰۰۰۱	۲۰۳۱/۳۰	۲/۰۸۳
A	<۰/۰۰۰۱	۶/۰۱	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱۰	۱۶۶/۳۸	۰/۱۵۶	۰/۰۰۲۰	۱۴۹/۵۶	۰/۱۲۹	-	-	-
B	<۰/۰۰۰۱	۱/۵۹	-۱/۵۲۹	۰/۰۰۰۳	۲۲۷/۸۵	۲/۳۸۷	<۰/۰۰۰۱	۱۲۸۰/۹۰	۱۳/۲۶۲	<۰/۰۰۰۱	۱۰۹۷/۷۱	۵/۲۳۸
C	۰/۰۰۲۷	۰/۵۱	۱/۶۷۴	<۰/۰۰۰۱	۳۵۶/۸۷	۲/۹۸۶	<۰/۰۰۰۱	۱۷۳۲/۲۵	۱۳/۲۳۳	<۰/۰۰۰۱	۹۳۳/۵۹	۴/۸۳۱
درجه دوم												
AA	۰/۰۰۲۷	۰/۵۱	۰/۰۰۰۴	ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-
BB	۰/۰۰۶۲	۰/۴	۰/۰۰۹۵	ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-
CC	۰/۰۱۶۱	۰/۲۸	-۰/۰۸۰	ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-
اثر متقابل												
AB	ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-
AC	۰/۰۰۱۴	۰/۶۲	-۰/۰۰۴۶	ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-
BC	ns	-	-	ns	-	-	۰/۰۰۵۱	۱۱۵/۶۳	-۰/۰۹۵۰	۰/۰۰۵۱	-	-
Lack of fit	۰/۸۷۷۴ ns	۰/۱۵	-	۰/۱۸۲ ns	۱۱۲/۵۴	-	۰/۸۶۴ ns	۴۳۸/۰۵	-	۰/۱۸۲ ns	۴۳۸/۰۵	-
R <sup>2</sup>			۰/۹۶۰			۰/۸۱۸			۰/۹۵۳			۰/۷۱۲
Adj-R <sup>2</sup>			۰/۹۳۶			۰/۷۸۴			۰/۹۴۰			۰/۶۷۸
CV			۵/۳۰			۵/۵۴			۴/۷۷			۸/۹۸

ns: بی معنی در < ۰/۰۵؛ A: مدت زمان استخراج؛ B: pH؛ C: نسبت حلال به آرد جو؛ CV: ضریب تغییرات؛ SS: مجموع مربعات

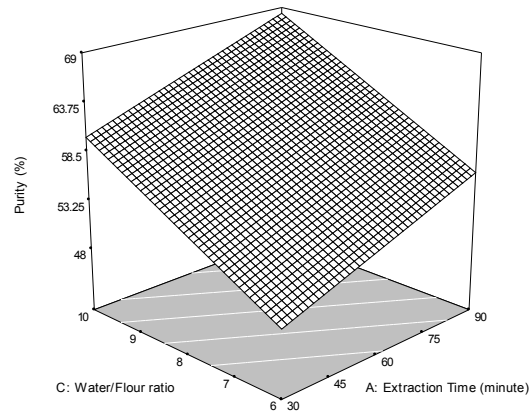
ادامه جدول ۲

b*		a*			L*			K			n			منبع	
p-Value	SS	Coefficient	p-Value	SS	Coefficient	p-Value	SS	Coefficient	p-Value	SS	Coefficient	P-Value	SS	Coefficient	
<./...>	۵۳/۴۳	-/۱۷۶	<./...>	۳/...	-/۱۸۱۸	<./...>	۳۳۰/۸۵	۷۳/۷۹۹	<./...>	۵/۴۴	۳/۱۱۰	<./...>	/۱۷	۷/۴۲۲	مدل خطی
ns	-	-	ns	-	-	<./...>	۱۹۸/۹۲	-/۳۵۹	Ns	-	-	ns	-	-	A
<./...>	۵۳/۴۳	۷/۱۶۶	<./...>	۳/...	-/۲۲۳	<./...>	۱۹۷۴/۷۳	۸/۳۱۹	<./...>	۷/۸۷	-/۰۵۸	/...۵	/۰۸۳	-/۰۴۵	B
ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-	<./...>	۳/۸۸	-/۷۲۹۶	/...۵	/۰۸۵	-/۰۴۶	C
درجه دوم															
ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-	AA
ns	-	-	ns	-	-	/...۶	۱۰۳/۲۴	-/۹۹۹	ns	-	-	ns	-	-	BB
ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-	<./...>	-/۵۵	-/۰۸۳	ns	-	-	CC
اثر متقابل															
ns	-	-	ns	-	-	/...۳۶	۲۹/۷۶	-/۰۳۲	ns	-	-	ns	-	-	AB
ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-	AC
ns	-	-	ns	-	-	ns	-	-	/...۲۰	-/۱۵	-/۰۳۴	ns	-	-	BC
ns	۱۷/۳۹	-	ns	-/۲۲	-	ns	۶۸/۴۷	-/۰۵۱۰	-/۱۲	-	-	/...۳۰	-	-	Lack of fit
		-/۷۰۰			-/۸۶۰			-/۹۶۵			-/۹۷۱			-/۶۸۳	R <sup>2</sup>
		-/۶۸۲			-/۸۵۲			-/۹۵۶			-/۹۶۳			-/۶۴۵	Adj-R <sup>2</sup>
		۱۳/۶۸			۱۸/۰۱			۳/...			۱۳/۵۶			۹/۲۲	CV

ns: بی معنی در <./...>؛ A: مدت زمان استخراج؛ B: pH؛ C: نسبت حلال به آرد جو؛ CV: ضریب تغییرات؛ SS: مجموع مربعات



ب



الف

شکل ۳- اثر مدت زمان استخراج، pH، و نسبت حلال به آرد جو (الف: pH=۷ و ب: زمان= ۶۰ دقیقه) بر خلوص بتاگلوکان استخراج شده از جو بدون پوشینه

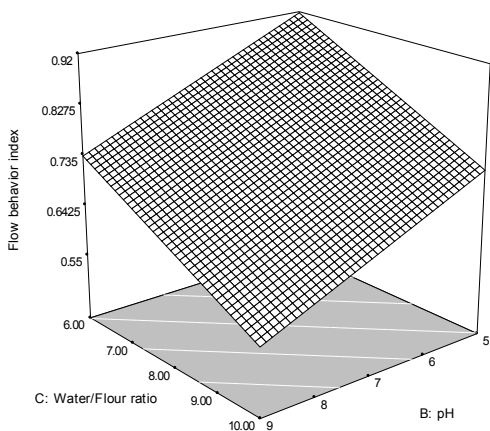
(Burkus and Temelli, 1998 and 2005; Bhattay, 1995)؛ امیری و همکاران، ۲۰۰۳؛ Sirghie et al., 2003؛ Ghotra et al., 2009؛ امیری و همکاران، ۱۳۸۹). با برآزش داده‌های مربوط به تنش برشی در مقابل درجه برش توسط مدل قانون توان، اثر مدت زمان استخراج، pH و نسبت حلال به آرد جو بر مقادیر ضریب قوام (k) و شاخص رفتار جریان (n)

### رفتار جریان محلول بتاگلوکان

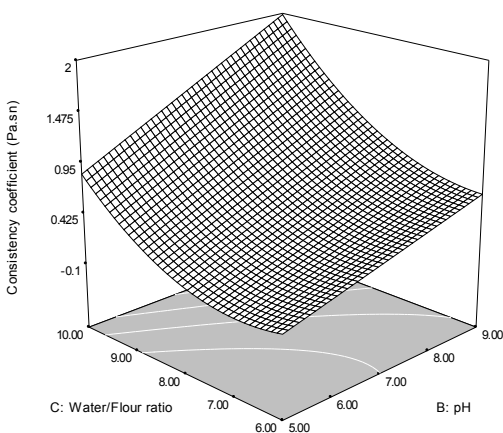
به دلیل اینکه مدل قانون توان مقادیر R<sup>2</sup> بالا و RMSE پایینی داشت (داده‌ها نمایش داده نشده است)، این مدل جهت برآزش داده‌ها انتخاب گردید. تحقیقات بسیاری پیش از این انجام شده است که استفاده از مدل قانون توان برای بتاگلوکان را پیشنهاد می‌دهد

بود ( $p < 0.01$ ).

با کاهش pH از ۹ به ۵، ضریب قوام کاهش یافت. دلیل این کاهش را می‌توان به اثر pH های پایین بر هیدرولیز اسیدی بتاگلوکان و کاهش وزن مولکولی آن نسبت داد. با کاهش وزن مولکولی بتاگلوکان ویسکوزیته ظاهری و ضریب قوام آن کاهش می‌یابد (Temelli, 1997).



شکل ۴- اثر pH و نسبت حلال به آرد جو (زمان = ۶۰ دقیقه) بر تغییرات شاخص رفتار جریان بتاگلوکان استخراج شده از جو بدون پوشینه



شکل ۵- اثر pH و نسبت حلال به آرد جو (زمان = ۶۰ دقیقه) بر تغییرات ضریب قوام بتاگلوکان استخراج شده از جو بدون پوشینه

محلول ۱ درصد (وزنی/وزنی) بتاگلوکان تعیین گردید.

در جدول ۲ ضرایب رگرسیون برای مدل‌های چند جمله‌ای خطی و درجه دوم ضریب قوام و شاخص رفتار جریان بتاگلوکان نشان داده شده است. در بین اثرات خطی، اثر نسبت حلال به آرد جو و pH بر شاخص رفتار جریان ( $n$ ) معنی‌دار بود. مدت زمان استخراج اثر معنی‌داری بر شاخص رفتار جریان بتاگلوکان نداشت. معمولاً کاهش شاخص رفتار جریان، به دلیل اثر آنزیم‌های طبیعی موجود در آرد جو می‌باشد (Morgan and Ofman, 1998).

در این پژوهش آرد جو قبل از استخراج، توسط الکل آنزیم‌بری شد. بنابراین، مدت زمان استخراج تأثیری بر شاخص رفتار جریان نداشت. اثرات متقابل و درجه دوم هیچ یک از متغیرهای مستقل معنی‌دار نبود. با توجه به مجموع مربعات مربوط به هر یک از متغیرهای مستقل نسبت حلال به آرد جو بیشترین تأثیر بر میزان شاخص رفتار جریان را داشته است.

با افزایش نسبت حلال به آرد جو از ۱:۶ به ۱:۱۰، شاخص رفتار جریان کاهش یافت (شکل ۴).

با توجه به دامنه مقادیر شاخص جریان ( $n < 1$ ) سیال حاوی بتاگلوکان یک سیال غیرنیوتنی بوده و رفتاری سودوپلاستیک از خود نشان داد. از همین رو کاهش شاخص رفتار جریان در مقابل افزایش نسبت حلال به آرد جو نشان‌دهنده افزایش خلوص بتاگلوکان و در نتیجه افزایش برهمکنش بین پلی‌ساکاریدهای بتاگلوکان و مولکول‌های سیال حاوی آن می‌باشد (Launay et al., 1986). با کاهش pH، مقادیر شاخص رفتار جریان افزایش یافت. نتایج تحقیق Temelli (۱۹۹۷) نیز نشان داد با کاهش pH، شاخص رفتار جریان سیال حاوی بتاگلوکان افزایش یافت و در واقع سودوپلاستیته محلول بتاگلوکان کاهش یافت.

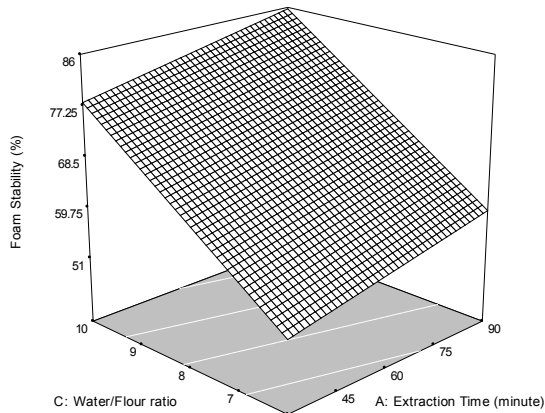
مقادیر ضریب قوام محلول ۱ درصد بتاگلوکان در شرایط مختلف استخراج بین  $0.35$  تا  $2.46 \text{ Pa.s}$  متغیر بود (شکل ۵).

اثر خطی pH و نسبت حلال به آرد جو اثر معنی‌داری ( $p < 0.0001$ ) بر میزان ضریب قوام داشت. تغییرات ضریب قوام نسبت به pH و نسبت حلال به آرد جو در شکل ۵ نشان داده شده است. ضریب قوام با افزایش نسبت حلال به آرد جو بصورت نمایی افزایش یافت.

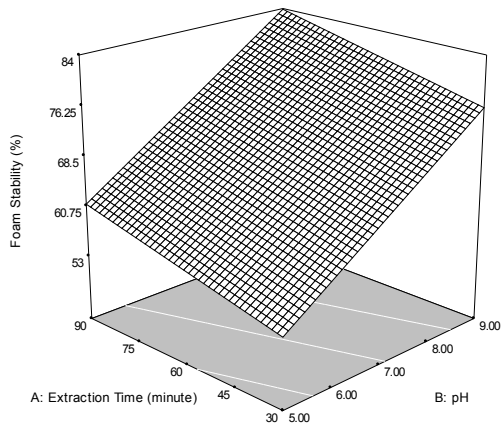
همانطور که عنوان شد، با افزایش نسبت حلال به آرد جو خلوص بتاگلوکان افزایش یافت. افزایش خلوص بتاگلوکان موجب افزایش ویسکوزیته آن می‌شود (Burkus and Temelli, 1998). بنابراین، افزایش نسبت حلال به آب بصورت غیرمستقیم موجب افزایش ضریب قوام می‌گردد. نسبت حلال به آرد جو علاوه بر اثر خطی بصورت درجه دوم نیز ( $p < 0.0001$ ) اثر معنی‌داری بر ضریب قوام سیال حاوی بتاگلوکان داشت (جدول ۲). از بین اثرات متقابل تنها اثر متقابل pH و نسبت حلال به آرد جو بر ضریب قوام معنی‌دار



اغلب هیدروکلوئیدها می‌توانند به‌عنوان پایدارکننده امولسیون‌های روغن در آب عمل کنند اما تعداد اندکی از آنها نقش امولسیفایری دارند (Dickinson, 2009). بتاگلوکان جو قابلیت پایداری امولسیون را دارد (Temelli, 1997). بتاگلوکان جو فاقد قسمت‌های آبریز می‌باشد. بنابراین، یک امولسیفایر واقعی نیست بلکه می‌تواند با افزایش گرانیوی فاز آبی محلول‌های دیسپرسیون از بهم پیوستن قطرات روغن جلوگیری نموده و باعث پایدار شدن سیستم‌های امولسیونی شود (Temelli, 1997).



الف



ب

شکل ۶- اثر مدت زمان استخراج، pH، و نسبت حلال به آرد جو (الف: pH=۷ و ب: نسبت حلال به آرد جو=۱:۸) بر پایداری کف بتاگلوکان استخراج شده از جو بدون پوشینه

مدت زمان استخراج اثر معنی‌داری بر ضریب قوام بتاگلوکان نداشت (جدول ۲). این درحالی است که Ofman و Morgan (۱۹۹۸) گزارش نمودند که با افزایش مدت زمان استخراج، ویسکوزیته ظاهری بتاگلوکان کاهش می‌یابد. نامبردگان این امر را به اثر آنزیم‌های طبیعی موجود در آرد جو نسبت دادند که باعث شکستن بتاگلوکان و کاهش وزن مولکولی آن می‌گردد. بنابراین، از آنجا که در آزمون اخیر یک مرحله آنزیم‌بری انجام شده است، لذا مدت زمان استخراج تأثیری بر ضریب قوام نداشت.

### پایداری کف و امولسیون

نتایج نشان داد که اثر خطی مدت زمان استخراج ( $p < 0.001$ )، pH و نسبت حلال به آرد جو ( $p < 0.001$ ) بر توانایی پایدارکنندگی کف بتاگلوکان معنی‌دار بود (جدول ۲). از بین اثرات متقابل تنها اثر متقابل pH و نسبت حلال به آرد بر پایداری کف معنی‌دار بود ( $p < 0.01$ ). بر اساس جدول ۲ از نظر اهمیت متغیرهای موثر بر پایداری کف به ترتیب نسبت حلال به آرد جو، pH و مدت زمان استخراج بود.

برخی از پژوهشگران معتقدند که توانایی پایداری کف توسط بتاگلوکان به دلیل افزایش گرانیوی فاز آبی توسط این هیدروکلوئید می‌باشد (Kontogiorgos *et al.*, 2004; Temelli, 1997). این افزایش گرانیوی فاز آبی باعث جلوگیری از اتصال حباب‌های هوا و بزرگ شدن و در نتیجه از هم پاشیدن آنها می‌شود. با افزایش نسبت حلال به آرد جو توانایی پایدارکنندگی کف بتاگلوکان افزایش یافت (شکل ۶).

افزایش نسبت حلال به آرد جو باعث افزایش خلوص بتاگلوکان شده در نتیجه این ترکیب احتمالاً خاصیت قوام‌دهندگی بیشتری خواهد داشت لذا با افزایش گرانیوی محلول پایداری کف نیز افزایش خواهد یافت.

یکی از عوامل موثر در تشکیل کف و پایداری آن پروتئین‌های محلول در آب می‌باشد (جهانیان و همکاران، ۱۳۸۳).

پروتئین‌ها از طرفی به‌عنوان عامل فعال سطحی، کشش سطحی بین مایع و هوا را کاهش می‌دهد و از طرف دیگر در اثر ایجاد فیلم چسبنده در سطح میانی، سبب پایداری حباب می‌شوند (جهانیان و همکاران، ۱۳۸۳). در محدوده pH‌های بالا پروتئین‌ها کمتر تحت تأثیر قرار گرفته و میزان آنها در بتاگلوکان استخراج شده بیشتر خواهد بود. لذا افزایش توانایی پایداری کف با افزایش pH در شکل ۶ را می‌توان به دلیل وجود مقادیر بالاتر پروتئین در این ترکیب دانست. نتایج تحقیق امیری و همکاران (۱۳۸۹) نشان داد که بتاگلوکان استخراج شده در محدوده pH اسیدی میزان پروتئین کمتری نسبت به pH بالاتر دارد.

بتاگلوکان به دلیل اینکه می‌تواند به‌عنوان یک افزودنی (قوام‌دهنده) در مواد غذایی استفاده شود، لذا تیره‌گی و یا روشنی رنگ آن بسیار مهم می‌باشد. با افزایش مدت زمان استخراج از ۳۰ به ۹۰ دقیقه میزان  $L^*$  کاهش یافت که نشان‌دهنده تیره‌تر شدن رنگ بتاگلوکان می‌باشد (شکل ۸). در واقع با افزایش زمان استخراج فرصت کافی برای انجام واکنش‌های شیمیایی از جمله واکنش‌های قهوه‌ای شدن ایجاد می‌گردد (Temelli, 1997). لذا با افزایش مدت زمان استخراج رنگ محصول تیره‌تر و نامطلوب‌تر می‌شود.

اثر خطی pH بر تغییرات مؤلفه  $L^*$  به شدت معنی‌دار بود ( $p < 0.001$ ). افزایش pH باعث کاهش مؤلفه  $L^*$  شد. یکی از عوامل موثر بر واکنش‌های قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی مایلارد، pH محیط می‌باشد. با افزایش pH محیط، واکنش‌های مایلارد به شدت افزایش می‌یابد (Fennema, 1996). به دلیل اینکه در محیط آبی استخراج بتاگلوکان هم پروتئین و هم کربوهیدرات وجود دارد، در اثر افزایش pH محیط، واکنش‌های قهوه‌ای شدن مایلارد تسریع شده و رنگ محصول نهایی تیره‌تر می‌شود.

نتایج نشان داد که اثر خطی فاکتور pH از نظر آماری تاثیر معنی‌داری بر پارامترهای رنگی  $a^*$  و  $b^*$  بتاگلوکان داشت ( $p < 0.001$ ). با افزایش pH از ۵ به ۹ میزان مؤلفه  $a^*$  افزایش یافت (شکل ۸). همانطور که بیان گردید با افزایش pH سرعت انجام واکنش‌های قهوه‌ای شدن مایلارد افزایش می‌یابد لذا با افزایش pH احتمال تشکیل ترکیبات رنگی بیشتر می‌شود (Fennema, 1996). با توجه به شکل ۸ افزایش pH باعث افزایش مؤلفه  $b^*$  شد. در محیط‌های قلیایی سرعت واکنش‌های قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی (مایلارد) افزایش می‌یابد که باعث تولید ترکیبات رنگی مختلف می‌شود. بسته به نوع کربوهیدرات و پروتئین‌های موجود در محیط واکنش، ترکیبات رنگی با طیف رنگی مختلف تولید می‌شود (Fennema, 1996).

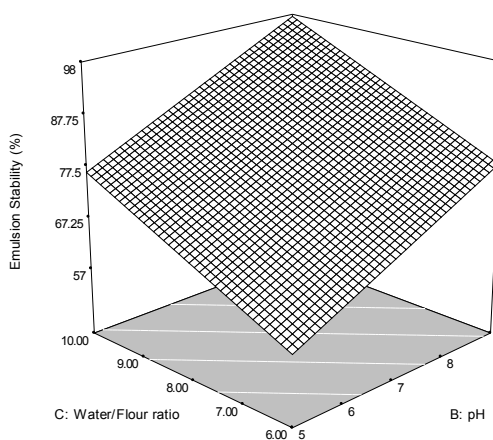
افزایش مؤلفه  $b^*$  با افزایش pH احتمالاً به دلیل تشکیل همین ترکیبات رنگی باشد.

### بهینه‌یابی

شرایط بهینه‌یابی عددی برای استخراج بتاگلوکان از دانه جو بدون پوشینه بر مبنای بیشترین بازدهی و خلوص بتاگلوکان، ضریب قوام  $L^*$ ،  $k$  و کمترین شاخص رفتار جریان ( $n$ ) تعیین گردید. جهت بهینه‌سازی شرایط استخراج بتاگلوکان به روش آب داغ، وزن تمامی متغیرها یکسان در نظر گرفته شد. هدف  $^3$  و اهمیت  $^4$  متغیرها با توجه

اثر خطی فاکتورهای pH و نسبت حلال به آرد جو از نظر آماری تاثیر معنی‌داری بر توانایی پایدارسازی امولسیون بتاگلوکان داشت ( $p < 0.001$ ). اثرات متقابل و درجه دوم هیچ یک از متغیرهای مستقل تأثیری بر پایداری امولسیون نداشتند (جدول ۲).

تغییرات قدرت پایداری امولسیون توسط بتاگلوکان استخراج شده در pHها و نسبت‌های حلال به آرد جو در شکل ۷ نشان داده شده است. با افزایش pH و نسبت حلال به آرد جو توانایی پایدارکنندگی امولسیون بتاگلوکان به شدت افزایش یافت. همانطور که ذکر شد در نسبت‌های بالای حلال به آرد جو به دلیل افزایش خلوص بتاگلوکان استخراج شده، قدرت قوام‌دهندگی آن افزایش می‌یابد (شکل ۷).



شکل ۷- اثر pH و نسبت حلال به آرد جو (زمان = ۶۰ دقیقه) بر توانایی پایدارسازی امولسیون حاوی بتاگلوکان استخراج شده از جو بدون پوشینه

بنابراین، این نوع بتاگلوکان می‌تواند باعث افزایش گرانروی فاز آبی امولسیون و پایداری بیشتر امولسیون گردد.

با افزایش pH ضریب قوام بتاگلوکان افزایش یافت (شکل ۵) لذا افزایش گرانروی فاز آبی امولسیون موجب کاهش برخورد قطرات روغن و افزایش پایداری امولسیون می‌شود (شکل ۷) که مطابق با نتایج پژوهش Kontogiorgos و همکاران (۲۰۰۴) بود. این محققان معتقدند بتاگلوکان از طریق افزایش ویسکوزیته فاز آبی باعث پایداری امولسیون روغن در آب حاوی زرده تخم‌مرغ شد

### ویژگی‌های رنگی

اثر مدت زمان استخراج و pH بر مؤلفه  $L^*$  از نظر آماری معنی‌دار بود ( $p < 0.001$ ). مؤلفه  $L^*$  معادل روشنایی نمونه است. عدد صفر معادل مشکی و ۱۰۰ معادل انعکاس کامل نور می‌باشد.

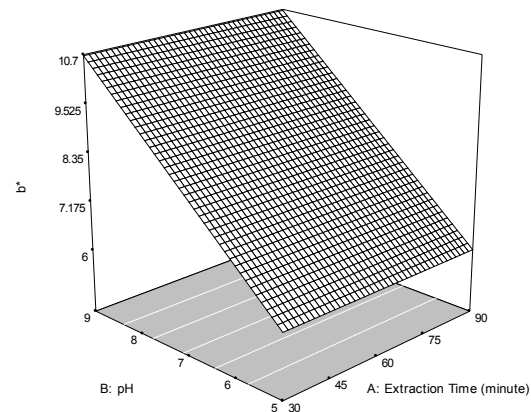
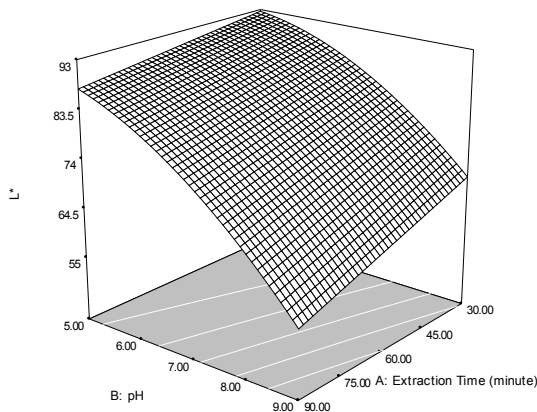
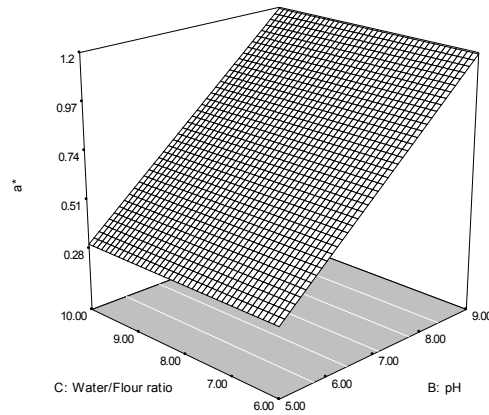
2 weight

3 goal

4 importance

بهینه زمان استخراج ۹۰ دقیقه، نسبت حلال به آرد جو ۱۰ و pH ۷/۳۳ بود (جدول ۳) که با توجه به این شرایط، بیشترین مقدار بازدهی استخراج، ۴/۱۲ درصد؛ خلوص، ۶۹/۱۱ درصد؛ پایداری کف، ۸۶/۹۵ درصد؛ پایداری امولسیون، ۸۸/۷۷ درصد؛ ضریب قوام، Pa.s<sup>n</sup> ۱/۵۱؛ شاخص رفتار جریان، L\* ۰/۶۲، a\* ۷۳/۴۲ و b\* ۸/۷۲ بدست آمد.

به هدف پژوهش یعنی استخراج بتاگلوکان با بیشترین بازده و خلوص و همچنین بیشترین قدرت قوام‌دهندگی، بدین صورت اعمال گردید که برای متغیرهای پاسخ بازده، خلوص و ضریب قوام هدف ماکزیمم و اهمیت ۵ و برای شاخص رفتار جریان هدف مینیمم و اهمیت ۳ و برای L\* هدف ماکزیمم و اهمیت ۳ در نظر گرفته شد. برای متغیرهای پاسخ پایداری امولسیون و پایداری کف همچنین پارامترهای a\* و b\* هدف در محدوده بودن انتخاب شد. شرایط



شکل ۸- اثر متغیرهای استخراج بر تغییرات پارامترهای رنگی L\*، a\* و b\* بتاگلوکان استخراج شده از جو بدون پوشینه رقم لوت

حالا به آرد جو در شرایط مدت زمان ثابت (۹۰ دقیقه) نشان می‌دهد. محدوده‌های کوچک سایه‌زده شده در شکل ۹ نشان‌دهنده دامنه بهینه شرایط استخراج برای دستیابی به بیشترین مقدار بازدهی استخراج، خلوص، پایداری کف، پایداری امولسیون، ضریب قوام، L\*،

دامنه و محدوده شرایط بهینه استخراج بتاگلوکان از دانه جو بدون پوشینه رقم لوت با رسم نمودارهای کانتور برای تمامی متغیرهای پاسخ تعیین گردید. شکل ۹ تصویر نمودارهای کانتور روی هم قرار گرفته برای ۹ متغیر پاسخ را به عنوان تابعی از pH و نسبت

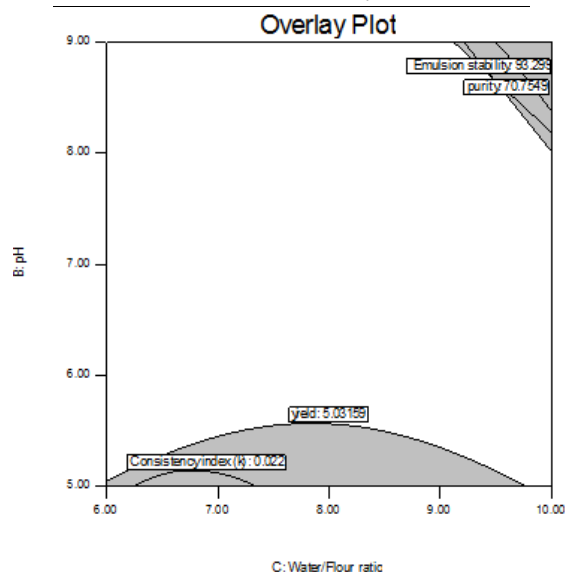
رفتار جریان، پایدارکنندگی کف و امولسیون و ویژگی‌های رنگی بتاگلوکان به‌عنوان یک هیدروکلوئید با خواص عملکردی بالا مشخص شد.

نتایج این تحقیق نشان داد شرایط استخراج تاثیر معنی‌داری بر خواص و ویژگی‌های عملکردی بتاگلوکان داشت. افزایش زمان استخراج اثر مطلوبی بر بازدهی و خلوص بتاگلوکان استخراج شده گذاشت که این امر خود موجب بهبود خاصیت قوام‌دهندگی و ویژگی‌های رفتار جریان آن شد. از طرفی با افزایش قدرت قوام‌دهندگی بتاگلوکان، توانایی پایدارکنندگی سیستم‌های کف و امولسیون نیز افزایش یافت. از طرف دیگر طولانی شدن مدت زمان استخراج به دلیل وقوع واکنش‌های قهوه‌ای شدن اثر نامطلوبی بر رنگ این محصول گذاشت. pH تاثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های بتاگلوکان استخراج شده داشت. افزایش pH موجب کاهش بازدهی استخراج و افزایش خلوص بتاگلوکان گردید. به دلیل تسریع سرعت واکنش‌های قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی مایلارد در محیط‌های قلیایی، افزایش pH باعث تیره‌تر شدن رنگ بتاگلوکان شد. از طرف دیگر کاهش pH به دلیل هیدرولیز زنجیره بتاگلوکان و کاهش وزن مولکولی این ترکیب موجب کاهش خواص قوام‌دهندگی این محصول به‌عنوان یک هیدروکلوئید گردید. pH‌های پایین به واسطه هیدرولیز و شکستن پلی‌ساکاریدها و ورود آنها به ترکیبات استخراج شده باعث کاهش خلوص بتاگلوکان شد. افزایش نسبت حلال به آرد جو نیز موجب تسهیل در امر استخراج و افزایش بازدهی و خلوص بتاگلوکان شد. با افزایش بازدهی و خلوص بتاگلوکان ویژگی‌های رفتار جریان و قوام‌دهندگی بتاگلوکان به‌عنوان یک هیدروکلوئید بهبود یافت. بهترین شرایط استخراج برای بیشترین بازدهی و خلوص بتاگلوکان، پایداری کف و امولسیون، ضریب قوام و  $L^*$  و کمترین شاخص رفتار جریان زمان استخراج ۹۰ دقیقه، نسبت حلال به آرد جو ۱۰ و pH ۷/۳۳ بود.

a\* و b\* و کمترین شاخص رفتار جریان می‌باشد. در این محدوده شرایط استخراج بهینه می‌باشد.

جدول ۳- شرایط بهینه پیش‌بینی شده برای استخراج بتاگلوکان از

جو بدون پوشینه رقم لوت			
متغیر مستقل	سطح پایین	سطح بالا	نقطه بهینه
زمان (دقیقه)	۳۰	۹۰	۹۰
pH	۵	۹	۷/۳۳
نسبت حلال به آرد جو	۶	۱۰	۱۰



شکل ۹- نمودار کانتور برای تعیین محدوده بهینه شرایط استخراج بتاگلوکان از جو بدون پوشینه رقم لوت

## نتیجه‌گیری

در این پژوهش اثر شرایط استخراج بر ویژگی‌های بتاگلوکان استخراج شده از جو بدون پوشینه رقم لوت مورد بررسی قرار گرفت و بهترین شرایط استخراج با توجه به ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی،

## منابع

افشاری جویباری، ح.، فرحناکی، ع. ۱۳۸۸. امکان استفاده از نرم افزار فتوشاپ برای اندازه‌گیری رنگ مواد غذایی: بررسی تغییرات رنگ خرمای مضافتی بم در طی رساندن مصنوعی. پژوهش‌های صنایع غذایی ایران، ۵(۱)، ۳۷-۴۶.

امیری عقدایی، س. س.، علمی، م.، جعفری، س. م. و صادقی ماهونک، ع. ۱۳۸۹. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و رئولوژیک بتاگلوکان استخراج شده از جو بدون پوشینه. پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، ۶(۴)، ۲۸۶-۲۹۶.

جهانیان، ل.، حمیدی اصفهانی، ز.، مرتضوی، ع. ۱۳۸۳. بررسی اثر زانتان و کاراجینان بر خصوصیات کف ایزوله پروتئینی سویا. فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران، ۱(۱)، ۳۹-۴۸.

شکرالهی، ب. ۱۳۹۲. ارزیابی تاثیر فراصوت بر ویژگی‌های عملکردی ایزوله پروتئینی عدس. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

Ahmad, A., Anjum, F. M., Zahoor, T., Nawaz, H., Ahmed, Z., 2010, Extraction and characterization of  $\beta$ -d-glucan from oat for industrial utilization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 46(3), 304-309.

- Ahmad, A., Anjum, F.M., Zahoor, T., Nawaz, H., Din, A., 2009, Physicochemical and functional properties of barley  $\beta$ -glucan as affected by different extraction procedures. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(1), 181-187.
- Bhatty, R.S, 1995, Laboratory and Pilot Plant Extraction and Purification of  $\beta$ -Glucans from Hull-less Barley and Oat Brans. *Journal of Cereal Science* 22, 163-170.
- Beer, M. U., Wood, P. J., Weisz, J., 1997, Molecular Weight Distribution and (1 $\rightarrow$ 3)(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-Glucan Content of Consecutive Extracts of Various Oat and Barley Cultivars I. *Cereal chemistry*, 74(4), 476-480.
- Brennan, C. S., Cleary, L. J., 2005, The potential use of cereal (1 $\rightarrow$ 3,1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucans as functional food ingredients. *Journal of Cereal Science*, 42(1), 1-13.
- Burkus, Z., Temelli, F., 1998, Effect of extraction conditions on yield, composition, and viscosity stability of barley  $\beta$ -glucan gum. *Cereal chemistry*, 75(6), 805-809.
- Burkus, Z., Temelli, F., 2005, Rheological properties of barley  $\beta$ -glucan. *Carbohydrate Polymers*, 59(4), 459-465.
- Carr, J.M., Glatter, S., Jeraci, J.L., Lewis, B.A., 1990, Enzymic determination of  $\beta$ -glucan in cereal-based food products. *Cereal Chemistry*, 67, 226-229.
- Dawkins, N. L., Nnanna, I. A., 1995, Studies on oat gum [(1 $\rightarrow$ 3, 1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucan]: composition, molecular weight estimation and rheological properties. *Food Hydrocolloids*, 9(1), 1-7.
- Dickinson, E., 2009, Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Food Hydrocolloids*, 26(3), 1473-1482.
- Ebringerova, A., Hromadkova, Z., Heinze, T., 2005, Hemicellulose. Polysaccharides I. Springer, 1-67.
- Fennema, O. R., 1996, Food Chemistry. Madison, Wisconsin, USA: Marcel Dekker, INC.
- Ghotra, B. S., Vasanthan, T., Temelli, F., 2009, Rheological properties of aqueous blends of high purity barley  $\beta$ -glucan with high purity commercial food gums. *Food Chemistry*, 117, 417-425.
- Hager, A. S., Ryan, L. A. M., Schwab, C. Gänzle, M. G., O'Doherty, J. V., Arendt, E. K., 2011, Influence of the soluble fibers inulin and oat  $\beta$ -glucan on quality of dough and bread. *European Food Research and Technology*, 232(3), 405-413.
- Izydorczyk, M. S., Macri, L. J., MacGregor, A. W., 1998, Structure and physicochemical properties of barley non-starch polysaccharides—I. Water-extractable  $\beta$ -glucans and arabinoxylans. *Carbohydrate Polymers*, 35(3), 249-258.
- Knuckles, B. E., Yokoyama, W. H., Chiu, M. M., 1997, Molecular Characterization of Barley  $\beta$ -Glucans by Size-Exclusion Chromatography with Multiple-Angle Laser Light Scattering and Other Detectors. *Cereal Chemistry Journal*, 74(5), 599-604.
- Kontogiorgos, V., Biliaderis, C. G., Kiosseoglou, V., Doxastakis, G., 2004, Stability and rheology of egg-yolk-stabilized concentrated emulsions containing cereal  $\beta$ -glucans of varying molecular size. *Food Hydrocolloids*, 18(6), 987-998.
- Koocheki, A., Taherian, A. R., Razavi, S. M. A., Bostan, A., 2009, Response surface methodology for optimization of extraction yield, viscosity, hue and emulsion stability of mucilage extracted from *Lepidium perfoliatum* seeds. *Food Hydrocolloids*, 23, 2369-2379.
- Kulp, K., 2000, Handbook of Cereal Science and Technology. Manhattan, Kansas, USA: Marcel Dekker, INC.
- Launay, B., Doublier, I., & Cavalier, G., 1986, Flow properties of aqueous solution and dispersions of polysaccharides. In J. A. Mitchell (Ed.), Functional properties of food macromolecules (pp. 1-78). New York: Elsevier Applied Science Publishers.
- Lazaridou, A., Biliaderis, C. G., Micha-Screttas, M., Steele, B. R., 2004, A comparative study on structure-function relations of mixed-linkage (1 $\rightarrow$ 3), (1 $\rightarrow$ 4) linear  $\beta$ -D-glucans. *Food Hydrocolloids*, 18(5), 837-855.
- McCleary, B. V., Glennie-Holmes, M., 1985, Enzymic quantification of (1 $\rightarrow$ 3)(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucan in barley and malt. *Journal of the Institute of Brewing*, 91(5), 285-295.
- Morgan, K. R., Ofman, D. J., 1998, Glucagel, I A Gelling  $\beta$ -Glucan from Barley. *Cereal Chemistry Journal*, 75(6), 879-881.
- Papageorgiou, M., Lakhdara, N., Lazaridou, A., Biliaderis, C. G., Izydorczyk, M. S., 2005, Water extractable (1 $\rightarrow$ 3,1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucans from barley and oats: An inter varietal study on their structural features and rheological behavior. *Journal of Cereal Science*, 42(2), 213-224.
- Peterson, D.M., 1991, Genotype and environment effects on oat  $\beta$ -glucan concentration. *Crop Science*, 31, 1517-1520.
- Roman, B. O., Alonso, E., Cocero, M. J., 2013, Ultrasound-assisted extraction of  $\beta$ -glucans from barley. *LWT - Food Science and Technology*, 50(1), 57-63.
- Roman, B. O., Alonso, E., Lucas, S., 2011, Optimization of the  $\beta$ -glucan extraction conditions from different waxy barley cultivars. *Journal of Cereal Science*, 53(3), 271-276.
- Shi, X. Q., Chang, K. C., Schwarz, J. G., Wiesenborn, D. P., & Shih, M. C., 1996, Optimizing pectin extraction from sunflower heads by alkaline washing. *Bioresource Technology*, 58(3), 291-297.
- Sirghie, M. C., Kovalenko, I. V., Briggs, J. L., Fulton, B., White, P. J., 2003, Rheological and molecular properties of water soluble (1,3)(1,4)- $\beta$ -D-glucans from high- $\beta$ -glucan and traditional oat lines. *Carbohydrate Polymers* 52, 439-447.
- Skendi, A., Biliaderis, C. G., Lazaridou, A., Izydorczyk, M. S., 2003, Structure and rheological properties of water

- soluble  $\beta$ -glucans from oat cultivars of *Avena sativa* and *Avenabysantina*. *Journal of Cereal Science*, 38(1), 15-31.
- Storsley, J. M., Izydorczyk, M. S., You, S., Biliaderis, C. G., Rosnagel, B., 2003, Structure and physicochemical properties of  $\beta$ -glucans and arabinoxylans isolated from hull-less barley. *Food Hydrocolloids*, 17(6), 831-844.
- Temelli, F., 1997, Extraction and Functional Properties of Barley  $\beta$ -Glucan as Affected by Temperature and pH. *Journal of Food Science*, 62(6), 1194-1201.
- Vaikousi, H., Biliaderis, C. G., 2005, Processing and formulation effects on rheological behavior of barley  $\beta$ -glucan aqueous dispersions, *Food chemistry*, 91(3), 505-516.
- Wood, P. J., Webster, F. H., 1986, Oat  $\beta$ -glucan: structure, location and properties. *Oats: Chemistry and technology*, 121-152.
- Wu, Y., Cui, S. W., Tang, J., & Gu, X., 2007, Optimization of extraction process of crude polysaccharides from boat-fruited sterculia seeds by response surface methodology. *Food Chemistry*, 105, 1599-1605.
- Zhang, D., Doehlert, D. C., Moore, W. R., 1998, Rheological Properties of (1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -d-Glucans from Raw, Roasted, and Steamed Oat Groats. *Cereal Chemistry Journal*, 75(4), 433-438



## Extraction of hull-less barley (cultivar Lut) $\beta$ -glucan using hot water: Optimization using response surface methodology

A.Hematian Sourki<sup>1</sup>, A.Koocheki<sup>2\*</sup>, M. Elahi<sup>3</sup>, S. M. A.Razavi<sup>4</sup>

Received: 2014.11.19

Accepted: 2015.03.12

**Introduction:**  $\beta$ -glucan is the most important water soluble fiber found in cell wall of some cereals such as barley, oat, wheat and rye, that are composed of  $\beta$ -D-glucose units with (1 $\rightarrow$ 4) (70%) and (1 $\rightarrow$ 3) (30%) anomeric bonds (Benito-Román, Alonso, & Cocero, 2013).  $\beta$ -glucan is regarded as a dietary fiber in functional foods. It can act as a hydrocolloid due to its thickening characteristic in aqueous phase and can be used as a stabilizer in some foods such as sauces, salad dressing and ice cream (Dawkins & Nnanna, 1995; Kontogiorgos, Biliaderis, Kiosseoglou, & Doxastakis, 2004; Temelli, 1997; Wood & Webster, 1986). Hull-less barley is a barley variety that has no hard coat around its seeds. The content of soluble fiber e.g.  $\beta$ -glucan in hull-less barley is higher than of ordinary barley varieties. Hull-less barley cv. Lut is the first commercial hull-less barley in Iran registered in 2013 by SPII (Seed and Plant Improvement Institute). Lut is a kind of spring barley cultivar which is precocious and resistant to lodging. Its average yield is 6.425 t/ha and it is suitable to cultivation in temperate regions of Iran (SPII, 2013). This type of barley contains about 6%  $\beta$ -glucan and thus is a good source for  $\beta$ -glucan extraction. To date no research has been conducted on properties of  $\beta$ -glucan from this cultivar of barley. Considering high technological properties of  $\beta$ -glucan, the present study was carried out to determine the optimal condition for extraction of  $\beta$ -glucan from hull-less barley using hot water method to achieve the highest qualitative and best functional properties.

**Materials and methods:** Barley flour was obtained by grinding whole kernels of cv. Lut in a laboratory mill and sieved through a 0.50 mm screen. Prior to the extraction procedure, 50 g of barley flour was suspended in 200 ml of aqueous ethanol (80%, v/v) and stirred under reflux for 3 h to remove most of the lipids and inactivate the endogenous  $\beta$ -glucanases. The liquid phase was separated by vacuum filtration and dried at 40 °C for 12 h. 50 g of dried defatted barley flour was suspended in specified amounts of distilled water (solvent: flour ratio = 6:1, 8:1 and 10:1) in a 1000 ml beaker. pH was adjusted to the designed levels (5, 7, and 9) by 0.1 N HCl and 0.1 N NaOH solutions. Extraction procedure carried out at 50 $\pm$ 1 °C for 30, 60 and 90 minutes. Total  $\beta$ -glucan content was determined by the specific enzymatic method of McClear and Glennie-Holmes (1985) using the mixed linkage  $\beta$ -glucan assay kit (K-BGLU 07/11) supplied by Megazyme International (Wicklow, Ireland). The colour of  $\beta$ -glucan gums was measured using a Hunter-Lab Colour Flex 45 spectrophotometer (Hunter Associates Laboratory, Inc., Reston, VA, USA). The L\*a\*b\* (CIELAB space) colour space measurement was used for colour analysis of  $\beta$ -glucan samples. Emulsion stability (ES) against high temperature was determined by heating emulsions in a water bath at 80 °C for 30 min followed by centrifuging at 1200 g for 10 min. For foam stability, ovalbumin was dissolved in distilled water and added to  $\beta$ -glucan solution and then whipped vigorously with a laboratory rotor-stator homogenizer at room temperature. Flow behaviour measurements were done by a Brookfield viscometer. The flow behavior index ( $n$ ) and consistency coefficient ( $k$ ) values were obtained by fitting the power law model. All chemicals, reagents and solvents were of analytical grade and obtained either from Sigma-Aldrich Co (Deisenhofen, Germany) or from Merck (Darmstadt, Germany).

**Results & Discussion:** Results showed that the extraction time, solvent: flour ratio and pH had significant effect on extraction yield, purity, foam and emulsion stability, consistency coefficient ( $k$ ), flow behavior index ( $n$ ) and colour. Increasing the extraction time had significant effects on  $\beta$ -glucan's yield and purity and improved the emulsion and foam stabilizing effect of  $\beta$ -glucan. Increasing the pH from 5 to 9 significantly enhanced the

1. Former Ph.D student, Department of Food Science and Technology, Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad and Department of Food Science and Technology, Jahrom University, Jahrom, Iran.

2, 3 and 4. Associate Professor, Assistant Professor and Professor, Department of Food Science and Technology, Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad.

(\*Corresponding Author Email: koocheki@um.ac.ir)

purity, consistency coefficient ( $k$ ), foam and emulsion stability. At higher pH levels, extraction yield, flow behavior index ( $n$ ) and  $L^*$  decreased. With increasing solvent:flour ratio, extraction yield, purity, consistency coefficient ( $k$ ), foam and emulsion stability significantly increased. In contrast, the flow behavior index ( $n$ ) decreased as a result of increase in solvent: flour ratio. However, solvent: flour ratio had no significant effect on  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$ . Models presented in this study were highly significant and the correlation coefficients could be used for optimization of  $\beta$ -glucan extraction from hull-less barley. Considering the importance and desirability of the response variables, the best results were obtained when the extraction time, solvent: flour ratio and pH were 90 min, 10:1 and 7.33 respectively. At the optimal condition, extraction yield, purity, foam stability, emulsion stability, consistency coefficient ( $k$ ), flow behavior index ( $n$ ),  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  were 4.12%, 69.11%, 86.95%, 88.77%, 1.51 Pa.s<sup>n</sup>, 0.62, 73.42, 0.81 and 8.72 respectively.

**Keywords:**  $\beta$ -Glucan, Hull-Less Barley, Response Surface Method, Flow Behavior, Emulsion Stability