

## ارزیابی اثر فراصوت و دما بر ویژگی‌های کریستالی و میکروسکوپی گرانول‌های نشاسته برنج معلق در آب به روش سطح پاسخ (RSM)

رضا فرهمندفر\*، سیدعلی مرتضوی، رسول کدخدایی، فریده طباطبایی یزدی، آرش کوچکی و مریم حسینی\*\*

\* نگارنده مسئول، نشانی: ساری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ص. پ. ۵۷۸، پیام‌نگار: reza1farahmand@yahoo.com  
\*\* به‌ترتیب: استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری؛ استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد؛ دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی خراسان رضوی؛ دانشیاران گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد؛ و استادیار مؤسسه تحقیقات برنج کشور  
تاریخ دریافت: ۹۱/۶/۱۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۱۴

### چکیده

نشاسته منبع اصلی انرژی در رژیم انسان است. اصلاحات فیزیکی، شیمیایی و آنزیمی می‌تواند باعث تغییراتی گردد که در نشاسته‌های طبیعی تجاری موجود، قابل دسترس یا قابل کنترل نیست لذا در این تحقیق از فراصوت برای بررسی اثر روش‌های فیزیکی بر خصوصیات کریستالی و خمیری نشاسته برنج استفاده شد. در این تحقیق، به دیسپرسیون نشاسته برنج (۸ درصد) فراصوت داده شد و برای مطالعه تغییرات ریخت‌شناسی برنج میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و میکروسکوپ نوری مورد استفاده قرار گرفت. برای بررسی بخش‌های کریستالی نشاسته‌ها، نمونه‌های خشک شده با استفاده از پراش اشعه ایکس (XRD) آنالیز شدند. برای ارزیابی تأثیرات سه متغیر دمای فرآیند (۶۵-۴۵ درجه سلسیوس)، مدت زمان (۳۰-۱۰ ثانیه) و دامنه فراصوت (۱۰۰-۰ درصد) بر خصوصیات کریستالی و میکروسکوپی نشاسته برنج، از روش سطح پاسخ (RSM) استفاده شد. یافته‌ها نشان داد که فراصوت تغییری در الگوی پراش اشعه ایکس (نوع A) ایجاد نمی‌کند و با افزایش دما و زمان، درجه کریستالی روند کاهشی به خود می‌گیرد. در دماها و دامنه‌های فراصوت بالا تمایل برای کاهش درجه کریستالی نشاسته برنج مشاهده شد. افزایش هم‌زمان دما، زمان و دامنه فراصوت، و ایجاد سوراخ و شکاف در سطح گرانول‌ها احتمالاً به واکنش‌گرها اجازه نفوذ راحت‌تر می‌دهند و باعث افزایش سرعت واکنش‌های شیمیایی می‌شوند.

### واژه‌های کلیدی

برنج، تصویر میکروسکوپی، درجه کریستالی، فراصوت، نشاسته

### مقدمه

ساختار شبه کریستالی گرانول‌ها قرار می‌گیرند (Eliasson & Gudmundsson, 2006; Preiss, 2006). در گرانول‌های نشاسته، معمولاً زنجیره‌های خارجی آمیلوپکتین مارپیچ‌های دوتایی را ایجاد می‌کنند. این مارپیچ‌ها، بسته به نحوه قرارگیری در فضا و نوع نشاسته، شکل‌های کریستالی مختلفی را به وجود می‌آورند که نوع ساختار کریستالی و مقدار کریستال‌های موجود را می‌توان

نشاسته نوعی کربوهیدرات ذخیره‌ای است که گیاهان آوندی آن را برای تأمین انرژی مورد نیاز خود تولید می‌کنند. این ماده پس از سلولز، بیش‌ترین زیست توده<sup>۱</sup> تولیدی بر زمین را به خود اختصاص می‌دهد (Jane, 2004). نشاسته شامل آمیلوپکتین‌های پرشاخه و آمیلوزهای (عمدتاً) خطی است و این مولکول‌ها در

دیسپرسیون‌های کاملاً خمیری نشاسته است. در این حالت، دیسپرسیون‌های نشاسته در دمای بالاتر از دمای شروع ژلاتینه شدن حرارت داده می‌شوند به طوری که گرانول‌های نشاسته در اجزای مولکولی خود (آمیلوز و آمیلوپکتین) حل می‌شوند (Zuo *et al.*, 2009).

گلانت و همکاران (Gallant *et al.*, 1972) در مطالعات خود، امواج فراصوت را در دماهای محدود روی سوسپانسیون نشاسته سیب‌زمینی به کار بردند و گزارش دادند که با افزایش حفره‌زایی<sup>۳</sup>، حفره‌های مخروطی عمیقی بر سطح گرانول ایجاد می‌شود. با افزایش مدت زمان اعمال فراصوت، میزان این تخریب سطحی افزایش می‌یابد. سزچوووسکا- بیسکاپ و همکاران (Czechowska- Biskup *et al.*, 2005) به کمک امواج فراصوت با فرکانس ۳۶۰ کیلوهرتز، پلیمرهای کیتوزان و نشاسته را تخریب کردند و نشان دادند که این تیمار روشی مؤثر برای کاهش وزن مولکولی هر دو پلی‌ساکارید به‌شمار می‌رود به طوری- که بسته به غلظت پلیمر، مولکول‌ها با تأثیرات مکانیکی و نیز تأثیرات شیمیایی (مثل اثر رادیکال‌های OH) تخریب می‌شوند.

هوآنگ و همکاران (Huang *et al.*, 2007) فراصوت را بر گرانول‌های هیدروکسی پروپیل شده نشاسته ذرت اعمال کردند. این محققان به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی<sup>۴</sup> (SEM) نشان دادند که بر سطح این گرانول‌ها، یک سری سوراخ و کانال وجود دارد. مطالعات پراش اشعه ایکس (XRD)، هیچ‌گونه تغییری را در ساختار کریستالی گرانول‌ها نشان نمی‌دهد. با اعمال فراصوت، دمای خمیری گرانول‌های هیدروکسی پروپیل شده نشاسته ذرت افزایش ولی ویسکوزیته ماکزیمم کاهش می‌یابد.

تحقیقات در زمینه اثر فراصوت بر نشاسته برنج عملاً محدود است، در حالی که این مطالعات امکان درک عمیق‌تر از ماهیت نشاسته را فراهم خواهد کرد. به همین دلیل این تحقیق با هدف ارزیابی اثر فراصوت بر

از طریق پراش اشعه X تعیین کرد. امروزه با پراش اشعه X، سه نوع ساختار کریستالی اصلی به نام‌های A، B و C و دو نوع فرعی به نام‌های E و V توسط شناسایی شده است. معمولاً نشاسته غلات (مثل گندم، برنج، جو، ذرت معمولی) الگوی پراش نوع A، نشاسته غده‌ای (مثل سیب‌زمینی) الگوی پراش نوع B، و نشاسته بقولات (مثل نخود و لوبیا) الگوی پراش نوع C را از خود نشان می‌دهند. در برخی غلات مثل جو آمیلوزی و ذرت آمیلوزی، الگوی پراش نوع B مشاهده می‌شود. باید توجه داشت که الگوی پراش نوع C در واقع مخلوطی از نوع A و B است، برای مثال اثبات شده است که نشاسته‌های موجود در مرکز و نواحی خارجی گرانول‌های نشاسته بقولات به ترتیب الگوی پراش نوع A و B را از خود نشان می‌دهند ولی در نشاسته بقولات (مجموع لایه‌های داخلی و خارجی گرانول) الگوی پراش نوع C مشاهده می‌شود (Donald, 2004).

امواج فراصوت (قوی) دارای تأثیرات مکانیکی و شیمیایی معنی‌دار هستند و در نتیجه می‌توانند خصوصیات غذایی را تغییر دهند و از این رو در فرآیندهای غذایی به کار می‌روند. برخی از این کاربردها عبارت‌اند از اصلاح خصوصیات نشاسته، اختلاط مناسب، ترد کردن گوشت، بهبود انجماد و خروج از انجماد مواد غذایی، گاززدایی، استخراج ترکیبات مولد عطر و طعم، پختن، همگن کردن و امولسیون کردن، کریستاله کردن لیپیدها، خشک کردن و تصفیه کردن، سترون‌سازی تجهیزات، تمیز کردن سطوح، تسریع واکنش‌های اکسیداسیون، تأثیرگذاری بر میکروبه‌ها، تأثیرگذاری بر آنزیم‌ها و غیره (Torley & Bhandari, 2007).

به‌طور کلی، تیمار فراصوت بر دیسپرسیون‌های غیرخمیری گرانول‌های نشاسته<sup>۱</sup> و خمیرهای نشاسته<sup>۲</sup> قابل اجرا است. تحقیقات در مورد دیسپرسیون‌های غیرخمیری گرانول‌های نشاسته محدود است. اکثر مطالعات در زمینه تأثیر فراصوت بر نشاسته، بر

1- Non-pasted Dispersions of Starch Granules  
3- Cavitation

2- Starch Pastes  
4- Scanning Electron Microscopy

یک قطره از دیسپرسیون‌های نشاسته بر استاب آلومینیومی<sup>۵</sup> ریخته شد و پس از خشک کردن در دسیکاتور، پوششی از طلا-پالادیوم بر آن قرار گرفت؛ در مرحله بعد، با میکروسکوپ الکترونی روبشی (۱۴۵۰ VP)، لئو، انگلستان<sup>۶</sup> عکس‌برداری شد.

### خشک کردن

دیسپرسیون‌های نشاسته به سینی‌ها منتقل شدند و تا رسیدن به وزن ثابت در آون فن‌دار با دمای ۴۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند. نمونه‌های خشک شده به کمک هاون چینی آسیاب و پس از عبور از غربال (با شماره مش ۳۵) برای آزمایش بعدی، در کیسه‌های پلاستیکی غیرقابل نفوذ قرار داده شدند.

### پراش اشعه ایکس

الگوی پراش اشعه ایکس (XRD) با پراشگر تجزیه‌ای (PW۳۷۱۰، فیلیپس، هلند)<sup>۷</sup> تعیین شد. این دستگاه دارای لوله مسی آندی اشعه ایکس<sup>۸</sup> است و با ولتاژ ۳۰ کیلوولت و جریان ۳۰ میلی‌آمپر کار می‌کند. نمونه‌های نشاسته ابتدا فشرده و سپس در یک نگهدارنده آلومینیومی قرار داده شدند. برای تعیین داده‌های پراش، زاویه پراش (۲θ) در محدوده ۵ تا ۳۵ درجه سلسیوس و سرعت پردازش برابر ۸ درجه در دقیقه تعیین شد. کریستالی بودن نسبی (درجه کریستالی)<sup>۹</sup> از رابطه ۱ تعیین شد:

$$CD = \frac{I_{net}}{I_{total}} \times 100 \quad (1)$$

که در آن،

$CD$  = درصد کریستالی؛  $I_{net}$  = شدت کریستالی پیک‌ها؛  
و  $I_{total}$  = شدت کل.

ویژگی‌های کریستالی و میکروسکوپی نشاسته برنج به اجرا در آمده است.

## مواد و روش‌ها

### مواد اولیه

نشاسته طبیعی برنج آمیلوز بالا از شرکت چوهنگ (ناکورن پراسوم، تایلند)<sup>۱</sup> تهیه شد. این نشاسته ۲۶ درصد آمیلوز و ۹۸/۵۰ درصد کربوهیدرات دارد و pH آن برابر با ۶/۵ است.

### اعمال فراصوت و میکروسکوپ نوری

دیسپرسیون ۸ درصد نشاسته برنج تهیه و به محفظه ویژه اعمال امواج فراصوت منتقل شد. این محفظه روی هم‌زن مغناطیسی با دور آرام (۲۰۰ rpm) قرار گرفت تا از رسوب گرانول‌های نشاسته در هنگام فراصوت‌دهی جلوگیری شود. برای اعمال امواج فراصوت مداوم، از یک دستگاه مولد امواج فراصوت با توان اسمی ۷۵۰ وات و فرکانس ۲۰ کیلوهرتز (سونیکس ویبرسل VC 750، سونیکس و متریالز، آمریکا)<sup>۲</sup> استفاده شد. دمای مورد نظر به هنگام فراصوت‌دهی، به کمک سیرکولاتور (F12-MC، جولابو، آلمان)<sup>۳</sup> و با چرخش مداوم آب در بین دو جداره محفظه فراصوت‌دهی حفظ گردید. بلافاصله بعد از خروج نمونه‌ها از زیر دستگاه فراصوت، به‌وسیله دوربین دیجیتال متصل به میکروسکوپ نوری (Bx-60، اولمپیوس، ژاپن)<sup>۴</sup> و با بزرگ‌نمایی ۴۰۰× عکس‌برداری شدند.

### میکروسکوپ الکترونی روبشی

ساختار سطحی گرانول‌های نشاسته با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مشاهده شد. برای این منظور،

1- Choheng Co., Ltd. (Nakorn Prathom, Thailand)  
3- Circulator (F12-MC, Julabo, Germany)  
5- Aluminum stub  
7- Analytical diffractometer (PW3710, Philips, Netherlands)  
9- Crystallinity degree

2- Sonics Vibracell VC 750, Sonics and Materials, USA  
4- BX-60, Olympus, Japan  
6-1450VP, LEO, UK  
8- Copper anode X-ray tube

## طرح آماری

$$Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{33}x_3^2 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 + \varepsilon \quad (2)$$

ضرایب چند جمله‌ای به صورت  $b_0$  (عدد ثابت)؛  $b_1$ ،  $b_2$  و  $b_3$  (اثرهای خطی)؛  $b_{11}$ ،  $b_{22}$  و  $b_{33}$  (اثرهای درجه دوم)؛ و  $b_{12}$ ،  $b_{13}$  و  $b_{23}$  (اثرهای متقابل) بیان شده‌اند. معنی‌داری ضرایب مدل با استفاده از تحلیل واریانس (ANOVA) برای هر پاسخ تعیین شد. کفایت مدل، با استفاده از طریق آزمون ضعف برازش<sup>۵</sup> و ضریب تبیین<sup>۶</sup> ( $R^2$  و  $R^2$  اصلاح شده) مورد بررسی قرار گرفت. منحنی‌های سطح پاسخ نیز با این نرم‌افزار رسم شدند.

به منظور بررسی تأثیرات متقابل دامنه فراسوت<sup>۱</sup> (A)، مدت زمان (s) و دما (T) از روش پاسخ سطح<sup>۲</sup> (RSM) استفاده شد. برای یافتن اثر متغیرهای مستقل بر درجه کریستالی نشاسته، روش پاسخ سطح به کار گرفته شد (جدول ۱). داده‌ها (جدول ۲) در این طرح با استفاده از نرم‌افزار دیزاین اکسپرت<sup>۳</sup> مدل ۶.۰.۲ (مینیاپولیس آمریکا)<sup>۴</sup> مدل‌سازی و نمودارهای سه‌بعدی (منحنی‌های سطح پاسخ) برای بررسی رابطه میان پاسخ‌ها و متغیرهای مستقل رسم شد. توابع پاسخ (y) بر داده‌های حاصل از آزمایش‌ها با استفاده از مدل چندجمله‌ای درجه دوم برازش داده شد (رابطه ۲).

جدول ۱- نمایش متغیرهای فرآیند و سطوح آن‌ها در طرح مرکب مرکزی

متغیر	نماد ریاضی	کد و سطوح مربوطه		
		-۱	۰	+۱
دما (درجه سلسیوس)	$X_1$	۴۵	۵۵	۶۵
زمان (ثانیه)	$X_2$	۱۰	۱۵۵	۳۰۰
دامنه فراسوت (درصد)	$X_3$	۰	۵۰	۱۰۰

## نتایج و بحث

## اثر متغیرهای مستقل بر الگوی پراش اشعه ایکس و درجه کریستالی

ذرت و مطالعه پراش اشعه ایکس (XRD) آن‌ها، می‌گویند که الگوی کریستالی گرانول‌ها در قبل و بعد از اعمال فراسوت، نوع A باقی می‌ماند. لوو و همکاران (Luo *et al.*, 2008) به بررسی اثر اعمال فراسوت بر سه نوع نشاسته مختلف (ذرت طبیعی، ذرت مومی، ذرت آمیلومایز V) پرداختند و تأیید کردند که اعمال فراسوت باعث تغییر الگوی پراش اشعه ایکس (نوع A) نشاسته نمی‌شود.

مدل ارائه شده برای درجه کریستالی از نظر آماری معنی‌دار بود ( $P < 0.0001$ ) و از طرفی آزمون ضعف برازش معنی‌دار نشد ( $P > 0.05$ ) که با توجه به این نتایج چنین برداشت می‌شود که مدل کاسته شده (2FI)، مدل مناسبی می‌باشد.

الگوی پراش اشعه ایکس کلیه نمونه‌های نشاسته برنج (در دماها، زمان‌ها و دامنه‌های فراسوت مختلف) نوع A است لذا اعمال فراسوت در دماها و زمان‌های مختلف تأثیری بر الگوی پراش اشعه X نشاسته ندارد ولی همان‌طور که در شکل ۱ دیده می‌شود، شدت‌های بیشینه اصلی پراش با افزایش دما، مدت زمان و دامنه فراسوت روند نزولی به خود می‌گیرد.

هوانگ و همکاران (Huang *et al.*, 2007) با اعمال فراسوت بر گرانول‌های نشاسته هیدروکسی پروپیل شده

1- Amplitude  
3- Design Expert  
5- Lack of fit test

2- Response surface methodology  
4- Minneapolis, USA  
6- Coefficient of determination

جدول ۲- تیمارهای تصادفی آزمایش برای متغیر وابسته درجه کریستالی در طرح مرکب مرکزی

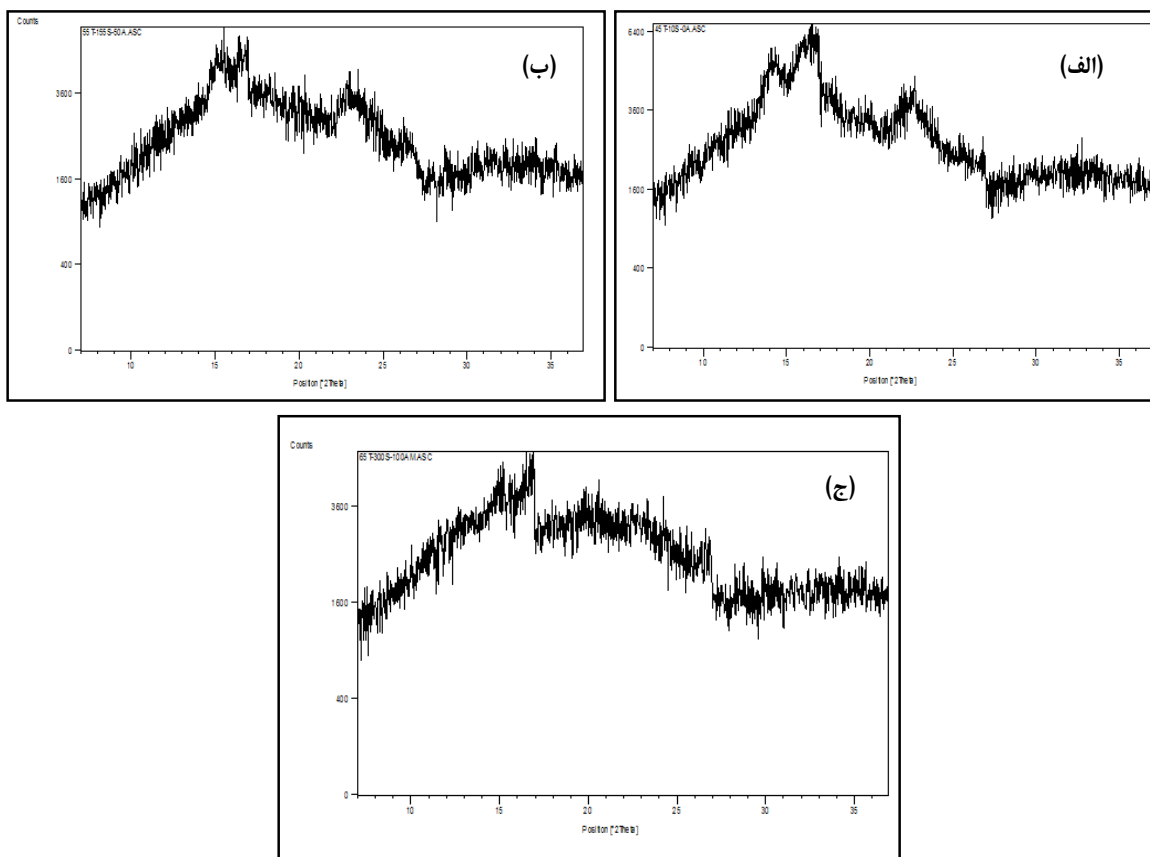
تیمار	متغیر مستقل		متغیر وابسته
	دما (درجه سلسیوس)	مدت زمان (ثانیه)	درجه کریستالی (درصد)
۱	۵۵	۱۵۵	۱۶/۰۱
۲	۴۵	۱۰	۱۶/۲۷
۳	۵۵	۱۵۵	۱۶/۴۴
۴	۶۵	۳۰۰	۱۵/۲۸
۵	۵۵	۱۵۵	۱۶/۲۵
۶	۶۵	۳۰۰	۱۵/۰۷
۷	۵۵	۱۵۵	۱۵/۵۹
۸	۴۵	۳۰۰	۱۷/۷۱
۹	۶۵	۱۰	۱۵/۵۰
۱۰	۴۵	۱۰	۱۸/۰۷
۱۱	۵۵	۱۵۵	۱۶/۱۸
۱۲	۵۵	۱۰	۱۶/۲۴
۱۳	۵۵	۱۵۵	۱۵/۶۳
۱۴	۵۵	۱۵۵	۱۶/۵۳
۱۵	۶۵	۱۰	۱۶/۹۱
۱۶	۶۵	۱۵۵	۱۵/۴۴
۱۷	۴۵	۱۵۵	۱۷/۲۴
۱۸	۵۵	۳۰۰	۱۶/۰۳
۱۹	۴۵	۳۰۰	۱۶/۶۰
۲۰	۵۵	۱۵۵	۱۶/۰۲

کریستالی کاهش یافت و این روند با افزایش زمان شدت بیش‌تری به خود گرفت. از طرف دیگر همان‌طور که مشاهده می‌شود افزایش دما-دامنه فراصوت، نیز باعث تأثیر مشابه بر درجه کریستالی شد.

در هنگام ژلاتینه شدن، با افزایش دما منطقه کریستالی کاهش می‌یابد به‌طوری‌که در دمایی خاص، این منطقه به طور کامل حذف می‌شود (Ratnayake & Jackson, 2007). از طرف دیگر، تیمار فراصوت با ایجاد نیروهای حفره‌زا<sup>۱</sup> باعث اختلال در نظم گرانول‌های نشاسته و نفوذپذیرتر شدن آن‌ها نسبت به آب می‌شود (Freudig *et al.*, 2003; Herceg II *et al.*, 2010). این نوع فعالیت مکانیکی، باعث افزایش مناطق آمورف و کاهش (تضعیف) مناطق کریستالی نشاسته می‌شود (Huang *et al.*, 2007) لذا نتایج این پژوهش با یافته‌های پیشین حمایت می‌شود.

عبارت‌های معنی‌دار مدل شامل دما ( $b_1, P < 0.0001$ )، مدت زمان ( $b_2, P < 0.05$ )، دامنه فراصوت ( $b_3, P < 0.05$ ) و همچنین عبارات مربوط به اثر متقابل بین دما و مدت زمان ( $b_{12}, P < 0.05$ )، مدت زمان و دامنه فراصوت ( $b_{23}, P < 0.001$ ) بودند.  $R^2$  و  $R^2$  اصلاح شده در این مدل به ترتیب  $0.8851$  و  $0.8321$  (بالتر از  $0.80$ ) بودند که قدرت بالای مدل را تأیید می‌کند.

تأثیر متغیرهای مستقل دما، زمان و دامنه فراصوت بر تغییرات درجه کریستالی به‌صورت رویه سطح پاسخ در شکل ۲ نشان داده شده است. در خصوص تأثیرپذیری درجه کریستالی از میزان دما با توجه به معنی‌دار بودن ( $P < 0.05$ ) ضرایب رگرسیونی و همچنین رویه پاسخ، کاملاً مشخص است که میزان دما بر مقدار درجه کریستالی تأثیر داشت به‌طوری‌که با افزایش دما، درجه



شکل ۱- الگوی پراش اشعه ایکس گرانول‌های نشاستهٔ برنج در شرایط الف) ۰ آمپر- ۱۰ ثانیه - ۴۵ درجهٔ سلسیوس، ب) ۵۰ آمپر - ۱۵۵- ثانیه - ۵۵ درجهٔ سلسیوس و ج) ۱۰۰ آمپر - ۳۰۰- ثانیه - ۶۵ درجهٔ سلسیوس

افزایش دما درجهٔ کریستالی نشاسته‌ها عموماً کاهش می‌یابد ولی سرعت این کاهش در نمونه‌های مختلف متفاوت است؛ برای مثال خاصیت کریستالی گرانول‌های نشاستهٔ برنج در دمای ۷۰ درجه سلسیوس به‌طور کامل از بین می‌رود. با افزایش دما از ۳۵ به ۶۵ درجهٔ سلسیوس، درجه کریستالی گرانول‌های برنج از ۲۰ به ۱۰ درصد کاهش می‌یابد. گزارش شده است که نشاستهٔ برنج در مقایسه با سایر نشاسته‌ها، درجهٔ کریستالی پایین‌تری دارد. یاد که در کلیه نشاسته‌های مورد بررسی با افزایش دما، الگوی پراش نوع A تغییر نکرد.

کوک و گیدلی (Cooke & Gidley, 1992) مشاهده کردند که گرمادهی محلول ۵ درصد (وزنی/حجمی)

دونوان (Donovan, 1979) گزارش داده است که در هنگام ژلاتینه شدن نشاسته در محلولی با مقدار آب بالا، ابتدا مناطق آمورف شروع به جذب آب و تورم می‌کنند که این امر موجب کنده شدن<sup>۱</sup> و یا جدا شدن زنجیره‌های نشاسته از مناطق کریستالی و در نتیجه ناپدید شدن این مناطق می‌شوند.

راتنایاک و جکسون (Ratnayake & Jackson, 2007) هفت نوع نشاسته مختلف (ذرت معمولی، ذرت آمیلوز بالا، ذرت مومی، برنج، سیب زمینی و تاپیوکا) را در دماهای ۳۵ تا ۸۵ درجهٔ سلسیوس (به فاصله دمایی ۵ درجهٔ سلسیوس) قرار دادند و سپس به بررسی تغییرات کریستالی آن‌ها پرداختند. این محققان نشان دادند که با

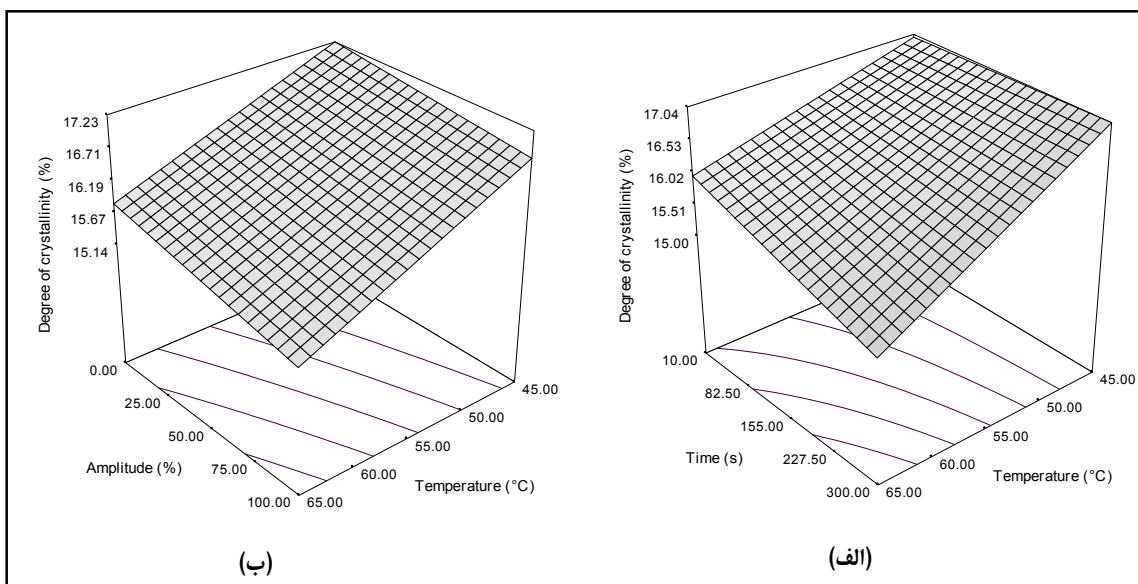
و اندازه آن‌ها معمولاً در محدوده ۳ الی ۸ میکرومتر قرار دارد (Bao & Bergman, 2004)، که بسته به ژنوتیپ‌های برنج، متفاوت است. سودهی و سینگ (Singh Sodhi & Singh, 2003) گزارش دادند که واریته‌های برنج که در هند می‌رویند، دارای گرانول‌هایی با اندازه ۲/۴ تا ۵/۴ میکرومتر هستند. متوسط اندازه گرانول‌های نشاسته برنج مومی، بین ۴/۹ تا ۵/۷ میکرومتر متغیر است (Qi et al., 2003).

در شکل‌های ۳-ب و ۳-ج مشاهده می‌شود که گرانول‌های نشاسته با افزایش همزمان دامنه فراصوت، دما و زمان فرآیند (نسبت به نمونه شاهد) به تدریج شکل طبیعی و چند ضلعی خود را از دست دادند. زو و همکاران (Zuo et al., 2009) نیز می‌گویند که با افزایش دما (خصوصاً در بالای دمای ژلاتینه شدن)، شکل گرانول‌های نشاسته‌های برنج مومی از حالت طبیعی خود خارج می‌شود و به حالت خمیری در می‌آید.

نشاسته گندم، درجه کریستالی آن کاهش می‌یابد به طوری که در دمای بالاتر از ۵۹ درجه سلسیوس، منطقه کریستالی به طور کامل ناپدید می‌شود.

### اثر متغیرهای مستقل بر ویژگی‌های میکروسکوپی نشاسته

تصاویر مربوط به میکروسکوپ نوری و میکروسکوپ الکترونی روبشی نمونه‌های غیرفراصوت داده شده با کم‌ترین حرارت و زمان فرآیند (۱۰s-۰A-۴۵ درجه سلسیوس)، نشان می‌دهد که گرانول‌های نشاسته دارای سطح صاف، شکل‌های چندوجهی<sup>۱</sup> و اندازه‌های متنوع<sup>۲</sup> هستند (شکل ۳-الف) و این مطلب نشان‌دهنده مرفولوژی ویژه گرانول‌های نشاسته برنج است (Bao & Bergman, 2004; Koroteeva et al., 2007; Zuo et al., 2009). اندازه گرانول‌ها نشاسته‌های شاهد (۱۰s-۰A-۴۵ درجه سلسیوس) کم‌تر از ۲۰ میکرومتر شده است (شکل ۳-الف). گرانول‌های نشاسته برنج کوچک‌ترین گرانول‌های شناخته شده موجود در دانه‌های غلات هستند



شکل ۲- اثر الف) دما و مدت زمان (۵۰ درصد دامنه فراصوت) و ب) دما و دامنه فراصوت (۱۵۵ ثانیه = مدت زمان) بر درجه کریستالی نشاسته برنج با استفاده از منحنی روبه (سطح) پاسخ

می‌شود (Huang *et al.*, 2007). همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، در نشاسته برنج نیز با افزایش صوت‌دهی (خصوصاً در دماهای بالاتر) میزان سوراخ‌ها و شکاف‌ها در سطح گرانول افزایش یافت به طوری که در دماهای بالا (۶۵ درجه سلسیوس) افزایش صوت باعث پاره شدن گرانول‌ها شد.

محققین گزارش دادند که اعمال فراصوت در دماهای پایین (حتی زمان‌های بالا مثل ۳۰ دقیقه) در مرفولوژی (شکل و اندازه) گرانول‌ها تغییری به وجود نمی‌آورد ولی در دماهای بالا (خصوصاً دماهای بالاتر از ژلاتینه شدن)، فراصوت باعث تغییرات شدیدتر در سوسپانسیون نشاسته می‌شود (Luo *et al.*, 2008; Zuo *et al.*, 2009). در این تحقیق نیز معلوم شد که با اعمال فراصوت در دماهای پایین (بر خلاف دماهای بالا) تغییرات شدید در مرفولوژی و خصوصیات نشاسته (مثل درجه کریستالی) ایجاد نمی‌شود (شکل‌های ۲ و ۳).

هوبر و Bemiller (2000) با مطالعه روی معماری و قابلیت نفوذ گرانول‌های نشاسته ذرت نشان دادند که سوراخ‌های موجود در سطح گرانول، هیلم<sup>۴</sup> گرانول و کانال‌های مرتبط‌کننده، از ویژگی‌های معماری تأثیرگذار بر واکنش‌های آن محسوب می‌شوند.

### نتیجه‌گیری

در این پژوهش معلوم گردید که سوراخ‌های موجود در سطح گرانول پس از اعمال فراصوت از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. سوراخ‌ها و کانال‌های روی گرانول، احتمالاً با اجازه نفوذ راحت‌تر به آب و واکنش‌گرها، باعث افزایش قسمت‌های آمورف (کاهش قسمت‌های کریستالی) و در نتیجه افزایش سرعت واکنش‌های شیمیایی می‌شوند.

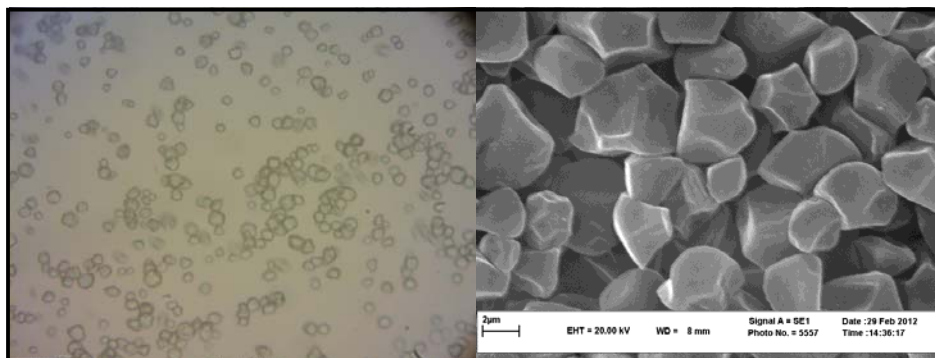
اعمال فراصوت از طریق پدیده حفره‌زایی باعث گسستگی و تخریب مکانیکی گرانول‌های نشاسته می‌شود (Zuo *et al.*, 2009). همان‌طور که مشاهده می‌شود، اعمال فراصوت در دماها و مدت زمان‌های بالاتر تعداد سوراخ‌ها و پارگی‌ها در سطح گرانول‌ها بیش‌تر می‌شود (شکل ۳-ب و ۳-ج). محققان بیان کردند که در پدیده حفره‌زایی، حباب‌های تحت فشار می‌ترکند و لایه‌های مایع اطراف آن به سرعت جابه‌جا می‌شوند و نیروی برشی حاصل باعث شکسته شدن زنجیره‌های پلیمری و تخریب گرانول‌ها می‌شود. در اثر متلاشی شدن حباب‌های حاصل از حفره‌زایی، مولکول‌های آب نیز به صورت جزئی تجزیه و به رادیکال‌های OH و اتم‌های هیدروژن تبدیل می‌شوند. بعضی از این رادیکال‌ها، از حباب‌ها به مایع اطراف نفوذ می‌کنند و با مولکول‌های محلول واکنش می‌دهند لذا باعث تخریب<sup>۱</sup> زنجیره‌های پلیمری و ایجاد سوراخ در سطح گرانول می‌شوند (Jambrak *et al.*, 2010; Luo *et al.*, 2008; Zuo *et al.*, 2009). با تورم گرانول‌ها، سختی<sup>۲</sup> آن‌ها کاهش می‌یابد و در نتیجه نسبت به شکست و تخریب بر اثر فراصوت حساس‌تر خواهند شد (Zuo *et al.*, 2009) از این رو می‌توان انتظار داشت که قدرت فراصوت در تخریب گرانول‌های نشاسته در دماهای بالاتر و مدت زمان‌های طولانی‌تر، روند صعودی به خود گیرد (شکل ۳-ب و ۳-ج).

صلیت مالتز<sup>۳</sup> (صلیب پلاریزاسیون) در گرانول‌ها، معرف سازمان کریستالی است. مطالعات محققان نشان می‌دهد که گرانول‌های هیدروکسی پروپیل شده نشاسته ذرت، سطح صاف دارند و صلیت مالتز در آن‌ها کاملاً مشخص است ولی با افزایش مدت زمان فراصوت‌دهی و در نتیجه افزایش درجه هیدرولیز، سطح گرانول سوراخ و صلیت مالتز به تدریج محو (ولی هنوز قابل تشخیص)

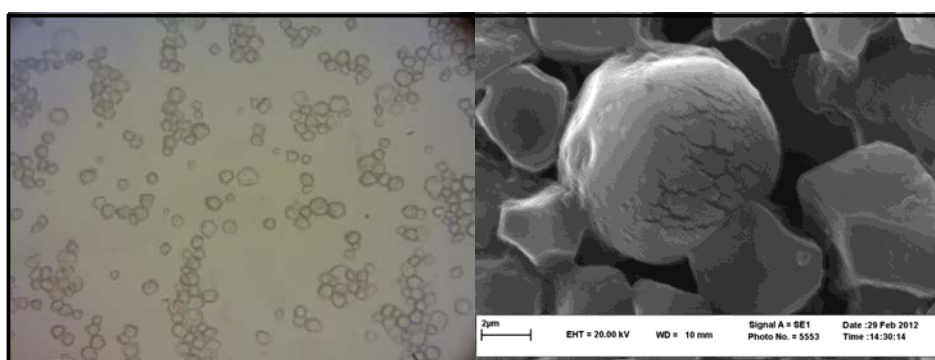
1- Degradation  
3- Maltose Crosses

2- Rigidity  
4- Hilum

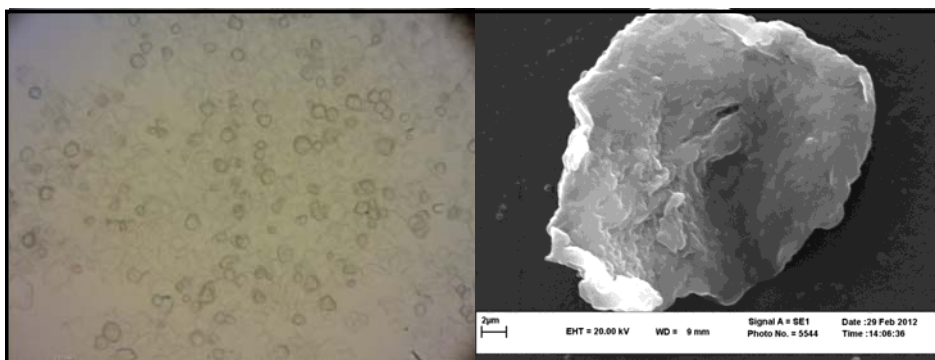




(الف)



(ب)



(ج)

شکل ۳- تصاویر میکروسکوپ نوری (ستون سمت راست) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (ستون سمت چپ) در شرایط  
 الف) ۰ آمپر - ۱۰ ثانیه - ۴۵ درجه سلسیوس، ب) ۵۰ آمپر - ۱۵۰ ثانیه - ۵۵ درجه سلسیوس و ج) ۱۰۰ آمپر - ۳۰۰ ثانیه - ۶۵  
 درجه سلسیوس

### مراجع

Bao, J. and Bergman, C. J. 2004. The Functionality of Rice Starch. In: Eliasson, A. C. (Ed.) Starch In Food: Structure, Function and Applications. Woodhead Pub.

- Cooke, D. and Gidley, M. J. 1992. Loss of crystalline and molecular order during starch gelatinisation: origin of the enthalpic transition. *Carbohydr. Res.* 227(6): 103-112.
- Czechowska-Biskup, R., Rokita, B., Lotfy, S., Ulanski, P. and Rosiak, J. M. 2005. Degradation of chitosan and starch by 360-kHz ultrasound. *Carbohydr. Polym.* 60(2): 175-184.
- Donald, A. M. 2004. Understanding Starch Structure and Functionality. In: Eliasson, A. C. (Ed.) *Starch in Food: Structure, Function and Applications*. Woodhead Pub.
- Donovan, J. W. 1979. Phase transitions of the starch–water system. *Biopolymers.* 18(2): 263-275.
- Eliasson, A. C. and Gudmundsson, M. 2006. Starch: Physicochemical and Functional Aspects. In: Eliasson, A. C. (Ed.) *Carbohydrates in Food*. CRC/Taylor & Francis Press.
- Freudig, B., Tesch, S. and Schubert, H. 2003. Production of emulsions in high-pressure homogenizers – Part II: influence of cavitation on droplet breakup. *Eng. Life Sci.* 3(6): 266-270.
- Gallant, D., Degrois, M., Sterling, C. and Guilbot, A. 1972. Microscopic effects of ultrasound on the structure of potato starch preliminary study. *Starch - Stärke.* 24(4): 116-123.
- Herceg IL, J. A., Subaric, D, Brncic, M, Brncic, S. R., Badanjak, M., Tripalo, B., Jezek, D., Novotni, D. and Herceg, Z. 2010. Texture and pasting properties of ultrasonically treated corn starch. *Czech J. Food Sci.* 28, 83-93.
- Huang, Q., Li, L. and Fu, X. 2007. Ultrasound effects on the structure and chemical reactivity of cornstarch granules. *Starch - Stärke.* 59(8): 371-378.
- Huber, K. C. and BeMiller, J. N. 2000. Channels of maize and sorghum starch granules. *Carbohydr. Polym.* 41(3): 269-276.
- Jambrak, A. R., Herceg, Z., Subaric, D., Babic, J., Brncic, M., Brncic, S. R., Bosiljkov, T., Cvek, D., Tripalo, B. and Gelo, J. 2010. Ultrasound effect on physical properties of corn starch. *Carbohydr. Polym.* 79(1): 91-100.
- Jane, J. 2004. Starch: Structures and Properties. In: Tomasik, P. (Ed.) *Chemical and Functional Properties of Food Saccharides*. CRC Press.
- Koroteeva, D. A., Kiseleva, V. I., Sriroth, K., Piyachomkwan, K., Bertoft, E., Yuryev, P. V. and Yuryev, V. P. 2007. Structural and thermodynamic properties of rice starches with different genetic background Part 1. Differentiation of amylopectin and amylose defects. *Int. J. Biol. Macromol.* 41(4): 391-403.
- Luo, Z., Fu, X., He, X., Luo, F., Gao, Q. and Yu, S. 2008. Effect of ultrasonic treatment on the physicochemical properties of maize starches differing in amylose content. *Starch - Stärke.* 60(11): 646-653.
- Preiss, J. 2006. Starch: Physicochemical and Functional Aspects. In: Eliasson, A. C. (Ed.) *Carbohydrates in Food*. CRC/Taylor & Francis Press.
- Qi, X., Tester, R. F., Snape, C. E. and Ansell, R. 2003. Molecular basis of the gelatinisation and swelling characteristics of waxy rice starches grown in the same location during the same season. *J. Cereal Sci.* 37(3): 363-376.

- Ratnayake, W. S. and Jackson, D. S. 2007. A new insight into the gelatinization process of native starches. *Carbohydr. Polym.* 67(4): 511-529.
- Singh Sodhi, N. and Singh, N. 2003. Morphological, thermal and rheological properties of starches separated from rice cultivars grown in India. *Food Chem.* 80(1): 99-108.
- Torley, P. J. and Bhandari, B. R. 2007. *Ultrasound in Food Processing and Preservation*. In: Rahman, S. (Ed.) *Handbook of Food Preservation*. CRC Press.
- Zuo, J. Y., Knoerzer, K., Mawson, R., Kentish, S. and Ashokkumar, M. 2009. The pasting properties of sonicated waxy rice starch suspensions. *Ultrason. Sonochem.* 16(4): 462-468.

## **Effect of Ultrasound and Temperature on Crystallinity and Microscopic Properties of Rice Starch Granules Suspended in Water Using Response Surface Methodology (RSM)**

**R. Farahmandfar<sup>\*</sup>, S. A. Mortazavi, R. Kadkhodayi, F. Tabatabaie-Yazdi, A. Kouchaki and M. Hosseini**

\* Corresponding Author: Assistant Professor., Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Mazandaran, P. O. Box: 578, Iran. Email: reza1farahmand@yahoo.com

Received: 8 September 2012, Accepted: 4 May 2013

Starch is a major source of energy in the human diet. Physical, chemical, and enzymatic modifications provide changes that are not available or controllable in commercially available native starches. The effect of one physical treatment, ultrasound, was investigated on the crystallinity and microscopic properties of rice starch. In this research, rice starch dispersions (8%) were sonicated and scanning electron microscopy and light microscopy were used to study the morphological changes to the rice starch granules. The dried samples were analyzed using x-ray diffraction to evaluate the crystalline fraction of the starches. Response surface methodology was used to evaluate the effects of temperature (45-65 °C), time (10-300 s), and amplitude (0%-100%) on the crystallinity and microscopic properties of rice starch granules. The results showed that ultrasound did not change the x-ray diffraction pattern (A type) and that crystallinity decreased as the temperature and time increased. Higher temperatures and amplitudes decreased the degree of crystallinity in rice starch. When temperature, time, and amplitude increased simultaneously, some granules started to lose their polyhedral shapes, and pores and fissures were detected on the surface of the granules.

**Keywords:** Degree of crystallinity, Micrographs, Rice, Starch, Ultrasound