

ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و عملکردی نشاسته مقاوم ذرت حاصل از روش اتوکلاو

مجید هاشمی^۱، مصطفی مظاهری تهرانی^{۲*}، سید محمد علی رضوی^۳، الناز میلانی^۳

۱. دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲. استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳. استادیار، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی

(تاریخ دریافت: ۹۷/۴/۲۰، تاریخ آخرین بازنگری: ۹۷/۸/۱۲، تاریخ پذیرش: ۹۷/۸/۲۹)

چکیده

نشاسته مقاوم به هضم (RS) به بخشی از نشاسته اطلاق می‌شود که پس از ۱۲۰ min آنکوباسیون در برابر آنزیم‌های هضم‌کننده مانند آنزیم آلفا آمیلاز بدون تغییر و هضم نشده باقی می‌ماند. در میان انواع نشاسته مقاوم، نشاسته مقاوم نوع ۳ به‌علت پایداری حرارتی آن در طی فرایند حرارتی مواد غذایی مورد توجه بیش‌تری قرار گرفته است. به منظور تولید نشاسته مقاوم نوع ۳، ساختار گرانولی نشاسته باید توسط حرارت و در حضور آب کافی تخریب شده و در ادامه زنجیره‌های آمیلوز پس از سرد کردن دوباره به یکدیگر متصل گردند. اتوکلاو نمودن محصولات بر پایه نشاسته منجر به پسروری و در نتیجه افزایش میزان نشاسته مقاوم می‌گردد. هدف از این مطالعه، بررسی تاثیر دماهای مختلف اتوکلاو گذاری شامل ۱۰۸، ۱۲۱ و ۱۳۴°C و هم‌چنین چرخه‌های اتوکلاو کردن (۱ تا ۳ چرخه) بر میزان تشکیل نشاسته مقاوم و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و عملکردی آن بود. نتایج نشان داد که با افزایش دمای اتوکلاو و چرخه‌های دمایی، میزان تشکیل نشاسته مقاوم افزایش یافت. میزان حلالیت نشاسته مقاوم حاصل نسبت به نشاسته طبیعی ذرت افزایش چشمگیری داشت، در حالی که از نظر میزان آمیلوز ظاهری دچار تغییر نشد. هم‌چنین فرایند اتوکلاو-پسروری منجر به تغییر کریستال‌های نشاسته از نوع A به نوع B و V شده و درصد کریستالی نشاسته نیز افزایش پیدا کرد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی نشان‌دهنده تغییرات چشمگیر در گرانول‌های نشاسته و ایجاد بافت اسفنج مانند در اثر فرایند اتوکلاو بود. هم‌چنین کلیه ویژگی‌های بافتی شامل سختی، پیوستگی بافت، ارتجاع پذیری و صمغی بودن نشاسته مقاوم در مقایسه با نشاسته طبیعی ذرت دچار کاهش شد.

واژه‌های کلیدی: نشاسته مقاوم، اتوکلاو، نشاسته ذرت، ویژگی‌های ساختاری، ویژگی‌های عملکردی.

* نویسنده مسئول: mmtehrani@um.ac.ir

۱. مقدمه

اتوکلاو نمودن محصولات بر پایه نشاسته منجر به پسروری و در نتیجه افزایش میزان نشاسته مقاوم به‌ویژه در غذاهای با آمیلوز بالا می‌گردد. تولید نشاسته مقاوم با استفاده از روش اتوکلاو می‌تواند تحت تاثیر میزان آمیلوز، مدت زمان تیمار و دما قرار بگیرد [۹].

مطالعه‌ای که در خصوص تشکیل نشاسته مقاوم به روش اتوکلاو کردن توسط سیورت و پومرانز انجام شد، نشان داد که در میان نشاسته‌های گندم، نخود، سیب زمینی و ۴ نوع نشاسته ذرت معمولی، واکسی، amylo maize V و amylo maize VII بیش‌ترین بازده به میزان ۲/۱۳٪، از نشاسته ذرت با آمیلوز بالا (amylo maize VII) به‌دست آمده است [۱۰]. تشکیل نشاسته مقاوم در این نوع نشاسته تحت تاثیر نسبت نشاسته به آب، دمای اتوکلاو و تعداد چرخه‌های اتوکلاو کردن - خنک کردن قرار گرفته است. تعداد چرخه‌ها بیش‌ترین تاثیر را بر تشکیل نشاسته مقاوم داشت و افزایش آن تا ۲۰ چرخه منجر به افزایش میزان نشاسته مقاوم تا بیش از ۴۰٪ شده است. همچنین تشکیل نشاسته مقاوم در نشاسته جو به شدت تحت تاثیر تعداد چرخه‌های اتوکلاو کردن - خنک کردن قرار گرفت به‌طوری که افزایش تعداد چرخه‌ها از ۱ به ۲۰ میزان نشاسته مقاوم را از ۶ به ۲۶٪ افزایش داد [۱۱].

دندار و گاسمن نشاسته ذرت با آمیلوز حدود ۷۰٪ را تحت تیمار اتوکلاو قرار دادند [۱۲]. نمونه‌ها به مدت ۳۰ min در دمای ۱۴۰ یا ۱۴۵°C اتوکلاو و سپس به مدت ۲۴، ۴۸ یا ۷۲ h در دمای ۴°C قرار گرفتند. بسته به نوع تیمار، ۱، ۲ یا ۳ چرخه اتوکلاو- پسروری برای نمونه‌ها انجام و سپس در آن خشک شدند. میزان نشاسته مقاوم برای نمونه‌های اتوکلاو شده در دمای ۱۴۰°C بین ۲۲ تا ۲۷٪ بود که با افزایش زمان پسروری به صورت خطی افزایش پیدا کرد. نمونه‌های اتوکلاو شده در دمای ۱۴۵°C، به جز این‌که میزان نشاسته مقاوم در تمام زمان‌ها حدود ۵٪ بیش‌تر بود، روند مشابهی را داشتند. از تورک و همکاران از دو نوع نشاسته ذرت آمیلوز بالا شامل Hylon V با ۴۳٪ نشاسته مقاوم و Hylon VII با ۵۳٪ نشاسته مقاوم استفاده کردند و مشاهده نمودند که استفاده از ۳ چرخه اتوکلاو- پسروری دارای تاثیر منفی بوده و میزان نشاسته مقاوم را به ۲۶/۷ و ۳۷/۴٪ برای به‌ترتیب Hylon VII و Hylon V کاهش داد [۱۳].

اغلب کارهای صورت گرفته بر روی نشاسته مقاوم بر مبنای

به‌طور کلی نشاسته براساس قابلیت هضم آن توسط آنزیم‌ها در سه گروه کلی زود هضم، دیر هضم و مقاوم در برابر هضم (RS) تقسیم می‌شود. نشاسته مقاوم به هضم (RS) در واقع به بخشی از نشاسته اطلاق می‌شود که پس از ۱۲۰ min انکوباسیون در برابر آنزیم‌های هضم‌کننده مانند آنزیم آلفا آمیلاز بدون تغییر و هضم نشده باقی می‌ماند [۱، ۲]. نشاسته مقاوم در گروه فیبرهای غذایی و پری بیوتیک قرار دارد که در روده کوچک هضم نشده و زمانی که به روده بزرگ می‌رسد به‌وسیله باکتری‌های موجود در آن تخمیر می‌شود [۳].

نشاسته مقاوم را می‌توان بر حسب منبع گیاهی و یا نوع فرایند به‌کار رفته در تولید آن به چهار دسته تقسیم کرد: نشاسته‌ای که به‌طور فیزیکی در دسترس نمی‌باشد (RS1)، نشاسته خام گرانولی یا غیر ژلاتینه که نمی‌تواند توسط روده کوچک جذب گردد (RS2)، نشاسته پسرفته^۱ که در طی فرایندهای پخت و خنک کردن تشکیل می‌شود (RS3) و نشاسته اصلاح شده شیمیایی (RS4) [۴].

در میان انواع نشاسته مقاوم، نشاسته مقاوم نوع ۳ به‌علت پایداری حرارتی آن در طی فرایند حرارتی مواد غذایی مورد توجه بیش‌تری قرار گرفته است [۵]. به منظور تولید نشاسته مقاوم نوع ۳، ساختار گرانولی نشاسته باید توسط حرارت و در حضور آب کافی تخریب شده و زنجیره‌های آمیلوز پس از سرد کردن دوباره به یکدیگر متصل گردند. در طی پسروری^۳ نشاسته ژلاتینه شده، آمیلوز دوباره پیوند برقرار کرده که باعث تشکیل کریستال‌های قوی شده و در نتیجه نشاسته پسرفته (RS3) تشکیل می‌گردد [۶]. فرایند تشکیل نشاسته مقاوم تحت تاثیر عواملی از جمله شرایط نگهداری، نسبت آمیلوز و آمیلو پکتین، طول زنجیره پلی‌مری یا درجه پلی‌مریزاسیون، پسروری یا کریستالیزاسیون مجدد آمیلوز، میزان آب، مراحل و شرایط فرایند و حضور لیپیدها و سایر ترکیبات تاثیر گذار بر فرایند ژلاتیناسیون و یا پسروری قرار می‌گیرد [۷]. نشاسته مقاوم نوع ۳ (RS3) را می‌توان با استفاده از روش‌های هیدروترمال شامل تیمار حرارتی- رطوبتی، اتوکلاو کردن، فرایند اکستروژن، تیمار مایکروویو- رطوبت، انشعاب زدایی^۲، فشار بالا و تیمار اولترا سوند به‌دست آورد [۸].

1. Retrograded
2. Retrogradation
3. Debranching

سه مرتبه تکرار و سپس نمونه‌ها توسط آون در دمای 55°C خشک و آسیاب گردید و در نهایت توسط مش با قطر ذرات $212\ \mu\text{m}$ غربال شدند.

۳.۲. اندازه‌گیری نشاسته مقاوم

اندازه‌گیری نشاسته مقاوم بر اساس روش AOAC 991.43 جهت تعیین فیبر رژیمی کل انجام پذیرفت [۱۴]. به‌طور خلاصه $1\ \text{g}$ نشاسته در $40\ \text{mL}$ بافر MES/TRIS مخلوط و با $50\ \mu\text{L}$ آلفا آمیلاز مقاوم به حرارت به مدت $30\ \text{min}$ در دمای 60°C تا $95-100^{\circ}\text{C}$ انکوبه گردید. محلول فوق سپس تا دمای 60°C خنک و پس از افزودن $100\ \mu\text{L}$ پروتئاز به مدت $30\ \text{min}$ در دمای 60°C نگهداری گردید. در مرحله بعد، پس از تنظیم pH محلول فوق در محدوده $4/8-4/1$ ، $300\ \mu\text{L}$ آنزیم آمیلو-گلوکوزیداز به آن اضافه و دوباره به مدت $30\ \text{min}$ در دمای 60°C نگهداری شد. در مرحله بعد اتانول 96% به مقدار 4 برابر حجم محلول به آن اضافه و به مدت $1\ \text{h}$ جهت ترسیب بخش‌های نامحلول استراحت داده شد و سپس سوسپانسیون حاصله توسط کاغذ فیلتر واتمن شماره 42 صاف گردید. باقی‌مانده روی کاغذ صافی به ترتیب توسط $10\ \text{mL}$ آب مقطر، اتانول 96% و استن شست‌وشو داده شد و به مدت $24\ \text{h}$ در دمای 105°C قرار گرفت. نسبت نشاسته مقاوم از تقسیم وزن بخش باقی مانده خشک شده در روی کاغذ صافی به کل وزن نمونه نشاسته اولیه به‌دست آمد.

۴.۲. محتوای آمیلوز ظاهری

میزان آمیلوز ظاهری با روش استاندارد ایزو به شماره $1-6647$ تعیین گردید [۱۵]. $100\ \text{mg}$ نمونه درون بالن $100\ \text{mL}$ توزین و پس از افزودن $1\ \text{mL}$ اتانول 95% و $9\ \text{mL}$ محلول هیدروکسید سدیم $1\ \text{M}$ در ظرف آب جوش تا شفاف شدن محلول همزده شد و در نهایت تا دمای اتاق سرد و سپس به حجم رسانده شد (محلول A). $5\ \text{mL}$ از محلول A، به بالن $100\ \text{mL}$ حاوی $50\ \text{mL}$ آب دیونیزه منتقل و $1\ \text{mL}$ اسید استیک و $2\ \text{mL}$ محلول ید (محلول ۲٪ یدید پتاسیم و $0/2\%$ ید (وزنی-حجمی)) به بالن اضافه و به حجم رسانده شد. پس از $10\ \text{min}$ ، جذب محلول در طول موج $720\ \text{nm}$ اندازه‌گیری شد. برای تهیه محلول شاهد، به جای نشاسته از $5\ \text{mL}$ محلول $0/9$ مولار هیدروکسید سدیم استفاده شد. بر اساس مقدار جذب نمونه و بر اساس نمودار

نشاسته ذرت آمیلوز بالا و با ژلاتیناسیون در دماهای 121°C و بالاتر بوده و اطلاعات اندکی در زمینه نشاسته طبیعی ذرت و تاثیر دماهای اتوکلاو پایین‌تر و مقایسه آن با سایر دماها بر میزان تشکیل نشاسته مقاوم و همچنین ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ساختمانی آن وجود دارد. لذا بررسی تاثیر دماهای مختلف ژلاتیناسیون و استفاده از چرخه‌های حرارت‌دهی-خنک کردن بر میزان تولید نشاسته مقاوم از نشاسته طبیعی ذرت ضروری به نظر می‌رسد. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر دماهای مختلف اتوکلاو گذاری شامل 108 ، 121 و 134°C بر میزان تولید نشاسته مقاوم، بررسی تاثیر تکرار چرخه ژلاتیناسیون-پسروی بر میزان تولید نشاسته مقاوم و بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نشاسته مقاوم حاصل از پربازده‌ترین روش و مقایسه آن با ویژگی‌های ساختاری و عملکردی نشاسته طبیعی ذرت بود.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. مواد

نشاسته طبیعی ذرت با کد 03420 از شرکت کارگیل آمریکا تهیه گردید. آنزیم‌های مورد استفاده شامل آلفا آمیلاز مقاوم به حرارت با کد (Enzyme Commission (EC) Number 3.2.1.1) A3306، پروتئاز با کد (Enzyme Commission (EC) P3910) A9913 و آمیلوگلوکوزیداز با کد (Enzyme Commission (EC) Number 3.2.1.3) همگی ساخت شرکت سیگما آمریکا بودند. سایر مواد شیمیایی از جمله بافر MES و TRIS، اتانول، استن، هیدروکسید سدیم و اسید استیک از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

۲.۲. تولید نشاسته مقاوم با روش اتوکلاو

تولید نشاسته مقاوم به روش دندار و گاسمن با اندکی تغییرات انجام گرفت [۱۲]. $150\ \text{g}$ (بر اساس وزن خشک) نشاسته طبیعی ذرت به $1000\ \text{mL}$ آب مقطر اضافه گردید. سوسپانسیون‌های حاصل به مدت $15\ \text{min}$ در آب جوش همراه با هم زدن حرارت دیده و سپس به مدت $15\ \text{min}$ درون اتوکلاو در سه دمای مختلف 108 ، 121 و یا 134°C قرار گرفتند. خمیرهای نشاسته اتوکلاو شده تا دمای اتاق خنک و سپس در دمای 4°C به مدت $72\ \text{h}$ نگهداری گردیدند. چرخه‌های اتوکلاو کردن-سرد کردن یک تا

حمام آب جوش به مدت ۳۰ min همراه با هم زدن قرار گرفتند. سپس خمیر نشاسته به دست آمده به صورت داغ وارد قالب‌های مخصوص شد و به منظور تشکیل ژل به مدت ۲۴ h در دمای ۴°C نگهداری گردیدند. ویژگی‌های بافتی ژل نشاسته با استفاده از آزمون پروفایل بافت (TPA) و با استفاده از دستگاه آنالیز بافت TA-Plus Lloyd ساخت کشور انگلستان انجام شد. هر یک از نمونه‌ها در دو سیکل رفت و برگشتی با سرعت حرکت پروب ۱ mm/s، کاهش ارتفاع تا ۳۰٪ نمونه و در دمای اتاق مورد آزمون قرار گرفتند [۱۷].

۸.۲. پراش اشعه ایکس (XRD)

الگوی پراش اشعه ایکس نمونه‌های نشاسته در دامنه (2θ) ۴۰-۴ درجه با فاصله زاویه ۰/۰۲ درجه و با شدت ولتاژ ۴۵ kV توسط دستگاه پراش سنج اشعه ایکس Unisantis مدل XMP300 ساخت کشور آلمان تعیین گردید. نسبت کریستالی به عنوان نسبت سطح ناحیه کریستالی به کل سطح نمودار محاسبه شد [۱۸].

۹.۲. آنالیز آماری

کلید آزمایشات در ۳ تکرار صورت گرفته و تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از طرح آماری کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح اطمینان ۹۵٪ صورت پذیرفت.

۳. نتایج و بحث

۱.۳. اندازه‌گیری نشاسته مقاوم

تشکیل نشاسته مقاوم نوع ۳ (RS3)، به عوامل متعددی از جمله pH، دما، زمان انکوباسیون، زمان نگهداری، تعداد چرخه‌های حرارت دهی-خنک کردن، نوع نشاسته و غیره بستگی دارد. ژلاتیناسیون گرانول‌های نشاسته در طی فرایند حرارت دهی به مقدار زیادی بر مستعد بودن آن‌ها نسبت به هضم آنزیمی تاثیر گذار می‌باشد. تکرار تیمارهای حرارتی/لرطوبتی منجر به کاهش میزان هیدرولیز آلفا آمیلاز و در نتیجه افزایش میزان نشاسته مقاوم نوع ۳ می‌گردد [۱۹].

جدول (۱) مقادیر مربوط به میزان نشاسته مقاوم حاصل از اتوکلاو نمودن نشاسته طبیعی ذرت در سه دمای ۱۰۸، ۱۲۱ و ۱۳۴°C

استاندارد، درصد آمیلوز نمونه تعیین گردید. برای تهیه نمودار استاندارد، از نمونه‌های ۱۰۰ mg مختلف آمیلوز شماره A0512 و آمیلوپکتین شماره ۱۱۰۱۲۰ شرکت سیگما، استفاده شد.

۵.۲. میکروسکوپ الکترونی (SEM)

ویژگی‌های مورفولوژی نمونه‌های نشاسته با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل LEO 1450 VP ساخت آلمان مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور نمونه‌های تیمار شده پس از خشک کردن و آسیاب شدن به پایه آلومینیومی منتقل و توسط دستگاه پوشش دهنده مدل SC7620 ساخت انگلستان تحت پوشش طلا-پالادیوم قرار گرفتند. عکس برداری از نمونه‌ها با ولتاژ شتاب دهنده ۲۰ kV صورت گرفت.

۶.۲. قدرت تورم و حلالیت

قدرت تورم و حلالیت نمونه‌های نشاسته، بر اساس روش لیچ در دماهای ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰°C اندازه‌گیری شد [۱۶]. بدین منظور مقدار معینی از وزن نمونه بر حسب ماده خشک (S)، در لوله درپیچ دار توزین و با آب دیونیزه جهت تهیه سوسپانسیون ۱/۵٪ وزنی-وزنی مخلوط شد. پس از همزدن با همزن گردابی، به مدت ۳۰ min در دمای مورد نظر درون حمام آب گرم قرار گرفته و هر ۵ min با همزن گردابی همزده شد. پس از حرارت‌دهی، دمای لوله با مخلوط آب و یخ به دمای محیط رسانده شده و به مدت ۱۵ min در شتاب ۳۰۰۰×g (۵۳۱۵ rpm) سانتریفیوژ گردید. لایه رویی به پلیت با وزن معین منتقل شده و در دمای ۱۰۵°C تا رسیدن به وزن ثابت خشک گردید (A). هم‌چنین وزن لایه ته‌نشین شده (B)، اندازه‌گیری شد. درصد حلالیت (%SOL) و قدرت تورم (SP) از روابط ۱ و ۲ محاسبه شد.

$$\%SOL = \frac{A}{S} \times 100 \quad (1)$$

$$SP \left(\frac{g_{\text{water}}}{g_{\text{starch}}} \right) = \frac{B \times 100}{S(100 - \%SOL)} \quad (2)$$

۷.۲. ویژگی‌های بافتی ژل نشاسته

برای آماده سازی نمونه‌های ژل نشاسته در ابتدا ۲۰ g نشاسته در ۱۰۰ mL آب مخلوط شد و سپس جهت ژلاتینی شدن درون

در طی خنک کردن، مولکول‌های نشاسته دوباره کریستاله شده و می‌توانند ساختارهایی به شدت بسته را تشکیل دهند که هضم آن‌ها توسط آنزیم‌ها مشکل می‌باشد. به‌طور کلی، چرخه‌های دمایی به منظور گسترش مناطق کریستالی، تکمیل کریستال‌ها و یا احتمالا تغییر به سمت ساختار کریستالی پایدارتر انجام گرفته و تکرار چرخه‌های حرارت دهی برای تشکیل این بخش‌های پایدار مقاوم به هضم مطلوب بوده و منجر به افزایش تشکیل آن‌ها می‌گردند [۶،۲]. مقادیر گزارش شده برای تولید نشاسته مقاوم توسط تیمار اتوکلاو کردن-خنک کردن در حدود ۱۰٪ برای نشاسته کاساوا [۲۰]، ۱۶/۵٪ برای نشاسته ذرت آمیلوزی [۵] و ۱۹٪ در نشاسته موز [۲۱] بوده است. در مطالعه‌ای که توسط ژائو و لین انجام شد میزان نشاسته مقاوم حاصل از اتوکلاو نمودن نشاسته ذرت در دمای 121°C به مدت ۲۰ min و سپس نگهداری آن در دمای 4°C به مدت ۲۴ h از ۴/۱٪ در سیکل اول به ۱۱/۲٪ در سیکل ششم افزایش پیدا کرد [۲۲]. این محققان هم‌چنین ادعا نمودند که تولید نشاسته مقاوم از نشاسته ذرت با افزایش بیش‌تر تعداد چرخه‌های اتوکلاو کردن- سرد کردن به دلیل مصرف انرژی بالا و زمان بر بودن غیر عملی و هم‌چنین غیر اقتصادی می‌باشد.

در نهایت نشاسته حاصل از اتوکلاو نمودن در دمای 134°C پس

پس از ۱، ۲ یا ۳ چرخه حرارت دهی- خنک کردن را نشان می‌دهد. نتایج آنالیز واریانس حاکی از معنی‌دار بودن تاثیر افزایش دمای اتوکلاو و هم‌چنین چرخه‌های اتوکلاو گذاری- خنک کردن بر میزان تشکیل نشاسته مقاوم از نشاسته طبیعی ذرت بود ($p < 0.05$) به‌طوری که با افزایش دمای اتوکلاو از 108°C تا 134°C و هم‌چنین افزایش تعداد چرخه‌های حرارت دهی از ۱ تا ۳ چرخه شاهد افزایش میزان تشکیل نشاسته مقاوم می‌باشیم. این در حالی است که اثر متقابل دمای اتوکلاو و چرخه‌های حرارت دهی دارای اثر معنی‌داری بر تشکیل نشاسته مقاوم نبوده است. مطابق جدول (۱)، میزان نشاسته مقاوم نشاسته طبیعی ذرت تنها ۰/۸۷٪ بود که بعد از انجام تیمارهای اتوکلاو به میزان زیادی افزایش یافت و نشان دهنده قابلیت هضم پایین‌تر نشاسته‌های اصلاح شده در این مطالعه می‌باشد. پس از انجام ۳ سیکل حرارت‌دهی در دماهای ۱۰۸، ۱۲۱ و 134°C ، میزان نشاسته مقاوم به‌ترتیب به ۱۴/۱، ۱۴/۲ و ۱۶/۴٪ رسید که نشان دهنده تشکیل بخش‌های پسرشته غیر قابل هضم در ساختار نشاسته می‌باشد. در اثر اتوکلاو نمودن نشاسته به‌طور کامل ژلاتینه گشته و آمیلوز از درون گرانول‌ها به صورت پلی مری با مارپیچ تصادفی به داخل محلول تراوش می‌کند، در حالی که مناطق کریستالی خوشه‌های زنجیره‌های آمیلوپکتینی منشعب ناپدید شده‌اند.

جدول (۱) میزان نشاسته مقاوم حاصل از اتوکلاو نمودن نشاسته طبیعی ذرت در ۳ دما و ۱ تا ۳ چرخه حرارت دهی- خنک کردن.

Table 1. Resistant starch yield from corn native starch autoclaved at 3 different temperatures and 1 to 3 heating-cooling cycles.

دمای اتوکلاو Autoclave temperature ($^{\circ}\text{C}$)	تعداد چرخه اتوکلاو- خنک کردن Autoclaving- cooling cycles	درصد نشاسته مقاوم Resistant starch %	درصد آمیلوز Amylose %
نشاسته طبیعی ذرت (شاهد) Native corn starch (control)	-	0.87±0.155 ^a	25.44±1.556 ^a
108	1	9.1±0.265 ^d	-
108	2	12.0±0.693 ^c	-
108	3	14.1±0.794 ^b	-
121	1	9.8±0.624 ^d	-
121	2	11.7±0.179 ^c	-
121	3	14.2±0.608 ^b	-
134	1	12.3±0.7 ^c	-
134	2	14.9±0.954 ^b	-
134	3	16.4±0.529 ^a	21.1±1.464 ^a

*میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون از لحاظ آماری به صورت معنی‌دار متفاوت می‌باشند ($p < 0.05$).

*Different letters at each column show significant difference in 95% of confidence level ($p \leq 0.05$).

نشاسته مقاوم به صورت شبکه‌ای پیوسته با تکه‌هایی بزرگ تر و اشکال نامنظم و ساختاری اسفنج مانند و متخلخل بودند که نشان دهنده ژلاتیناسیون کامل نشاسته می‌باشد.

راتنایاک و جکسون مشاهده کردند که زمانی که نشاسته در حضور آب زیاد و در دمای ژلاتیناسیون حرارت ببیند، گرانول‌های نشاسته ذوب شده با یکدیگر متصل شده و ساختاری اسفنج مانند را تشکیل می‌دهند [۲۶]. مطالعات گذشته نشان داده است که مولکول‌های نشاسته به صورت مارپیچ‌های دوگانه با یکدیگر پیوند برقرار کرده و در اثر پسروری ساختارهایی کاملاً بسته ایجاد می‌کنند که توسط پیوندهای هیدروژنی پایدار گشته اند. نشاسته مقاوم به عنوان ساختاری با هلیس دوگانه منظم مشخص شده است که ظاهراً در مناطق داخلی قرار دارد و بنابر این، ساختار جدید تشکیل شده با شکل نامنظم باعث کاهش هیدرولیز آنزیمی می‌گردد [۲۶-۲۸].

۴.۳. قدرت تورم و حلالیت

نتایج حاصل از بررسی‌های آماری نشان دهنده تاثیر معنی‌دار نوع نشاسته، دما و اثر متقابل نوع نشاسته و دما بر درصد قدرت تورم نشاسته‌های طبیعی و مقاوم ذرت بود ($p < 0.05$). قدرت تورم گرانول‌های نشاسته نشان دهنده محدوده ترکیب زنجیره‌های نشاسته در میان بخش‌های کریستالی و آمورف می‌باشد. تورم گرانول‌های نشاسته از مناطق نسبتاً محدودی از قسمت‌های آمورف شروع شده و سپس به سمت بخش‌های آمورف نزدیک مناطق کریستالی پیش رفته و در نهایت به قسمت‌های کریستالی می‌رسد [۲۹]. مطابق با جدول (۲)، قدرت تورم نشاسته طبیعی ذرت از ۲/۹۹٪ در دمای ۶۰°C با افزایش شدیدی در دمای ۷۰°C به ۶/۹۲٪ رسید که می‌تواند در اثر ژلاتیناسیون نشاسته و در نتیجه تورم گرانول‌های نشاسته در این فاصله دمایی و افزایش جذب آب باشد. این روند افزایش قدرت تورم هم‌چنان ادامه داشت به طوری که در دمای ۹۰°C به ۹/۶۸٪ رسید. قدرت تورم نشاسته مقاوم ذرت در محدوده دمایی ۶۰ تا ۹۰°C تفاوت معنی‌داری نداشت. با این وجود قدرت تورم نشاسته مقاوم در دماهای ۶۰ و ۷۰°C به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) بالاتر از نشاسته طبیعی ذرت بود. بیش‌تر بودن مقادیر قدرت تورم اساساً به دلیل ژلاتیناسیون ناشی از فرایند اتوکلاو بوده و تشکیل نشاسته مقاوم نقش مهمی در این زمینه بازی نمی‌کند [۳۰]. در ادامه فرایند

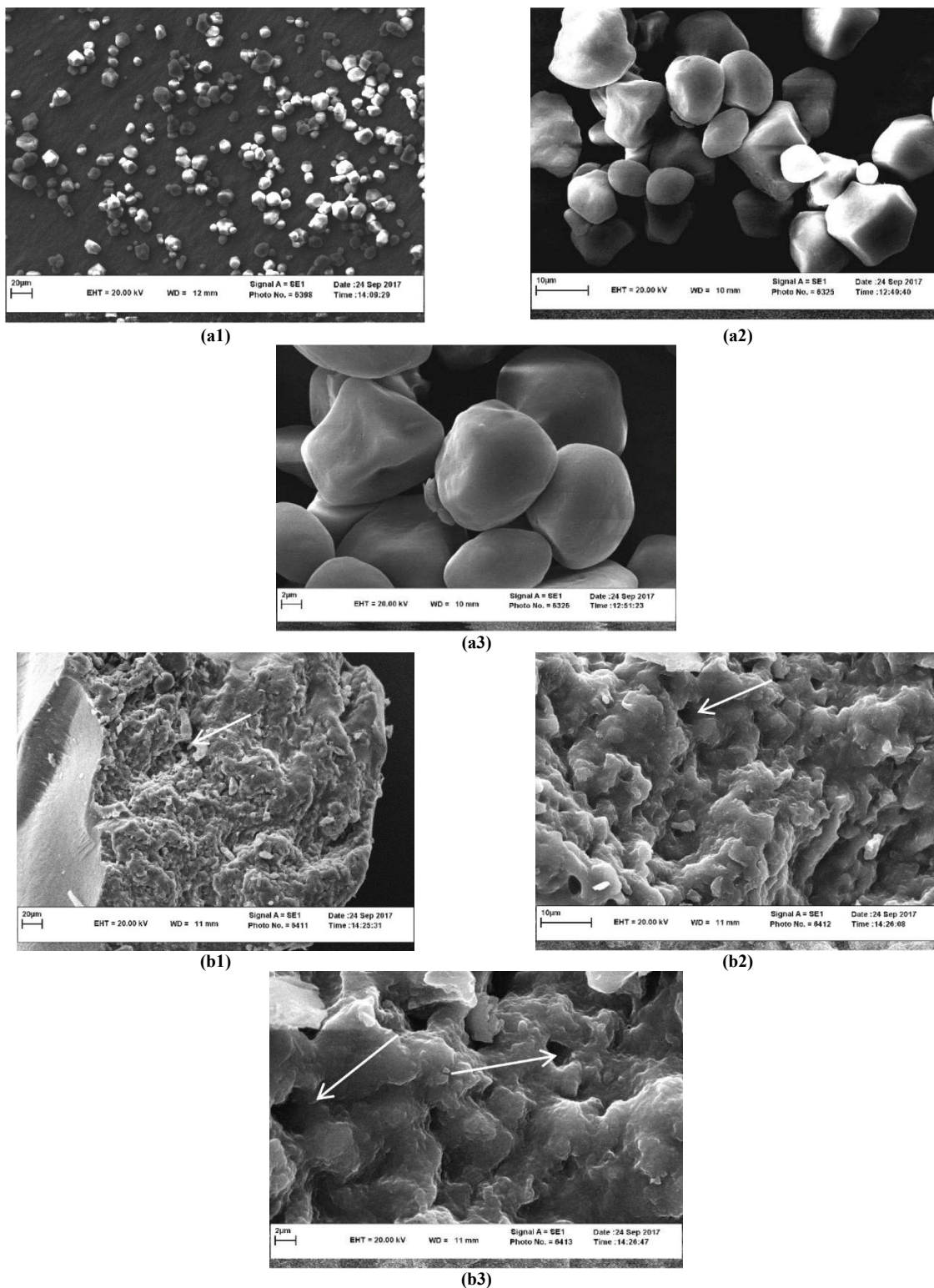
از ۳ چرخه حرارت دهی - خنک کردن که دارای بیش‌ترین میزان نشاسته مقاوم (۱۶/۴٪) در بین سایر نشاسته‌های تولید شده در این مطالعه بود، و از این پس به منظور سهولت نشاسته مقاوم نامیده خواهد شد، انتخاب گشت و آزمون‌های ارزیابی ویژگی‌های ساختاری و عملکردی بر روی آن و نشاسته طبیعی ذرت به عنوان نمونه شاهد انجام شد و با یکدیگر مقایسه گردیدند که در ادامه مقاله به آن پرداخته شده است.

۲.۳. محتوی آمیلوز ظاهری

میزان آمیلوز موجود در گرانول نشاسته به‌طور چشمگیری بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و عملکردی آن تاثیرگذار می‌باشد. میزان آمیلوز در بین انواع مختلف یک نوع گیاه به دلیل تفاوت در منشاء جغرافیایی و شرایط کشت می‌تواند متفاوت باشد [۲۳]. میزان محتوی آمیلوز ظاهری اندازه‌گیری شده نمونه‌های نشاسته طبیعی و مقاوم در این بررسی به ترتیب ۲۵/۴۴ و ۲۱/۱٪ محاسبه شد (جدول ۱). چیناسوامی وهانا میزان آمیلوز ذرت را ۲۵٪ و هم‌چنین سیتارامان و همکاران میزان آمیلوز ۳۵ گونه مختلف ذرت را بین ۱۶/۱ تا ۲۳/۳٪ گزارش نموده اند [۲۴، ۲۵]. اگرچه میزان آمیلوز ظاهری در نشاسته طبیعی ذرت از میزان آن در نشاسته مقاوم بالاتر بود اما این تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشد ($p < 0.05$). این امر نشان می‌دهد که انجام سه مرحله اتوکلاو نمودن در دمای ۱۳۴°C و سپس خنک کردن و نگهداری ژل نشاسته تاثیر معنی‌داری در افزایش یا کاهش میزان ظاهری آمیلوز نداشته است.

۳.۳. میکروسکوپ الکترونی (SEM)

ویژگی‌های ریخت شناسی نشاسته طبیعی و مقاوم با استفاده از تصاویر میکروسکوپ الکترونی بررسی شدند (شکل ۱). گرانول‌های نشاسته طبیعی ذرت دارای ابعادی به اندازه تقریبی بین ۴/۳۵۲ تا ۲۱/۳۳ μm و با اشکال کروی، بیضی و چند وجهی با سطحی صاف و در تعداد معدودی از گرانول‌ها با سطوح دارای حفرات و فرورفتگی بودند. شکل (۱) به خوبی نشان می‌دهد که اصلاح نشاسته طبیعی با استفاده از سیکل‌های حرارت دهی - خنک کردن باعث تغییر ساختار نشاسته گردیده است. در حالی که نشاسته طبیعی دارای ظاهری گرانولی است، اما ساختار گرانول‌های نشاسته پس از تیمار اتوکلاو تخریب شده و نمونه‌های



شکل (۱) تصاویر میکروسکوپ الکترونی (SEM) نمونه‌های (a) نشاسته طبیعی و (b) نشاسته مقاوم ذرت در بزرگنمایی‌های ۱۰۰۰ (۱)، ۵۰۰۰ (۲) و ۱۰۰۰۰ (۳) برابر

Fig. 1. SEM images of a) corn native starch and b) resistant starch at 1000× (1), 5000× (2) and 10,000× (3) magnification

افزایش دما میزان حلالیت در هر دو نمونه نشاسته طبیعی و مقاوم افزایش یافت که نشان دهنده تخریب تدریجی ساختار کریستالی نشاسته در فرایند حرارت دهی و ایجاد پیوندهای هیدروژنی آب با گروه‌های هیدروکسیلی آمیلوز می‌باشد [۳۳]. میزان حلالیت در دمای 60°C در دو نوع نشاسته طبیعی و مقاوم به ترتیب $3/26$ و $36/89\%$ بود که با افزایش دما تا 90°C این میزان به $10/72$ و $49/6\%$ رسید. دلیل افزایش قابل توجه حلالیت نشاسته مقاوم نسبت به نشاسته طبیعی ذرت را می‌توان در تغییرات ساختاری و ایجاد حفرات و منافذ متعدد (فلش‌های مشخص شده در شکل ۱) در ساختار نشاسته مقاوم دانست. فانون و همکاران گزارش کردند که کانال‌ها و منافذ موجود در ساختار نشاسته می‌تواند مسئول کمک به نفوذ و افزایش سطح بالقوه در دسترس برای واکنش و نفوذ ترکیبات واکنشگر و حلال‌ها در گرانول‌ها شود [۳۴]. در نتیجه وجود این حفرات و کانال‌ها و ساختار اسفنجی نشاسته مقاوم (شکل ۱) می‌تواند باعث افزایش شاخص حلالیت نشاسته مقاوم باشد. همچنین از دست دادن ساختار گرانولی در اثر فرایند اتوکلاو و در نتیجه رها شدن فراکسیون آمیلوز نشاسته از گرانول‌های متورم به درون حلال می‌تواند دلیلی بر بالاتر بودن میزان حلالیت نشاسته مقاوم در تمام دماها حتی پایین‌ترین دمای مورد استفاده باشد [۳۵].

حرارت دهی، درصد تورم نشاسته طبیعی به دلیل افزایش ژلاتیناسیون در اثر حرارت افزایش یافته و در دمای 90°C به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) بالاتر از نشاسته مقاوم می‌باشد. از آنجا که قدرت تورم نشاسته مقاوم به جذب آب توسط گرانول‌های نشاسته بویژه در مناطق آمورف بستگی دارد [۳۱]. می‌توان نتیجه گرفت که مناطق آمورف نشاسته مقاوم در دامنه دمایی به کار رفته در این مطالعه نمی‌توانند ژلاتینه گردند. لی و همکاران گزارش کردند که حضور نیروهای پیوندی قوی، مانند هلیس‌های دوگانه، نقش مهمی را در محدود کردن تورم بازی می‌کنند [۱۸]. بنابراین وجود فرایند پسروری و در نتیجه افزایش مناطق کریستالی و کاهش بخش‌های آمورف در گرانول‌های نشاسته منجر به کاهش محل‌های اتصال و در نتیجه عدم امکان افزایش قدرت تورم گشته است [۳۲]. نتایج آنالیز آماری نشان داد که میزان حلالیت نشاسته مقاوم ذرت به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) بالاتر از میزان حلالیت نشاسته طبیعی ذرت بود و همچنین تاثیر افزایش دما بر میزان حلالیت در هر دو نوع نمونه نشاسته معنی‌دار بود ($p < 0/05$). اما اثر متقابل نوع نشاسته و دما بر میزان حلالیت تاثیر معنی‌داری نداشت. ویژگی‌های حلالیت نمونه‌های نشاسته در جدول (۳) نشان داده شده است. همان‌طور که مشخص است، حلالیت نشاسته‌ها در دامنه دمایی 60°C تا 90°C تابعی از دما بود و با

جدول (۲) درصد قدرت تورم نشاسته طبیعی و مقاوم ذرت در دماهای 60°C تا 90°C .

Table 2. Swelling power of corn native starch and resistant starch at temperatures of 60 to 90°C.

نمونه Sample	دما Temperature ($^{\circ}\text{C}$)			
	90	80	70	60
نشاسته طبیعی Native starch	9.68 ± 0.1^a	7.36 ± 0.66^{bc}	6.92 ± 0.04^c	$2.99 \pm 0.1^{d*}$
نشاسته مقاوم Resistant starch	8.3 ± 0.2^b	7.63 ± 0.19^{bc}	8.45 ± 0.51^b	7.62 ± 0.69^{bc}

* میانگین‌های با حروف متفاوت از لحاظ آماری به صورت معنی‌دار متفاوت می‌باشند ($p < 0/05$).

*Different letters at each column show significant difference in 95% of confidence level ($p \leq 0.05$).

جدول (۳) درصد حلالیت نشاسته طبیعی و مقاوم ذرت در دماهای 60°C تا 90°C .

Table 3. Solubility of corn native starch and resistant starch at temperatures of 60 to 90°C.

نمونه Sample	دما Temperature ($^{\circ}\text{C}$)			
	90	80	70	60
نشاسته طبیعی Native starch	10.72 ± 0.1^e	7.08 ± 0.89^f	5.93 ± 0.44^{fg}	$3.26 \pm 0.3^{g*}$
نشاسته مقاوم Resistant starch	49.6 ± 0.72^a	43.69 ± 2.61^b	40.78 ± 1.13^c	36.89 ± 1.23^d

* میانگین‌های با حروف متفاوت از لحاظ آماری به صورت معنی‌دار متفاوت می‌باشند ($p < 0/05$).

*Different letters at each column show significant difference in 95% of confidence level ($p \leq 0.05$).

۵.۳. ویژگی‌های بافتی ژل نشاسته

ارتجاع پذیری، بازگشت نمونه بعد از فشردن به حالت اولیه می‌باشد و به‌عنوان الاستیسیته نیز تعریف می‌گردد [۴۰]. در این بررسی ژل نشاسته طبیعی ذرت ارتجاع پذیری بیشتری (۴/۱۹۲ mm) در مقایسه با نشاسته مقاوم (۲/۷۱۱ mm) داشت. مقادیر بالای ارتجاع پذیری زمانی ایجاد می‌گردد که ساختار ژل در طی اولین سیکل فشار آزمون TPA به تعداد معدودی قسمت‌های بزرگ شکسته شود، در حالی که ارتجاع پذیری پایین در نتیجه شکست ژل به تعداد زیادی تکه کوچک می‌باشد. ژلهایی مانند ژل حاصل از نشاسته مقاوم که خاصیت ارتجاعی کمی دارند در مقایسه با ژل های قوی، راحت تر شکسته می‌شوند [۴۱].

قابلیت صمغی نشان دهنده میزان انرژی مورد نیاز برای خرد کردن ماده غذایی نیمه جامد در دهان و آماده کردن آن برای بلع می‌باشد [۴۲]. علت بالاتر بودن قابلیت صمغی ژل نشاسته طبیعی (۱/۸۱۹ N) در مقایسه با نشاسته مقاوم (۰/۷۶۲ N) را نیز می‌توان بالاتر بودن سختی ژل نشاسته طبیعی دانست [۴۳].

۶.۳. الگوی پراش اشعه ایکس

شدت پیک حاصل از پراش اشعه ایکس و درجه کریستالی نشاسته منعکس کننده تغییرات در بخش‌های کریستالی و آمورف آن می‌باشد. پیک‌های واضح و تیز مشخصه نشاسته‌ای با بخش‌های کریستالی گسترش یافته و سطح کریستالی کامل است، درحالی که پیک‌های پهن نشان دهنده ساختارهای آمورف می‌باشد که در اثر وجود مناطق کریستالی کوچک و هم‌چنین کریستال‌های ناقص ایجاد می‌شوند [۴۴].

نسبت کریستالی و الگوی پراش اشعه ایکس نشاسته‌های طبیعی و مقاوم ذرت در شکل (۲) نشان داده شده است. همان طور که مشخص است نسبت کریستالی نشاسته طبیعی ذرت در این بررسی برابر ۲۵/۳٪ بود (شکل ۲، اعداد درون پرانتز). این

بافت ژل نشاسته منعکس‌کننده ویژگی‌های ساختاری، فیزیکوشیمیایی و رئولوژیکی آن می‌باشد و می‌تواند توسط پارامترهای مختلفی توضیح داده شود. ویژگی‌های بافتی ژل‌های نشاسته طبیعی و مقاوم ذرت شامل میزان سختی، پیوستگی بافت، ارتجاع پذیری و قابلیت صمغی در جدول (۴) نشان داده شده است. همان‌طور که مشخص است میزان سختی، پیوستگی بافت، ارتجاع پذیری و قابلیت صمغی نشاسته طبیعی ذرت نسبت به نشاسته مقاوم بیشتر بود. تفاوت در ویژگی‌های بافتی ژل نشاسته به‌طور عمده تحت تاثیر تغییر در ویژگی‌های رئولوژیکی ماتریس آمیلوزی، کسر حجمی و سختی گرانول‌های نشاسته ژلاتینه شده و هم‌چنین واکنش‌های داخلی بین فازهای پیوسته و پراکنده ژل می‌باشد [۳۶].

سختی، مقاومت ماده غذایی نسبت به اعمال نیروی فشاری به کار رفته می‌باشد و با افزایش سختی ژل، میزان نیروی لازم برای تخریب ساختار ژل بیشتر می‌گردد [۳۷]. میزان سختی ژل نشاسته طبیعی ذرت در این مطالعه ۶/۵۳۵ N بود که در نشاسته مقاوم به ۲/۸۱۶ N کاهش یافت. فرایند اتوکلاو باعث ایجاد تغییراتی در ساختمان مولکولی و گرانولی نشاسته و در نتیجه نفوذ و جذب آب بالای گرانول‌ها شده که منجر به خروج بیش‌تر آمیلوز از داخل گرانول‌ها می‌گردد. در نتیجه این امر به هم پیوستگی مجدد زنجیرهای آمیلوز با یکدیگر و با گرانول‌های باقی‌مانده برای تشکیل شبکه ژل دشوارتر می‌شود که این امر منجر به کاهش سفتی ژل می‌گردد [۳۸]. پیوستگی بافت به عنوان معیار استحکام ساختار داخلی اولیه ژل نشاسته در برابر شکستن تلقی می‌شود. در نتیجه به‌دلیل تخریب ساختار گرانولی و ایجاد حفرات و کانال‌ها در ساختار نشاسته پس از فرایند اتوکلاو (شکل ۱) کاهش در مقدار پیوستگی بافت نمونه‌های نشاسته مقاوم قابل توجیه می‌باشد [۳۹].

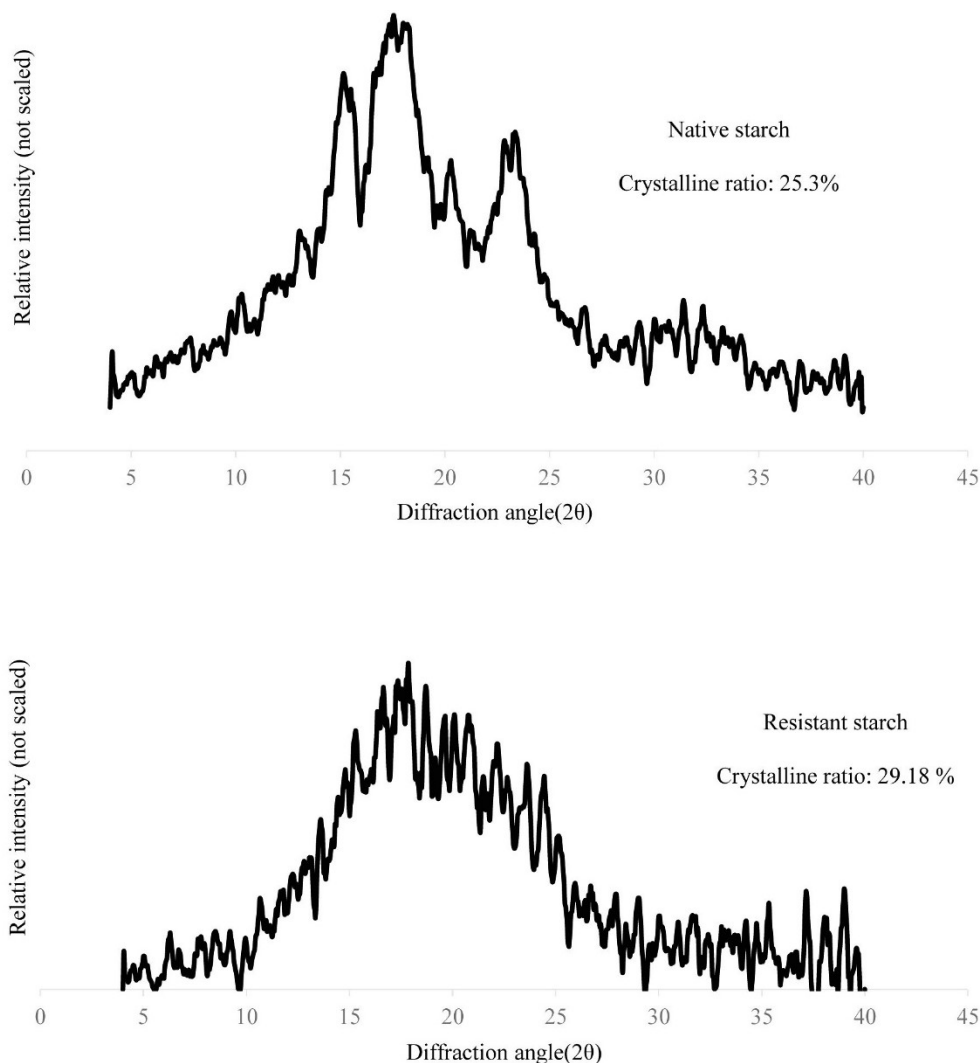
جدول (۴) ویژگی‌های بافتی ژل نشاسته طبیعی و مقاوم ذرت.

Table 4. Textural properties of corn native starch and resistant starch gels.

نمونه Sample	سختی Hardness (N)	پیوستگی بافت Cohesiveness	ارتجاع پذیری Springiness (mm)	قابلیت صمغی Gumminess (N)
نشاسته طبیعی Native starch	6.535±0.8 ^{a*}	0.278±0.054 ^a	4.192±0.071 ^a	1.819±0.425 ^a
نشاسته مقاوم Resistant starch	2.816±0.92 ^b	0.154±0.01 ^b	2.711±0.182 ^b	0.762±0.226 ^b

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون از لحاظ آماری به صورت معنی‌دار متفاوت می‌باشند ($p < 0.05$).

*Different letters at each column show significant difference in 95% of confidence level ($p \leq 0.05$).



شکل (۲) الگوی پراش اشعه ایکس و نسبت کریستالی (اعداد داخل پرانتز) نشاسته طبیعی (بالا) و نشاسته مقاوم (پایین) ذرت

Fig. 2. X-ray diffraction pattern and crystalline ratio of corn native starch (top of the page) and resistant starch (down of the page)

کریستال‌های جدید و هم‌چنین تکامل مناطق کریستالی کوچک موجود در گرانول نشاسته [۴۷] و یا تشکیل کریستال‌های جدید در مناطق آمورف [۴۸] دانست که در اثر فرایند حرارت دهی-خنک کردن و چرخه‌های آن ایجاد شده است. در نتیجه، کریستال‌های جدید و یا منظم شده باعث افزایش شدت پراکنش و نسبت کریستالی در مقایسه با گرانول‌های طبیعی می‌گردند [۱۸]. هم‌چنین نشاسته مقاوم در اثر بازآرایی زنجیره‌های آمیلوز به صورت ساختارهای مقاوم به آنزیم با درجه کریستالی بالاتر ایجاد می‌شود [۴۹].

با توجه به این که الگوی پراش اشعه ایکس نشاسته طبیعی ذرت دارای پیک‌های اصلی در 2θ برابر $15/2$ ، $17/5$ ، $18/1$ و

درحالی است که لین و همکاران مقدار نسبت کریستالی نشاسته طبیعی ذرت را 35% گزارش نمودند [۴۵]. به‌طور کلی، تفاوت در درجه کریستالی بین انواع نشاسته می‌تواند ناشی از اندازه کریستال، مقدار مناطق کریستالی (تحت تاثیر میزان آمیلوپکتین و طول زنجیره آمیلوپکتین)، جهت هلیس‌های دوگانه در قسمت‌های کریستالی و شدت واکنش‌های درونی میان هلیس‌های دوگانه باشد [۴۶]. بنابراین تفاوت در درجه کریستالی می‌تواند ناشی از تعامل و ارتباط بین این عوامل باشد.

همان‌طور که مشخص است نسبت کریستالی نشاسته مقاوم (۲۹/۱۸٪) تولید شده در این بررسی از نشاسته طبیعی (۲۵/۳٪) بالاتر بود. افزایش نسبت کریستالی را می‌توان ناشی از ایجاد

بر میزان تشکیل و هم‌چنین ویژگی‌های ساختاری و عملکردی نشاسته مقاوم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که استفاده از بیش‌ترین دمای اتوکلاو گذاری که برابر با 134°C و هم‌چنین افزایش چرخه‌های حرارت دهی-خنک کردن منجر به افزایش تشکیل نشاسته مقاوم تا $0.16/4$ گردیده است. نتایج نشان داد که میزان آمیلوز ظاهری بین نمونه نشاسته مقاوم و نشاسته طبیعی ذرت تفاوت معنی‌داری نداشت، اما ساختار گرانول‌های نشاسته پس از تیمار اتوکلاو تخریب شد و نمونه‌های نشاسته مقاوم به صورت شبکه‌ای پیوسته با تکه‌هایی بزرگ تر و اشکال نامنظم و ساختاری اسفنج مانند و متخلخل بودند که نشان‌دهنده ژلاتیناسیون نشاسته می‌باشد. قدرت تورم نشاسته مقاوم در دامنه دمایی 60°C تا 90°C تفاوت معنی‌داری نداشت و به‌صورت ثابت باقی ماند در حالی که میزان حلالیت نشاسته مقاوم بسیار بالاتر از نشاسته طبیعی ذرت بود و هم‌چنین افزایش دما منجر به افزایش معنی‌دار میزان حلالیت گشت. هم‌چنین به دلیل تخریب ساختار گرانولی و ایجاد حفرات و کانال‌ها در ساختار نشاسته پس از فرایند اتوکلاو، ساختار نشاسته ذرت دچار تغییرات شد به نحوی که میزان سختی، ارتجاع پذیری، پیوستگی بافت و قابلیت صمغی بودن آن در مقایسه با نشاسته طبیعی ذرت کاهش یافت. ساختار کریستالی نشاسته طبیعی ذرت پس از فرایند اتوکلاو کردن- خنک کردن از نوع A به انواع B و V تغییر یافت و هم‌چنین درصد کریستالی نشاسته مقاوم در مقایسه با نشاسته طبیعی از $25/3$ به $29/18$ افزایش یافت. این نتایج زمینه‌ای را برای ایجاد دانش کاربردی به منظور کاربرد نشاسته مقاوم ذرت در محصولات غذایی با هدف تولید محصولاتی با کالری زایی کم‌تر و کاهش اندیس گلیسمیک خون و هم‌چنین استفاده به عنوان فیبرهای غذایی را میسر می‌سازد.

$23/3$ بود می‌توان نتیجه گرفت که نشاسته فوق دارای کریستال نوع A می‌باشد که مطابق با نتایج حاصل از سایر محققین می‌باشد [۵۲-۵۰]. پس از اعمال فرایندهای اتوکلاو-خنک کردن و پسروی در اثر نگهداری در دمای 4°C کریستال نوع A به کریستال‌های نوع B با پیک‌های اصلی در 20 برابر $17/7$ ، $22/2$ و $24/3$ تغییر یافته است [۵۳]. سایر پیک‌های کوچک به‌طور عمده ناشی از ترکیبات کریستالی با اندازه مولکولی کوچک می‌باشند. این نوع از الگوی پراش اشعه ایکس (الگوی نوع B) در نشاسته موز [۵۴] و نشاسته ذرت [۵۵]، نشاسته مقاوم نوع ۳ (RS3) و هم‌چنین نشاسته مقاوم تجاری (Hi-maize) [۵۶] مشاهده شده است. ایجاد الگوی پراش اشعه ایکس نوع B نتیجه پسروی آمیلوز و آمیلوپکتین می‌باشد [۱۸]. برخی محققان دیگر نیز ایجاد الگوی پراش نوع B در اثر تشکیل نشاسته مقاوم [۵۹،۵۸،۵۷،۱] و یا پسروی نشاسته در دمای پایین [۶۰] را مشاهده و گزارش نمودند. هم‌چنین تغییر الگوی پراش انواع نشاسته از نوع A به B در اثر فرایند با فشار بالا توسط سایر محققین نیز گزارش شده است [۶۴-۶۱].

نشاسته غلات بعد از فرایند پخت الگوی پراش نوع V را نیز از خود نشان می‌دهند که شواهدی مربوط به وجود این نوع کریستال نیز با حضور پیک در 20 برابر $20/1$ در نشاسته مقاوم تولیدی وجود دارد [۶۶، ۶۵]. کریستال‌های نوع V ناشی از کمپلکس بین هلیس‌های یگانه آمیلوز با ترکیبات مختلف قطبی و غیر قطبی مانند اسیدهای چرب و لیپیدها می‌باشند [۶۷، ۶۸].

۴. نتیجه‌گیری

در این بررسی نشاسته مقاوم با استفاده از فرایند اتوکلاو کردن-خنک کردن تولید شد و تاثیر دماهای اتوکلاو گذاری 108 ، 121 و 134°C و هم‌چنین تکرار چرخه‌های اتوکلاو کردن-خنک کردن

منابع

- [1] Berry, C. (1986). Resistant starch: formation and measurement of starch that survives exhaustive digestion with amylolytic enzymes during the determination of dietary fibre. *J. Cereal Sci.*, 4, 301-14.
- [2] Sajilata, M. G., Singhal, R. S., Kulkarni, P.R. (2006). Resistant Starch—A Review. *Compr Rev. Food Sci. F.*, 5, 1-17.
- [3] Douglas, L.C., Sanders, M.E. (2008). Probiotics and prebiotics in dietetics practice. *J Am. Diet Assoc.*, 3, 108-510.
- [4] Wepner, B., Berghofer, E., Miesenberger, E., Tiefenbacher, K. (1999). Citrate starch: Application as resistant starch in different food systems. *Starch/Stärke.*



- [20] Onyango, C., Bley, T., Jacob, A., Henle, T., Rohm, H. (2006). Influence of incubation temperature and time on resistant starch type III formation from autoclaved and acid-hydrolysed cassava starch. *Carbohydr. Polym.*, 66, 494-499.
- [21] Aparicio-Saguilán, A., Flores-Huicochea, E., Tovar, J., García-Suárez, F., Gutiérrez-Meraz, F., Bello-Pérez, L.A. (2005). Resistant Starch-rich Powders Prepared by Autoclaving of Native and Lintnerized Banana Starch: Partial Characterization. *Starch-Stärke*, 57, 405-412.
- [22] Zhao, X.H., Lin, Y. (2009). The impact of coupled acid or pullulanase debranching on the formation of resistant starch from maize starch with autoclaving-cooling cycles. *Eur. Food Res. Technol.*, 230, 179-184.
- [23] Gao, H., Cai, J., Han, W., Huai, H., Chen, Y., Wei, C. (2014). Comparison of starches isolated from three different *Trapa* species. *Food Hydrocoll.*, 37, 174-181.
- [24] Chinnaswamy, R., Hanna, M.A. (1988). Relationship between amylose content and extrusion-expansion properties of com starches. *Cereal Chem.*, 65, 138-143.
- [25] Seetharaman, K., Tziotis, A., Borrás, F., White, P.J., Ferrer, M., Robutti, J. (2001). Thermal and functional characterization of starch from Argentinean corn. *Cereal Chem.*, 78, 379-386.
- [26] Ratnayake, W.S., Jackson, D.S. (2007). A new insight into the gelatinization process of native starches. *Carbohydr. Polym.*, 67, 511-529.
- [27] Wu, H.C.H., Sarko, A. (1978). The double-helical molecular structure of B-amylose. *Carbohydr. Res.*, 61, 7-26.
- [28] Morris, V.J. (1990). Starch gelation and retrogradation. *Trends Food Sci. Tech.*, 1, 2-6.
- [29] Adebawale, K.O., Lawal, O.S. (2002). Effect of annealing and heat moisture conditioning on the physicochemical characteristics of Bambarra groundnut (*Voandzeia subterranea*) starch. *Mol. Nutr. Food Res.*, 46, 311-316.
- [30] Köksel, H., Basman, A., Kahraman, K., Ozturk, S. (2007). Effect of acid modification and heat treatments on resistant starch formation and functional properties of corn starch. *Int. J. Food Prop.*, 10, 691-702.
- [31] Yu, S., Ma, Y., Menager, L., Sun, D.W. (2012). Physicochemical properties of starch and flour from different rice cultivars. *Food Bioprocess Tech.*, 5, 626-637.
- [32] Lawal, O.S. (2004). Composition, physicochemical properties and retrogradation characteristics of native, oxidised, acetylated and acid-thinned new cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) starch. *Food Chem.*, 87, 205-218.
- [33] Zeng, S., Wu, X., Lin, S., Zeng, H., Lu, X., Zhang, Y., Zheng, B. (2015). Structural characteristics and physicochemical properties of lotus seed resistant starch prepared by different methods. *Food Chem.*, 186, 213-51, 354-361.
- [5] Kim, S.K., Kwak, J.E. (2004). Estimation of resistant starch content of high-amylose corn starch. *Food Sci. Biotechnol.*, 13, 71-74.
- [6] Haralampu, S.G. (2000). Resistant starch—a review of the physical properties and biological impact of RS3. *Carbohydr. Polym.*, 41, 285-292.
- [7] Eerlingen, R.C., Delcour, J.A. (1995). Formation, analysis, structure and properties of type III enzyme resistant starch. *J. Cereal Sci.*, 22, 129-138.
- [8] Augustin, M.A., Sanguansri, P., Htoon, A. (2008). Functional performance of a resistant starch ingredient modified using a microfluidiser. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 9, 224-231.
- [9] Lertwanawatana, P., Frazier, R.A., Niranjana, K. (2015). High pressure intensification of cassava resistant starch (RS3) yields. *Food Chem.*, 181, 85-93.
- [10] Sievert, D., Pomeranz, Y. (1989). Enzyme-resistant starch. I. Characterization and evaluation by enzymatic, thermoanalytical, and microscopic methods. *Cereal Chem.*, 66, 342-347.
- [11] Szczodrak, J., Pomeranz, Y. (1991). Starch and enzyme-resistant starch from high-amylose barley. *Cereal Chem.*, 68, 589-596.
- [12] Dundar, A.N., Gocmen, D. (2013). Effects of autoclaving temperature and storing time on resistant starch formation and its functional and physicochemical properties. *Carbohydr Polym.*, 97, 764-771.
- [13] Ozturk, S., Koksel, H., Perry, N.G. (2011). Production of resistant starch from acid-modified amylopectin starches with enhanced functional properties. *J. Food Eng.*, 103, 156-164.
- [14] AOAC. (2000). Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemists, 17th edn. In: Cunniff, P. (Ed.), Arlington, VA, USA., pp 1-37.
- [15] ISO (International Organization for Standardization). (2007). ISO 6647: Norme internationale: Riz-détermination de la teneur en amylose. Geneva, Switzerland.
- [16] Leach, H.W. (1959). Structure of starch granules. I. Swelling and solubility patterns of various starches. *Cereal Chem.*, 36, 534-544.
- [17] Huang, M., Kennedy, J.F., Li, B., Xu, X., Xie, B.J. (2007). Characters of rice starch gel modified by gellan, carrageenan, and glucomannan: a texture profile analysis study. *Carbohydr. Polym.*, 69, 411-418.
- [18] Li, S., Ward, R., Gao, Q. (2011). Effect of heat-moisture treatment on the formation and physicochemical properties of resistant starch from mung bean (*Phaseolus radiatus*) starch. *Food Hydrocoll.*, 25, 1702-1709.
- [19] Milašinović, M.S., Radosavljević, M.M., Dokić, L.P. (2010). Effects of autoclaving and pullulanase debranching on the resistant starch yield of normal maize starch. *J. Serb. Chem. Soc.*, 75, 449-458.

- formation in processed starches. *Bio macromolecules.*, 9, 1951-1958.
- [50] Cheetham, N.W., Tao, L. (1998). Variation in crystalline type with amylose content in maize starch granules: an X-ray powder diffraction study. *Carbohydr. Polym.*, 36, 277-284.
- [51] Xie, X.S., Liu, Q., Cui, S.W. (2006). Studies on the granular structure of resistant starches (type 4) from normal, high amylose and waxy corn starch citrates. *Food Res Int.*, 39, 332-341.
- [52] Chanvrier, H., Uthayakumaran, S., Appelqvist, I.A., Gidley, M.J., Gilbert, E.P., López-Rubio, A. (2007). Influence of storage conditions on the structure, thermal behavior, and formation of enzyme-resistant starch in extruded starches. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 9883-9890.
- [53] Lockett, C.R., Wang, Y.J. (2012). Effects of β -amylolysis on the resistant starch formation of debranched corn starches. *J. Agric. Food Chem.*, 60, 4751-4757.
- [54] Gonzalez-Soto, R.A., Mora-Escobedo, R., Hernandez-Sanchez, H., Sanchez-Rivera, M., Bello-Perez, L.A. (2007). The influence of time and storage temperature on resistant starch formation from autoclaved debranched banana starch. *Food Res. Int.*, 40, 304-310.
- [55] Miao, M., Jiang, B., Zhang, T. (2009). Effect of pullulanase debranching and recrystallization on structure and digestibility of waxy maize starch. *Carbohydr. Polym.*, 76, 214-221.
- [56] Bird, A.R., Lopez-Rubio, A., Shrestha, A.K., Gidley, M.J. (2009). Resistant starch in vitro and in vivo: Factors determining yield, structure, and physiological relevance, in: Kasapis, S., Norton, I.T., Johan, B. (Eds.), *Modern biopolymer science*, Academic Press, pp 449-510.
- [57] Russell, P.L., Berry, C.S., Greenwell, P. (1989). Characterisation of resistant starch from wheat and maize. *J. Cereal Sci.*, 9, 1-15.
- [58] Siljeström, M., Eliasson, A.C., Björck, I. (1989). Characterization of resistant starch from autoclaved wheat starch. *Starch-Stärke.*, 41, 147-151.
- [59] Shi, M.M., Gao, Q.Y. (2011). Physicochemical properties, structure and in vitro digestion of resistant starch from waxy rice starch. *Carbohydr. Polym.*, 84, 1151-1157.
- [60] Shamaï, K., Bianco-Peled, H., Shimoni, E. (2003). Polymorphism of resistant starch type III. *Carbohydr. Polym.*, 54, 363-369.
- [61] Hibi, Y., Matsumoto, T., Hagiwara, S. (1993). Effect of high pressure on the crystalline structure of various starch granules. *Cereal Chem.*, 70, 671-671.
- [62] Stute, R., Klingler, R.W., Boguslawski, S., Eshtiaghi, M.N., Knorr, D. (1996). Effects of high pressures treatment on starches. *Starch-Stärke.*, 48, 399-408.
- [63] Katopo, H., Song, Y., Jane, J.L. (2002). Effect and mechanism of ultrahigh hydrostatic pressure on the structure and properties of starches. *Carbohydr. Polym.*, 222.
- [34] Fannon, J.E., Hauber, R.J., BeMiller, J.N. (1992). Surface pores of starch granules. *Cereal Chem.*, 69, 284-288.
- [35] Stone, L.A., Lorenz, K. (1984). The Starch of Amaranthus—Physico-chemical Properties and Functional Characteristics. *Starch-Stärke.*, 36, 232-237.
- [36] Singh, N., Kaur, L., Sandhu, K.S., Kaur, J., Nishinari, K. (2006). Relationships between physicochemical, morphological, thermal, rheological properties of rice starches. *Food Hydrocoll.*, 20, 532-542.
- [37] Szczesniak, A.S. (2002). Texture is a sensory property. *Food Qual Prefer.*, 13, 215-225.
- [38] Choi, S.G., Kerr, W.L. (2003). Effects of chemical modification of wheat starch on molecular mobility as studied by pulsed 1 H NMR. *LWT - Food Sci Technol.*, 36, 105-112.
- [39] Czechowska-Biskup, R., Rokita, B., Lotfy, S., Ulanski, P., Rosiak, J.M. (2005). Degradation of chitosan and starch by 360-kHz ultrasound. *Carbohydr. Polym.*, 60, 175-184.
- [40] Sanderson, G.R. (1990). Gellan gum, in: Harris, P. *Food gels*. Springer Netherlands, pp 201-232.
- [41] Marshall, S.G., Vsisey, M. (1972). Sweetness perception in relation to some textural characteristics of hydrocolloid gels. *J. Texture Stud.*, 3, 173-185.
- [42] Majzoobi, M., Ghiasi, F., Habibi, M., Hedayati, S., Farahnaky, A. (2014). Influence of soy protein isolate on the quality of batter and sponge cake. *J. Food Process Pres.*, 38, 1164-1170.
- [43] Yamin, F.F., Lee, M., Pollak, L.M., White, P.J. (1999). Thermal properties of starch in corn variants isolated after chemical mutagenesis of inbred line B73. *Cereal Chem.*, 76, 175-181.
- [44] Zhang, Y., Zeng, H., Wang, Y., Zeng, S., Zheng, B. (2014). Structural characteristics and crystalline properties of lotus seed resistant starch and its prebiotic effects. *Food Chem.*, 155, 311-318.
- [45] Lin, J.H., Singh, H., Wen, C.Y., Chang, Y.H. (2011). Partial-degradation and heat-moisture dual modification on the enzymatic resistance and boiling-stable resistant starch content of corn starches. *J. Cereal Sci.*, 54, 83-89.
- [46] Song, Y., Jane, J. (2000). Characterization of barley starches of waxy, normal, and high amylose varieties. *Carbohydr. Polym.*, 41, 365-377.
- [47] Donovan, J.W., Lorenz, K., Kulp, K. (1983). Differential Scanning Calorimetry of Heat-Moisture. *Cereal Chem.*, 60, 381-387.
- [48] Adebowale, K.O., Lawal, O.S. (2003). Microstructure, physicochemical properties and retrogradation behaviour of Mucuna bean (*Mucuna pruriens*) starch on heat moisture treatments. *Food Hydrocoll.*, 17, 265-272.
- [49] Lopez-Rubio, A., Flanagan, B.M., Shrestha, A.K., Gidley, M.J., Gilbert, E.P. (2008). Molecular rearrangement of starch during in vitro digestion: toward a better understanding of enzyme resistant starch

47, 233-244.

[64] Bauer, B.A., Wiehle, T., Knorr, D. (2005). Impact of high hydrostatic pressure treatment on the resistant starch content of wheat starch. *Starch-Stärke.*, 57, 124-133.

[65] French, D. (1984). Organization of starch granules, in: Whistler, R.L., BeMiller, J.N., Paschall, E.F. (Eds.), *Starch: Chemistry and Technology (Second Edition)*. Academic Press, pp 183-247.

[66] Hasjim, J., Jane, J.L. (2009). Production of Resistant Starch by Extrusion Cooking of Acid-Modified Normal-Maize Starch. *J. Food Sci.*, 74, 556-562.

[67] Godet, M.C., Bouchet, B., Colonna, P., Gallant, D.J., Buleon, A. (1996). Crystalline Amylose-Fatty Acid Complexes: Morphology and Crystal Thickness. *J. Food Sci.*, 61, 1196-1201.

[68] Shrestha, A.K., Lopez-Rubio, A., Blazek, J., Gilbert, E.P., Gidley, M.J. (2010). Enzyme resistance and structural organization in extruded high amylose maize starch. *Carbohydr. Polym.*, 80, 699-710.