

بهینه‌سازی شرایط تولید (درصد سرکه و نمک و دمای نگهداری) فلفل هالوپینو تخمیری با سویه تجاری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (LA5)

فاطمه جلیلی^۱، عباس عابدفر^{۲*}، شادی حدادی‌زاده^۳، ندا تنهایی^۲

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

^{۲*} استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

^۳ دانش آموخته کارشناسی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

تاریخ ارسال: ۱۴۰۴/۰۹/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۲۱

چکیده

در سال‌های اخیر توجه به غذاهای عملکردی حاوی پروبیوتیک‌ها به‌عنوان راهکاری برای بهبود سلامت به‌طور چشمگیری افزایش یافته است. با این حال، حفظ زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (LA5) در محصولات اسیدی و شور مانند ترشی فلفل هالوپینو تحت تأثیر عوامل کلیدی همچون غلظت نمک، درصد سرکه و دمای نگهداری همواره چالشی علمی مهم محسوب می‌شود. تأثیر هر یک از پارامترهای متغیر به‌طور مستقیم یا از طریق اثر متقابل، در زنده‌مانی LA5 و ویژگی‌های کیفی مانند تغییرات رنگ محصول و پذیرش حسی فلفل ترشی تخمیری نقش معنی‌داری ($P < 0.05$) دارند. غلظت‌های بالای نمک (بیش از ۲/۵ درصد) و pH پایین ناشی از اسیدیته سرکه به‌طور چشمگیری سبب کاهش بقای سویه پروبیوتیک LA5 می‌شود. در مقابل، نگهداری در دماهای پایین (۴ تا ۱۰ درجه سلسیوس) موجب افزایش ماندگاری سلولی می‌گردد و امکان بقای LA5 را برای مدت طولانی‌تری فراهم می‌آورد. نتایج حاصل از این پژوهش بر پایه مدل رگرسیونی درجه دوم نشان داد که پارامتر متغیر دما و مقدار سرکه بیشترین تأثیر را بر زنده‌مانی و کیفیت فلفل هالوپینو دارند در حالی که نمک با عملیات ثانویه اثر تعدیل در فرایند رسانیدن تخمیر نقش آفرینی می‌کند. کنترل و ارزیابی اثرهای متقابل این متغیرها طی فرآوری فلفل هالوپینو پروبیوتیک به منظور تولید محصول با کیفیت بالا ضروری به نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: بهینه‌سازی فرایند، زنده‌مانی گونه پروبیوتیک تجاری، فلفل هالوپینو تخمیری، مدل رگرسیونی

مقدمه

فلفل وجود دارد (Alberto *et al.*, 2013). تقاضای محصولات

تخمیر شده در سال‌های اخیر افزایش قابل توجهی داشته است، زیرا مصرف کنندگان درک می‌کنند که تخمیر نقشی مهم و سودمند در تغذیه انسان و ایمنی تغذیه‌ای دارد (Spyropoulou *et al.*, 2001). علاوه بر اثرهای مفید محصولات تخمیرشده، حضور پروبیوتیک‌ها در محصولات غذایی تخمیری، ضمن تولید محصولی فراسودمند راهکاری هستند برای بهبود سلامت مصرف کنندگان. در سال‌های اخیر، توجه به غذاهای عملکردی حاوی پروبیوتیک‌ها

فلفل (*Capsicum spp.*) متعلق به خانواده Solanaceae و اغلب به صورت بوته یا زیرگیاه وجود دارد ولی انواع بالارونده آن نیز موجودند. Capsicum که با عنوان "پادشاه ادویه" شناخته می‌شود، حاوی حدود ۳۰۰۰ گونه است و اغلب برای ایجاد عطر و طعم در غذا به‌کار می‌رود (Vidyyartie & Tripathi, 2002; Stern, 2000). فلفل‌ها به صورت بالغ یا نابالغ و به صورت خام و کنسرو شده یا ترشی مصرف می‌شوند و اصولاً اطلاعات اندک، در خصوص تخمیر

به‌عنوان راهکاری برای بهبود سلامت به‌طور چشمگیری افزایش یافته است. تخمیر فلفل ترشی هالوپینو با بقای جمعیت میکروبی به ویژه باکتری‌های اسید لاکتیک و نیز تغییرات بیوشیمیایی مانند تولید اسید لاکتیک و اسید استیک و متعاقباً بهبود ویژگی‌های حسی محصول ارتباط دارد. از آنجا که اثر بخشی غذاهای پروبیوتیک، مبتنی بر بقای میکروارگانیسم‌های موجود و سپس لانه‌گزینی آنها در دستگاه گوارش است لذا زنده‌مانی این میکروارگانیسم‌های سودمند در ماده غذایی طی تولید و نگهداری آن نیز از اهمیت زیادی دارد (Cai et al., 2023). عموماً میزان زنده‌مانی و جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک در فلفل ترشی تخمیری، در مقایسه با محصولات پروبیوتیک بر پایه شیر مانند ماست‌های تخمیری غنی از پروتئین از جمله ماست یونانی، به واسطه ساختار درونی و خصوصیات تغذیه‌ای آن بهتر حفظ می‌شود (Panda et al., 2018). رویکرد جدید صنعت غذا در راستای تولید فراورده‌های تخمیری غیر لبنی با به‌کارگیری میکروارگانیسم‌های مفید مانند باکتری‌های پروبیوتیک، سبب جلب توجه بیشتر محصولات فراسودمند و فراورده‌های فاقد کلسترول نظیر فلفل ترشی هالوپینو تخمیری شده است. در خصوص تلقیح باکتری اسید لاکتیک تجاری به بستر تخمیری فلفل هالوپینو و بررسی تاثیر غلظت نمک، درصد سرکه و دمای نگهداری بر زنده‌مانی این میکروارگانیسم در فراورده‌های تخمیری غیر لبنی تا کنون به ندرت پژوهش‌هایی صورت گرفته است، در حالیکه در دیگر محصولات با پایه گیاهی پژوهش‌های متعددی در کشور شده است. برای مثال، عابدفر و همکاران (Abedfar et al 2016) تاثیر درصد نمک، pH و دمای نگهداری را بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک روی بستر تخمیری گیاهی مانند زیتون و بررسی ویژگی‌های کیفی محصول به روش سطح پاسخ بررسی کرده‌اند و به این نتیجه رسیده‌اند که استفاده توأم از اسید و نمک در فرآوری زیتون تخمیری به عنوان یک هاردل شناخته می‌شود و نقش مهمی در سلامت میکروبی این محصول و تولید فراورده‌ای با کیفیت دارد. در

باب زنده‌مانی پروبیوتیک در محصول فلفل ترشی، نتیجه پژوهش‌های کای و همکاران (Cai et al., 2023) نشان می‌دهد تلقیح سوبه‌های لاکتیکی در فلفل تخمیری موجب افزایش فعالیت متابولیک و پایداری جمعیت می‌شود و شرایط اسیدی ملایم، بقای باکتری را بهبود می‌بخشد. علاوه بر این، افزایش دما به همراه افزایش نمک به شکل معنی‌داری باعث حفظ زنده‌مانی LA5 می‌گردد و الگوهای بقا با افزایش دما یا درصد سرکه قابل پیش‌بینی هستند. علاوه بر این، گزارش شده است لاکتوباسیل‌ها در مواجهه با نمک، اسیدیته و دمای متغیر از مسیرهای ژنتیکی مشخصی برای حفظ بقا بهره می‌گیرند که می‌تواند توجیه‌کننده توان پایداری مشاهده‌شده در LA5 در این مطالعه باشد (De Bellis et al., 2010). آلبرتو و همکاران (Alberto et al (2013) بستر تخمیر گیاهی مانند فلفل هالوپینو را توسط لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لئوکونستوک مزترئوئیدیس یا پدیوکوکوس پنتوزاسئوس را بررسی کردند و نشان دادند کاهش دما سبب افزایش بقای این باکتری‌ها می‌شود. از طرفی، حداقل pH قابل قبول ۳ اندازه‌گیری شد و این باکتری‌ها با تولید اسید احتمال خراب شدن محصول را کاهش می‌دهند. فلفل تخمیر شده حاصل نیز از نظر طعم و ویژگی‌های حسی مورد قبول واقع شدند. پیاسکا=هوزویاک و همکاران (Piasecka-Jóźwiak et al (2013) گزارش کردند کشت‌های آغازگر مناسب برای فرآوری فلفل شیرین لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس برویس و پدیوکوکوس پنتوزاسئوس هستند. Vegas et al (2018) وگاس و همکاران با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM) نشان دادند که غلظت بهینه نمک (۶/۲۵ درصد) و گلوکز (۱/۷۷ درصد) سبب بیشینه شدن سرعت اسیدیته‌زایی در فرآیند تخمیر فلفل هالوپینو می‌گردد. گونزالس-کیهانو و همکاران (González-Quijano et al (2014) در تخمیر هالوپینو نشان دادند که غلظت نمک عامل کلیدی در بقای باکتری‌های اسیدلاکتیک است و تغییرات آن می‌تواند سرعت کاهش یا پایداری جمعیت‌شان را تعیین کند.

کشت مغذی اختصاصی MRS broth تلقیح گردید و در طول یک شب با دمای ۳۷ درجه سلسیوس به منظور قرارگیری در فاز لگاریتمی گرمخانه‌گذاری شد. برای تهیه آب نمک نیز از آب مقطر به همراه کلرید سدیم (۲ درصد وزنی وزنی) استفاده گردید. نمونه سرکه تجاری با مقادیر معین متناسب با تیمارهای چیدمان شده به همراه آب نمک مذکور درون لوله‌های فالکون با یک نسبت حجمی، اتوکلاو گردید و فلفل -ها با یک نسبت وزنی ثابت (برای تمامی تیمارها) در شرایط استریل به آنها افزوده شد.

تهیه سوسپانسیون باکتری‌های پروبیوتیک برای افزودن به فلفل هالوپینو تخمیری

پس از فعال‌سازی سویه‌های پروبیوتیک (LA5) در محیط کشت MRS Broth، باکتری‌های مذکور با جمعیت نهایی 10^8 cfu/g (در مقایسه با لوله ۰/۵ مک فارلند) برای مرحله بعد به کارگرفته شدند. ابتدا سلول‌های تازه میکروبی، با سانتریفیوژ زیست‌توده تولیدی در ۵۰۰g (FIRLABO-SW14، ایتالیا)، ۴ درجه سلسیوس و به مدت ۱۵ دقیقه از محیط کشت جدا گردید (Dalbello et al., 2007). سویه‌های پروبیوتیک فعال با تعداد 10^8 در هر گرم از فلفل هالوپینو در یک حجم مشخص آب نمک و سرکه به نمونه‌های فلفل حاصل از اعمال متغیرهای مستقل مورد بررسی شامل دمای نگهداری (۴ تا ۳۸ °C)، نمک (۱/۵ تا ۵/۵ درصد) و سرکه (۳ تا ۱۰ درصد)، افزوده شد و به مدت دو هفته در شرایط مذکور نگهداری گردید.

بررسی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک

به منظور شمارش سویه لاکتیکی تجاری پروبیوتیک مورد استفاده در این پژوهش، از کشت سطحی رقت‌های متوالی نمونه در محیط کشت MRS Agar و گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ °C به مدت ۴۸ ساعت استفاده گردید (Lavermicocca et al., 2005).

روش سطح پاسخ (RSM)، مجموعه‌ای است از روش‌های ریاضی و تجربی مفید برای بررسی تاثیر چند متغیر بر عملکرد و کیفیت محصول یا فرایند تحت بررسی با هدف مدل‌سازی و بهینه‌یابی فرایندهای پیچیده. این روش، نه تنها تعامل بین متغیرهای مستقل را ارزیابی می‌کند بلکه برای تعیین اثرهای متقابل آنها به منظور کاهش تعداد آزمون و هزینه‌های کلی نیز کاملاً کارآمد است (Ngoc et al., 2014). با توجه به اینکه تا کنون اثر همزمان عوامل موثر در فرآوری فلفل هالوپینو تخمیری و اثرهای متقابل این عوامل در کشور بررسی نشده است این پژوهش با هدف بهینه‌سازی شرایط تولید (درصد سرکه، نمک و دمای نگهداری) فلفل هالوپینو تخمیری با سویه تجاری پروبیوتیک LA5 و بررسی خصوصیات کیفی محصول تولیدی به اجرا در آمد.

مواد و روش‌ها

فلفل هالوپینو و سرکه مورد استفاده در این پژوهش از یک برند تجاری معتبر و دارای ویژگی‌های منطبق با استاندارد ملی ایران (ISIRI 9447, 2022) تهیه گردید. سرم فیزیولوژیک (۰/۸۵ درصد کلرید سدیم - وزنی حجمی) برای رقیق‌سازی و سویه تجاری لاکتیکی فعال شده لاکتوباسیلوس / اسیدوفیلوس (LA5) پروبیوتیک استفاده شده در این مطالعه بصورت کشت DVS استفاده گردید. محیط‌های کشت مصرفی شامل MRS (Broth و Agar) و Nutrient (Broth و Agar) و مواد شیمیایی از شرکت‌های ایبرسکو (زیست کاوش ایرانیان) و مرک آلمان تامین شدند.

فعال‌سازی پالیده کشت فعال سویه تجاری (LA5) و

آماده‌سازی آب نمک و سرکه

کشت DVS سویه لاکتیکی تجاری پروبیوتیک (LA5) هر چند خود پیش‌فعال است ولی برای احتیاط از عملکرد صحیح به احیای سویه غالب مذکور نگهداری شده در شرایط کوتاه مدت پرداخته شد. نخست، کشت ذخیره بعد از خارج کردن از فریزر ۲۰- درجه سلسیوس در ۱۰ میلی لیتر محیط

ارزیابی ویژگی‌های رنگی محصول تولیدی

تجزیه و تحلیل رنگ سطوح خارجی فلفل ترشی از طریق تعیین سه شاخص L^* ، a^* و b^* صورت پذیرفت. شاخص L^* معرف میزان روشنی نمونه است و دامنه آن از صفر (سیاه خالص) تا ۱۰۰ (سفید خالص) تغییر می‌کند. شاخص a^* میزان نزدیکی رنگ نمونه به رنگ‌های سبز و قرمز را نشان می‌دهد و دامنه آن از -۱۲۰ (سبز خالص) تا ۱۲۰ (قرمز خالص) متغیر است. شاخص b^* نیز میزان نزدیکی رنگ نمونه به رنگ‌های آبی و زرد را نشان می‌دهد و دامنه آن از -۱۲۰ (آبی خالص) تا ۱۲۰ (زرد خالص) تغییر می‌کند. برای تعیین این شاخص‌ها، نمونه‌هایی از سطح فلفل ترشی تصویر برداری شد، و این تصاویر در اختیار نرم افزار Image J (نسخه ۲۰۱۳، ۱/۴۵) قرار گرفت. با فعال کردن فضای Lab در بخش Plugins، شاخص‌های فوق محاسبه شد. بر اساس معادله (۱)، اختلاف کل رنگ (ΔE^*) نیز بر اساس شاخص‌های به دست آمده از نمونه شاهد (L_0^* ، a_0^* و b_0^*) تعیین گردید (Dadali et al., 2007).

معادله (۱)

$$\Delta E^* = \sqrt{(L_0^* - L^*)^2 + (a_0^* - a^*)^2 + (b_0^* - b^*)^2}$$

ارزیابی ویژگی‌های حسّی محصول تولیدی

ویژگی‌های حسّی نمونه‌های فلفل ترشی تولیدی از طریق آزمون چشایی بر اساس روش AOAC (2003) ارزیابی شد. نمونه‌های فلفل ترشی در اختیار ۱۰ ارزیاب آموزش دیده قرار گرفت و ویژگی نمونه‌های تولیدی برای تعیین میزان پذیرش کلی در قالب آزمون هدونیک ۵ نقطه‌ای (از ۵ برای بسیار خوب تا ۱ برای بسیار بد) تعیین گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز نتایج به روش سطح پاسخ بر اساس طرح مکعب مرکزی با ۳ تکرار در نقطه مرکزی با استفاده از نرم افزار Design Expert نسخه ۹ صورت گرفت. پاسخ‌های مورد بررسی (Y) شامل زنده‌مانی سویه‌های پروبیوتیک (LA5)،

ویژگی‌های رنگی و پذیرش کلی محصول تولیدی تحت تاثیر سه متغیر مستقل درصد نمک (X_1)، محتوی سرکه (X_2) و دمای نگهداری (X_3) در سه سطح ارزیابی گردید. بر اساس آنالیز مذکور برای هر یک از پاسخ‌های مورد ارزیابی نیز یک مدل چند متغیره (معادله ۲) برای پیش‌بینی اثر متغیرها تعریف شد که در آن β_0 ضریب ثابت، β_1 ، β_2 ، β_3 ضریب‌های خطی، β_{11} ، β_{22} ، β_{33} اثرهای مربعی و β_{12} ، β_{13} ، β_{23} اثرهای متقابل است (Myers & Montgomery, 2002).

معادله (۲)

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

نتایج و بحث

با بررسی نتایج حاصل از این پژوهش و ارزیابی تناسب تمامی مدل‌های پیشگویی شده در جدول تجزیه واریانس برای هر پاسخ وابسته مدلی تنظیم گردید و سپس به منظور ارزیابی صحت مدل‌های برازش یافته، آزمون ضعف برازش و مقادیر ضریب تغییرات، ضریب تبیین R^2 (adj) و P value تعیین شدند. آزمون F نیز برای تایید واریانس به دست آمده از مدل رگرسیونی با ارزیابی معنی‌داری آن نسبت به واریانس باقیمانده و نیز بررسی تعیین عدم برازش مدل (خطای مدل) ارزیابی شد (Atkinson & Boore, 2003). با توجه به اثر متقابل پارامترهای مستقل، مدل درجه دوم همبستگی برای پیشگویی رفتار پاسخ‌های وابسته تعیین شد. در مدل‌های گزینش شده نیز آزمون عدم برازش برای تمام صفات اندازه‌گیری شده، معنی‌دار ($P > 0.05$) نبود که در واقع، مبنای تفسیر مناسب روند تغییر داده‌ها توسط مدل‌های انتخابی است. مقادیر ضریب تبیین نیز نشانگر تغییرات توصیف شده توسط مدل به تغییرات کل و معیاری است از درجه تناسب مدل برازش یافته (Gharibzahedi et al., 2012).

تجزیه و تحلیل جدول ANOVA (جدول ۱) حاصل از تلقیح سویه پروبیوتیک (LA5) در پاسخ‌های مورد ارزیابی در

تخمیری با ضریب همبستگی $R^2=0.87$ و ضریب تغییرات ۹/۵۶ به دست آمد.

معادله (3)

$$\text{LA5 culture} = 5.95 + 0.61 X_1 - 0.060 X_2 + 0.71 X_3 - 0.16 X_1 X_2 + 0.24 X_1 X_3 + 0.39 X_2 X_3 + 0.84 X_1^2 + 0.21 X_2^2 + 0.86 X_3^2$$

در باب زنده‌مانی پروبیوتیک در محصول فلفل هالوپینو، یافته‌های این پژوهش با نتایج مطالعات Cai *et al* (2023) همسوست. آنان گزارش کردند که تلقیح سویه‌های لاکتیکی در فلفل هالوپینو تخمیری موجب افزایش فعالیت متابولیک و پایداری جمعیت می‌شود و شرایط اسیدی ملایم، بقای باکتری را بهبود می‌دهد. در مطالعات این محققان مشاهده می‌شود که افزایش دما به همراه افزایش نمک به شکل معنی‌داری باعث حفظ زنده‌مانی LA5 می‌شود و الگوهای بقا با افزایش دما یا درصد سرکه قابل پیش‌بینی هستند. علاوه بر این، گزارش شده است لاکتوباسیل‌ها در مواجهه با نمک، اسیدیته و دمای متغیر از مسیرهای ژنتیکی مشخصی برای حفظ بقا بهره می‌گیرند که می‌تواند توجیه‌کننده توان پایداری مشاهده‌شده در LA5 در این مطالعه باشد. این رفتار با نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش‌های دو بلیس و همکاران De Bellis *et al* (2010) و پاندا و همکاران Panda *et al* (2018) مبنی بر نقش سامانه‌های پاسخ به استرس، مانند تنظیم عملکرد غشا و تولید پروتئین‌های حفاظتی، همسوست. از لحاظ تأثیر دما، بر اساس گزارش USDA-ARS (2019)، دمای پایین (۴ درجه سلسیوس) بهترین شرایط برای پایداری LAB است. که نتایج این پژوهش نیز نشان داد که دما عامل بسیار تعیین‌کننده‌ای در بقای LA5 است. دو بلیس و همکاران De Bellis *et al* (2010) نیز مقاومت سویه‌های *L. plantarum* را در دمای پایین گزارش کردند، که این نتیجه با یافته‌های ما همسوست و نشان می‌دهد که دما نقش کلیدی در زنده‌مانی LA5 دارد و کاهش دما باعث افزایش دوام باکتری می‌شود.

این پژوهش نشان داد بیشترین تأثیر در پاسخ‌های وابسته به ترتیب تأثیر متغیر درصد سرکه و زمان نگهداری در سطح ۵ درصد معنی‌دار است و به عنوان تیمار مستقل تأثیرگذار در بین دیگر تیمارها تعیین گردید. لازم است گفته شود از نظر آماری، مدلی مناسب است که آزمون ضعف برآزش آن معنی‌دار نباشد و دارای بالاترین مقدار R^2 adjusted و R^2 predicted باشد.

پایش زنده‌مانی سویه پروبیوتیک *L. اسیدوفیلوس* (LA5)

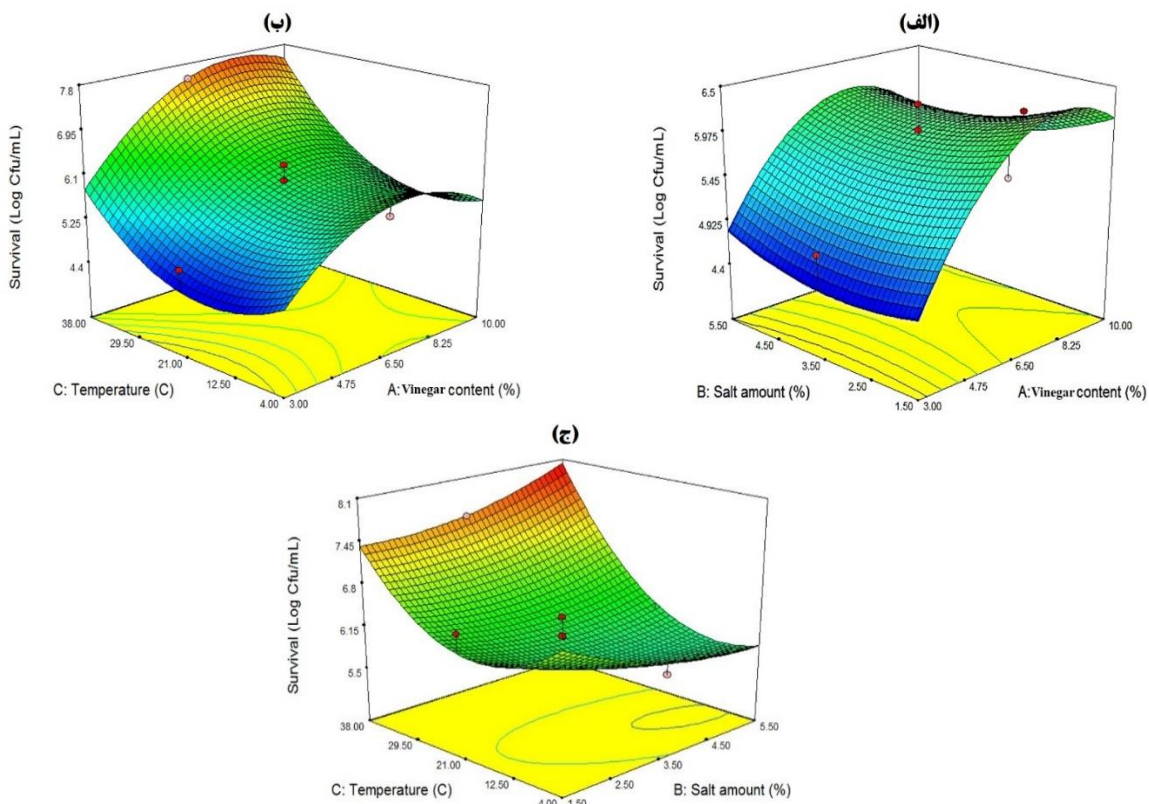
نتایج حاصل از زنده‌مانی *L. اسیدوفیلوس* (LA5) در فلفل هالوپینو تخمیری تحت تیمارهای درصد سرکه (X_1)، درصد نمک (X_2) و دمای نگهداری (X_3) در جدول (۱) آورده شده است. افزایش درصد سرکه و تأثیر دمای نگهداری به تنهایی بیشترین عملکرد را در پایش اولیه جمعیت باکتری تلقیحی در نمونه فلفل هالوپینو تخمیری دارند. در این میان، اثر متقابل افزایش درصد سرکه به همراه کاهش درصد نمک بر میزان زنده‌مانی باکتری مذکور در فلفل ترشی تخمیری محسوس است در حالی که در مدل درجه دوم و در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیست (شکل ۱-الف). افزایش درصد سرکه به همراه افزایش دمای نگهداری به‌ویژه در pH‌های بالاتر سبب افزایش جمعیت این باکتری در فلفل ترشی تخمیری شده است در حالی که این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نیست (شکل ۲-ب). این در حالی است که اثر متقابل افزایش دمای نگهداری با افزایش درصد نمک سبب حفظ زنده‌مانی باکتری مذکور گردید که شکل درجه دوم و در سطح ۵ درصد معنی‌دار است (شکل ۱-ج). بر اساس نتایج جدول (۱)، معنی‌دار بودن تأثیر درصد سرکه بر زنده‌مانی *L. اسیدوفیلوس* (LA5) با دمای نگهداری در سطح <0.05 P تایید گردید. مدل چند متغیره درجه دوم معادله (۳) برای پیش‌بینی اثر متغیرهای مستقل، اثر متقابل و اثر درجه دوم آن‌ها بر میزان پایش زنده‌مانی (LA5) در فلفل هالوپینو

جدول ۱- آنالیز ANOVA و تحلیل آزمون ضعف برازش مدل‌های چند متغیره برای هر پاسخ، تحت تاثیر تلقیح ل. اسیدوفیلوس (LA5)

Table 1-ANOVA analysis and goodness-of-fit assessment for multivariate models for each response, under the influence of inoculation with *Lactobacillus acidophilus* (LA5)

Source	DF	زنده‌مانی باکتری			شاخص رنگ			پذیرش کلی		
		Coefficient	Sum of squares	p-Value	Coefficient	Sum of squares	p-Value	Coefficient	Sum of squares	p-Value
Model	۹	۵/۹۵	۱۳/۷۲	+۰/۴۰۲	۷/۰۰	۱۲۷/۱۸	+۰/۰۳۷	۲/۸۹	۵/۵۹	+۰/۱۸۰
Linear										
X ₁	۱	+۰/۶۱	۳/۷۲	+۰/۰۱۶۰	۱/۸۵	۳۴/۲۳	+۰/۰۰۱۸	+۰/۳۳	۱/۰۹	+۰/۰۱۵۹
X ₂	۱	-۰/۰۶۰	+۰/۰۳۶	+۰/۷۵۵۲	+۰/۲۲	+۰/۴۸	+۰/۵۵۰۸	+۰/۱۹	+۰/۳۶	+۰/۱۰۳۸
X ₃	۱	+۰/۷۱	۵/۰۴	+۰/۰۰۸۳	۲/۴۱	۵۸/۰۸	+۰/۰۰۰۵	+۰/۶۱	۳/۷۲	+۰/۰۰۰۸
Quadratic										
X ₁₁	۱	-۰/۸۴	۱/۸۸	+۰/۰۵۶۳	-۱/۳۷	۴/۹۷	+۰/۰۸۹۴	-۰/۰۱۷	+۰/۰۰۷۸	+۰/۹۳۱۸
X ₂₂	۱	+۰/۲۱	+۰/۱۱	+۰/۵۸۷۴	۱/۰۸	۳/۰۶	+۰/۱۶۳۲	-۰/۰۱۷	+۰/۰۰۷۷	+۰/۹۳۱۷
X ₃₃	۱	+۰/۸۶	۱/۹۳	+۰/۰۵۴۱	۱/۶۳	۶/۹۸	+۰/۰۵۳۳	+۰/۱۸	+۰/۰۸۸۰	+۰/۳۸۰۵
Interaction										
X ₁₂	۱	-۰/۱۶	+۰/۲۱	+۰/۴۵۹۲	+۰/۱۴	+۰/۱۵	+۰/۷۳۶۰	+۰/۰۵۰	+۰/۰۲۰	+۰/۶۶۷۸
X ₁₃	۱	+۰/۲۴	+۰/۴۵	+۰/۲۹۱۷	۱/۵۶	۱۹/۵۳	+۰/۰۰۷۰	+۰/۱۷	+۰/۲۵	+۰/۱۶۵۵
X ₂₃	۱	+۰/۳۹	۱/۲۰	+۰/۱۰۸۳	+۰/۱۶	+۰/۲۱	+۰/۶۹۰۹	-۰/۰۰۷۵	+۰/۰۴۵	+۰/۵۲۴۰
Residual	۷		۲/۰۹			۱۳۵/۳۹			۰/۵۹	
Lack of fit	۵		۱/۹۸	+۰/۲۵۰۱		۶/۴۳	+۰/۵۴۵۶		۰/۵۹	+۰/۱۵۵۶
Pure error	۲		۲/۰۳			+۰/۸۴			+۰/۰۰۵۳	
Total	۱۶		۱۵/۷۴			۱۳۴/۴۵			۶/۱۸	
R ²		+۰/۸۷۱۳			+۰/۹۴۵۹			+۰/۹۰۴۵		
Adjusted- R ²		+۰/۶۷۸۱			+۰/۸۶۴۷			+۰/۷۶۱۲		
CV		۹/۵۶			۱۴/۰۶			۱۰/۵۰		

بهینه‌سازی شرایط تولید (درصد سرکه، نمک و دمای نگهداری) فلفل هالوپینو تخمیری با سویه تجاری...



شکل ۱ - زنده‌مانی *L. اسیدوفیلوس* در فلفل ترشی تخمیری تحت تاثیر درصد سرکه (x1)، درصد نمک (x2) و دمای نگهداری (x3)
 Image 1 - Survival of *Lactobacillus acidophilus* in fermented chili peppers under the influence of acetic acid percentage (x1), salt percentage (x2), and storage temperature (x3)

تنهایی بر اختلاف کلی رنگ در فلفل هالوپینو تخمیری در مدل درجه دوم در سطح ۵ درصد معنی‌دار است (شکل ۲-ب). اثر متقابل درصد نمک و دمای نگهداری نیز روی برآیند تغییرات کلی رنگ تاثیرگذار است ولی تغییرات مذکور در سطح $P > 0.05$ معنی‌دار نیست (شکل ۲-ج). بیشترین تغییرات رنگ در فلفل هالوپینو تخمیری نیز با افزایش دمای نگهداری و مقادیر میانه مصرف سرکه مشاهده گردید. بر این اساس، مدل چند متغیره درجه دوم معادله (۴) برای پیش‌بینی اثر متغیرهای مستقل، اثر متقابل و اثر درجه دوم آن‌ها بر اختلاف کلی رنگ فلفل هالوپینو تلقیح شده با باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (LA5) با ضریب همبستگی $R^2 = 0.94$ و ضریب تغییرات $14/06$ به دست آمد.

ارزیابی برآیند شاخص رنگی محصول

آنالیز واریانس تغییرات کلی رنگ سطح فلفل هالوپینو تخمیری با اندازه‌گیری شاخص‌های رنگی اصلی (L^* ، a^* و b^*) پس از تلقیح باکتری پروبیوتیک (LA5) در جدول (۱) نشان داده شده است. بر این اساس، تاثیر متغیر مستقل دمای نگهداری و مقادیر سرکه به تنهایی بر اختلاف کلی رنگ در فلفل هالوپینو تخمیری در سطح ۵ درصد معنی‌دار است. علاوه بر این، اثر متقابل افزایش محدود درصد سرکه با کاهش درصد نمک بر میزان شاخص‌های رنگی فلفل هالوپینو تخمیری تاثیر محسوسی دارد در حالی که به لحاظ آماری به شکل درجه دوم اختلاف معنی‌داری ندارد (شکل ۲-الف). تاثیر متغیر مستقل مقادیر سرکه استفاده شده به همراه دمای نگهداری نیز به

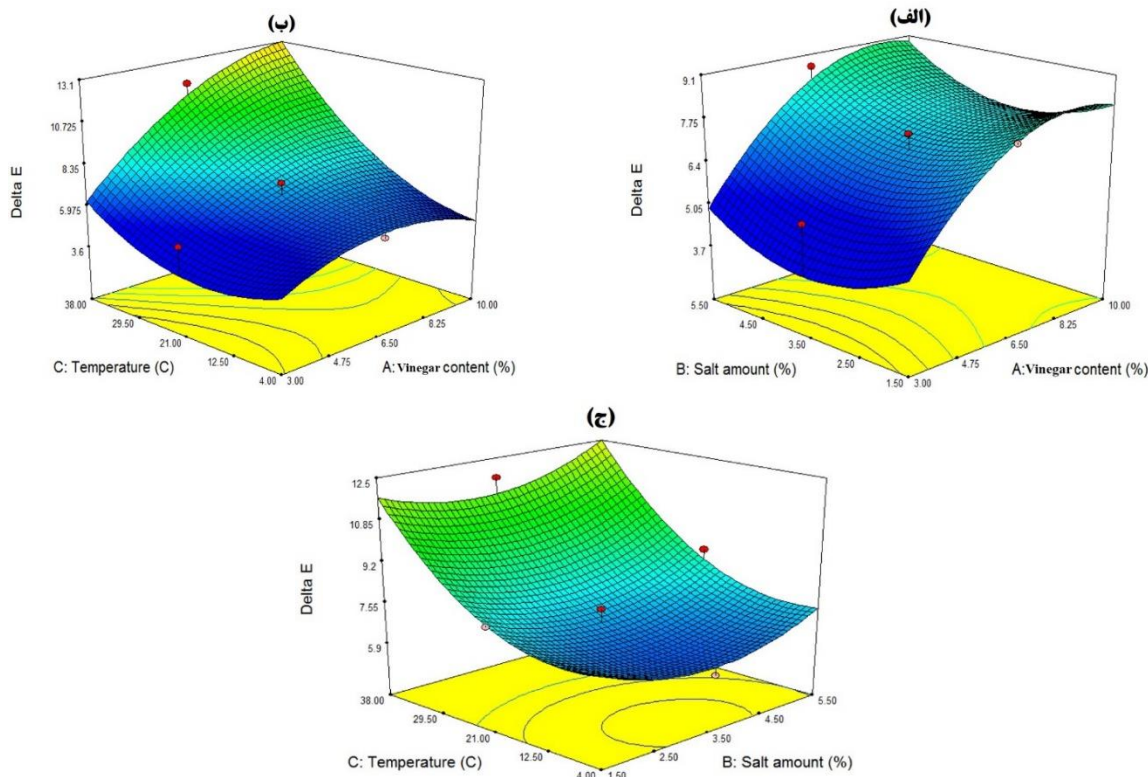
معادله (۴)

تابعی از سطح بهینه اسیدیته و نمک دانسته‌اند. برابر مطالعات گونزالس- کیهانو و همکاران (González-Quijano *et al* 2014) نمک و مقدار سرکه نقش کلیدی در حفظ جمعیت LAB و رنگ نهایی محصول تخمیری دارند. در مطالعات وگاس و همکاران (Vegas *et al* 2018) غلظت بهینه نمک باعث بیشترین سرعت اسیدیته‌زایی و تغییر شاخص روشنایی نمونه نهایی شده است. در مطالعات ما نیز نمک یکی از عوامل تأثیرگذار بر شاخص‌های تخمیر دانسته می‌شود و تعامل نمک با دما و اثر قابل توجه نمک بر زنده‌مانی LA5 و شاخص روشنایی تأیید می‌شود. مقاومت گزارش شده LA5 در غلظت‌های بالاتر نمک نیز با نتایج مطالعات نونز و همکاران (Nuñez *et al* 2023) قابل مقایسه است که تحمل LAB تا ۵ نمک را گزارش کرده‌اند.

$$\text{LA5 culture } * \Delta E =$$

$$7.00 + 1.85 X_1 + 0.22 X_2 + 2.41 X_3 + 0.14 X_1 X_2 + 1.56 X_1 X_3 + 0.16 X_2 X_3 - 1.37 X_1^2 + 1.08 X_2^2 + 1.63 X_3^2$$

تحلیل‌ها نشان می‌دهد دمای نگهداری و درصد سرکه مهم‌ترین عامل مؤثر بر افزایش تغییرات رنگ است و افزایش دما خصوصاً بیشترین میزان تغییر رنگ را ایجاد کرده است. این موضوع با گزارش کای و همکاران (Cai *et al* 2023) مبنی بر تشدید تخریب رنگدانه‌های فلفل در دمای بالاتر همخوانی دارد. اثر متقابل سرکه و دما در این مطالعه هنگامی معنی‌دار شده است که درصد سرکه در محدوده‌های میانی قرار دارد، یافته‌ای که با الگوی مشاهده شده در پژوهش وگاس و همکاران (Vegas *et al* 2018) همخوانی دارد که پایداری رنگ را



شکل ۲- اختلاف کلی رنگ فلفل هالوپینو بعد از تلقیح ل. /اسیدوفیلوس در فلفل ترشی تخمیری تحت تاثیر درصد سرکه (x1)، درصد نمک (x2) و دمای نگهداری (x3).

Image 2- General color variation of jalapeño peppers after inoculation with *Lactobacillus acidophilus* in fermented chili peppers under the influence of acetic acid percentage (x1), salt percentage (x2), and storage temperature (x3).

بررسی پذیرش کلی فلفل ترشی تخمیری

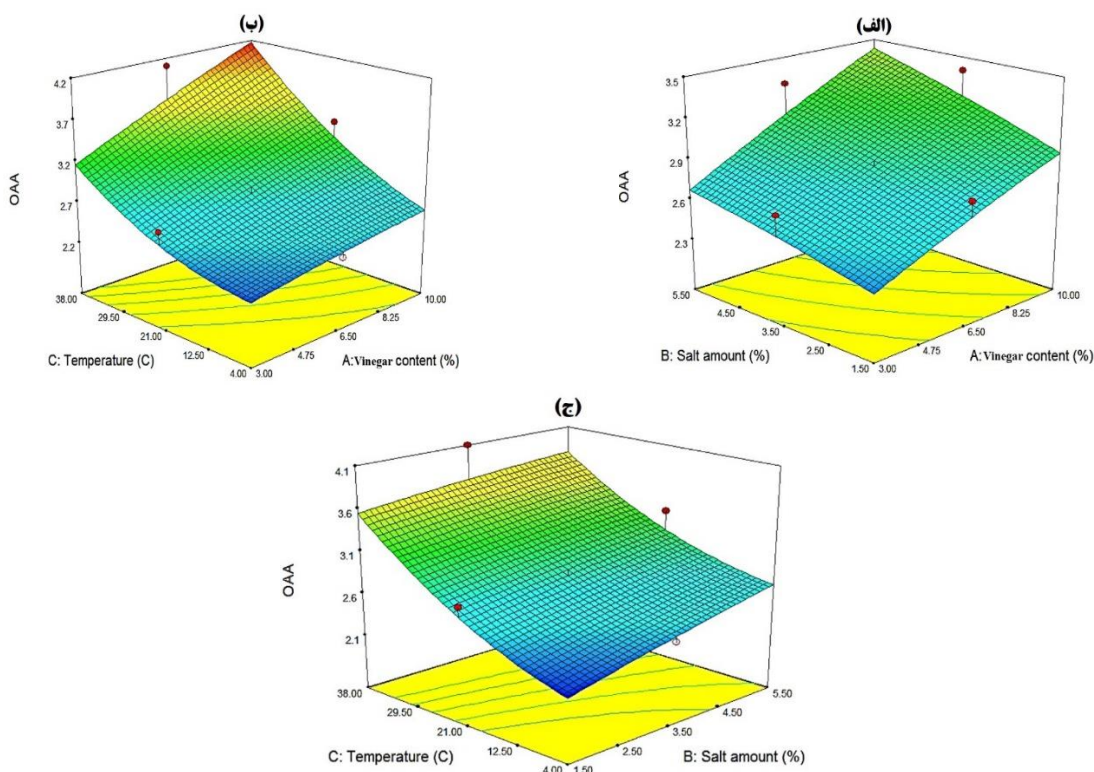
بر اساس نتایج تجزیه و تحلیل ANOVA تاثیر متغیرهای مستقل دمای نگهداری و مقادیر سرکه مصرفی در پذیرش کلی فلفل هالوپینوی تخمیری تولیدی با تلقیح باکتری پروبیوتیک (LA5) در سطح ۵ درصد معنی دار است. تاثیر متقابل افزایش مقدار سرکه مصرفی با کاهش درصد نمک سبب افزایش پذیرش کلی فلفل هالوپینوی تولیدی با تلقیح ل.اسیدوفیلوس در آن شده است که این افزایش به شکل درجه دوم و در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارد (شکل ۳-الف). افزایش محدود دما تا حدود ۳۸ درجه سلسیوس و افزایش محدود مقادیر سرکه تا ۶/۵ درصد سبب افزایش جزئی پذیرش کلی محصول تولیدی شده است ولی مدل درجه دوم در سطح ۵

درصد برای متغیرهای مورد بررسی معنی دار نیست (شکل ۳-ب).

اثر متقابل درصد نمک با افزایش دمای نگهداری در تشدید پذیرش کلی محصول تولیدی به شکل معنی دار موثر نیست (شکل ۳-ج). مدل چند متغیره درجه دوم معادله (۵) برای پیش‌بینی اثر متغیرهای مستقل، اثر متقابل و اثرهای درجه دوم آنها بر پذیرش کلی فلفل هالوپینوی تخمیری تلقیح شده با باکتری پروبیوتیک ل.اسیدوفیلوس با ضریب همبستگی $R^2=0/90$ و ضریب تغییرات ۱۰/۵۰ به دست آمد.

معادله (۵)

$$\text{LA5 culture OAA} = 2.89 + 0.33 X_1 + 0.19 X_2 + 0.61 X_3 + 0.050 X_1X_2 + 0.17 X_1X_3 - 0.075 X_2X_3 - 0.017 X_1^2 - 0.017 X_2^2 + 0.18 X_3^2$$



شکل ۳ - ارزیابی پذیرش کلی فلفل هالوپینو بعد از تلقیح ل.اسیدوفیلوس در فلفل ترشی تخمیری تحت تاثیر درصد سرکه (X_1)، درصد نمک (X_2) و دمای نگهداری (X_3).

Image 3- Overall acceptability of jalapeño peppers after inoculation with *Lactobacillus acidophilus* in fermented chili peppers under the influence of acetic acid percentage (x_1), salt percentage (x_2), and storage temperature (x_3)

تعاملات متقابل، تأثیر قابل توجهی در زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک LA5، تغییرات رنگی و پذیرش حسی فلفل هالوپینوی تخمیری دارند. بر اساس مدل‌های درجه دوم به دست آمده از روش سطح پاسخ، مشخص شد که دما و درصد سرکه بیشترین تأثیر را بر ویژگی‌های میکروبی و کیفی دارند، در حالی که نمک بیشتر به عنوان تعدیل‌کننده و تقویت‌کننده عمل می‌کند. نتایج مدل‌سازی رگرسیونی نشان داد که زنده‌مانی LA5 در دماهای پایین و مقادیر مناسب سرکه بهتر حفظ می‌شود و تعامل بین نمک و دما می‌تواند به پایداری بیشتر باکتری منجر شود. تحلیل شاخص‌های رنگی همچنین نشان‌دهنده این است که افزایش دما مهم‌ترین عامل در تغییر رنگ محصول است و سرکه در محدوده‌های میانی تأثیر زیادی بر ثبات رنگ دارد. ارزیابی‌های حسی نیز نشان داد که ترکیب مناسب سرکه و دمای نگهداری پایین تا متوسط به بیشترین میزان پذیرش کلی محصول منجر می‌شود و کیفیت نهایی را بهبود می‌بخشد. بررسی مشابهت نتایج این مطالعه با نتایج تحقیقات پیشین نیز نشان داد که الگوی رفتار LA5 در برابر اسیدیته، نمک و دما با یافته‌های بین‌المللی سازگار است و قابلیت استفاده از فلفل ترشی تخمیری به عنوان یک حامل غیرلبنی مناسب برای پروبیوتیک‌ها را تأیید می‌کند. به طور کلی، این تحقیق به وضوح نشان داد که استفاده از RSM ابزاری مؤثر برای بهینه‌سازی شرایط تخمیر و ارتقای کیفیت میکروبی و حسی فلفل هالوپینوی پروبیوتیکی است. پیاده‌سازی شرایط بهینه پیشنهاد شده می‌تواند شرایط لازم را برای تولید صنعتی محصولات تخمیری پروبیوتیک غیرلبنی با کیفیت و پایدار فراهم سازد.

تعارض منافع

نویسنده متعهد می‌گردد نتایج حاصل از پژوهش مذکور را در مجله‌ی دیگری ارسال نکرده و در این راستا منافع تجاری وجود نداشته و در قبال ارائه اثر خود وجهی دریافت ننموده است

بررسی پذیرش حسی نشان می‌دهد سرکه و دما دو عامل کلیدی در پذیرش کلی محصول هستند و افزودن مقدار متعادل سرکه همراه با دمای نگهداری پایین تا متوسط، بیشترین امتیاز پذیرفته‌شدن را ایجاد کرده است. این نتایج با نتایج تحقیقات ریبودی-ماسیلی و همکاران Raybaudi-Massilia *et al* (2009) هم‌راستا است. در گزارش این محققان دما، زمان و نمک مهم‌ترین عوامل کیفیت حسی و تغییرات تخمیر سبزی‌ها معرفی شده است. پاندا و همکاران Panda *et al* (2018) نشان داده‌اند که ترکیبات ماتریکس و دما بر رفتار LAB اثر می‌گذارند که ممکن است دلیلی بر تغییرات رنگ ایجاد شده در پژوهش حاضر باشد.

بررسی روابط رگرسیونی بین پاسخ‌های مورد مطالعه در مقایسه با متغیرهای مستقل

نتایج همبستگی (روابط رگرسیونی) بین پاسخ‌های مورد بررسی تحت تأثیر متغیرهای مستقل در فلفل هالوپینوی تخمیری تحت تیمارهای درصد سرکه (X1)، درصد نمک (X2) و دمای نگهداری (X3) در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج به دست آمده نشان می‌دهند که بیشترین مقدار همبستگی بین پذیرش کلی فلفل هالوپینوی تلقیح شده با *L.* / اسیدوفیلوس (۰/۹۶۳۲) و کمترین مقدار همبستگی بین شاخص کلی رنگ فلفل هالوپینوی تلقیح شده با *L.* / اسیدوفیلوس (۰/۹۲۱۱) وجود دارد. به منظور ارزیابی صحت روابط همبستگی بین پاسخ‌های مورد بررسی نیز آزمون ضعیف برازش، مقادیر R^2 adjusted و R^2 predicted و VIF کنترل گردید تا مطلوب‌ترین مدل متناسب با داده‌های پاسخ به دست آید.

بررسی مدل‌های رگرسیونی پیشنهادی در این پژوهش‌ها نشان می‌دهد که الگوی تأثیرگذاری متغیرها بر زنده‌مانی LA5، تغییرات رنگ محصول و پذیرش حسی فلفل هالوپینوی تخمیری با خطوط کلی یافته‌های مطالعات بین‌المللی همسوست.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که سه عامل اصلی شامل میزان سرکه، درصد نمک و دمای نگهداری، به طور مستقل یا از طریق

بهینه‌سازی شرایط تولید (درصد سرکه، نمک و دمای نگهداری) فلفل هالوپینو تخمیری با سویه تجاری...

جدول ۲- درصد بررسی روابط رگرسیونی بین پاسخ‌های ارزیابی شده در این پژوهش

Table 2- Percentage of examining the regression relationships among the evaluated responses in this study.

پذیرش کلی LA5 culture	شاخص کلی رنگ LA5 culture	زنده‌مانی LA5 culture	پاسخ متغیر وابسته
		۱	LA5 culture زنده‌مانی
	۱	۹۲/۱۱۳	LA5 culture شاخص کلی رنگ
۱	۹۵/۶۲۳	۹۶/۳۲۹	LA5 culture پذیرش کلی

منابع

- Abedfar, A., Ebrahimi, M., Sadeghi, A., Gholamhosseinpour, A. 2016. Evaluating the effect of salt percentage, pH and storage temperature on survival of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus brevis* probiotic bacteria and qualitative properties of fermented olive by response surface methodology. *Journal of Applied Microbiology in Food Industry*, 4 (1), 1-17. [In Persian].
- Alberto, M. R., Perera, M. F., & Arena, M. E. 2013. Lactic acid fermentation of peppers. *Food and Nutrition Sciences*, 4(11), 47.
- Atkinson, G.M. and Boore, D.M., 2003. Empirical ground-motion relations for subduction-zone earthquakes and their application to Cascadia and other regions. *Bulletin of the seismological society of America*, 93(4): 1703-1729.
- Cai Y, Wu Y, Li C, Zhang L, Tong S, Yuan S. 2023. Quality Improvement of Zao Pepper by Inoculation with *Lactobacillus plantarum* 5-1: Probiotic Ability and Fermentation Characteristics of Lactic Acid Bacteria. *Fermentation*. 9(6):547.
- Dadali G, Demirhan E, Ozbek B. Color change kinetics of spinach undergoing microwave drying. *Drying Technology*, 2007; 25(10): 1713-1723.
- Dalbello F, Clarke CI, Ryan LAM, Ulmer H, Schober TJ, Strom K, Sjogren J, van Sinderen D, Schnurer J, Arendt EK. 2007. Improvement of the quality and shelf life of wheat bread by fermentation with the antifungal strain *Lactobacillus plantarum* FST 1.7. *Journal of Cereal Science*. 45(3): 309-318.
- De Bellis, P., Valerio, F., Sisto, A., Lonigro, S. L., & Lavermicocca, P. 2010. Probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* 5BG strain isolated from table olives: survival under refrigerated storage and simulated gastrointestinal conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 144(1), 115–122.
- Gharibzahedi SMT, Razavi SH, Mousavi SM. 2012. Developing an emulsion model system containing canthaxanthin biosynthesized by *Dietzia natronolimnaea* HS-1. *International Journal of Biological Macromolecules*. 51(4): 618–626.
- González-Quijano, M., López-Díaz, T. M., Moreno, B., & Bernardo, A. 2014. Halotolerance and survival kinetics of lactic acid bacteria isolated from jalapeño pepper fermentation. *Journal of Food Science*, 79(4), M666–M673.
- Lavermicocca P, Valerio F, Lonigro SL, De Angelis M, Morelli L, Callegari ML, Visconti A. 2005. Study of adhesion and survival of lactobacilli and bifidobacteria on table olives with the aim of formulating a new probiotic food. *Applied and Environmental Microbiology*. 71(8): 4233-4240.
- National Standard of Iran. Fermented Pickled Pepper Processing and Test Methods. 2022; Standard Number 9447. Product Code 11349.
- Ngoc HO, Minh UT, Tran LT, Dinh AQ, Nguyen AT. 2014. Response surface optimization of ethanolic extraction of antioxidant from artichoke leaves. *Journal of Food Processing and Preservation*. 39(6): 1036-1044.

- Núñez, I. M., Verni, M. C., Argañaraz Martínez, F. E., Babot, J. D., Terán, V., Danilovich, M. E., Cartagena, E., Alberto, M. R., & Arena, M. E. 2024. Novel Lactic Acid Bacteria Strains from Regional Peppers with Health-Promoting Potential. *Fermentation*, 10(4), 209.
- Panda, S. H., Jena, P. K., & Rath, C. C. 2018. *Lactobacillus plantarum*: a versatile probiotic in food and health. *Journal of Food Science and Technology*, 55(7), 2684–2695.
- Piasecka-Jóźwiak, K., Rozmierska, J., Chabłowska, B., Stecka, K. M., Skąpska, S., Kliszcz, M., & Szkudzińska-Rzeszowiak, E. 2013. Starter cultures for lactic acid fermentation of sweet pepper, pattypan squash and tomatoes. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 63(2), 95-102.
- Raybaudi-Massilia, R. M., Mosqueda-Melgar, J., & Martín-Belloso, O. 2009. Advances in vegetable fermentation: role of lactic acid bacteria and factors affecting quality and safety. *Food Microbiology*, 26(6), 593–600.
- Spyropoulou, K. E., Chorianopoulos, N. G., Skandamis, P. N., & Nychas, G. J. 2001. Survival of *Escherichia coli* O157: H7 during the fermentation of Spanish-style green table olives (conservolea variety) supplemented with different carbon sources. *International journal of food microbiology*, 66(1), 3-11.
- Stern, K. R. 2000. *Introductory plant biology*, 8th edition McGraw Hill College, New York pp630.
- USDA-ARS. 2019. Survival and growth of probiotic lactic acid bacteria in refrigerated pickle products. *Agricultural Research Service Technical Report*, 1–15.
- Vegas, R., Zavaleta, A., & Zarzoso, B. 2018. Optimization of fermentation process conditions for chili pepper (*Capsicum frutescens*) using response surface methodology. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(10), e13774.
- Vidyyarltie, R. D and Tripathi, S. C. 2002. *A textbook of Botany*. S. Chand and Company Ltd. 7361, Ram Nagar, New Delhi.

Optimization of Production Conditions (percentage of Vinegar, Salt Concentration, and Storage Environment) of *Eermented Jalapeno Peppers* with Commercial Probiotic Strain *Lactobacillus acidophilus* (LA5)

Fatemeh Jalili, Abbas Abedfar*, Shadi Haddadizadeh, Neda Tanhaei

*Corresponding Author: Assistant Professor, Department of Food Science & Technology, Faculty of Agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran

Email: a.abedfar@guilan.ac.ir

Received: 6 December 2025 Accepted: 10 February 2026

[http://doi: 10.22092/fooder.2026.371662.1440](http://doi.org/10.22092/fooder.2026.371662.1440)

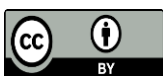
Abstract:

In recent years, attention to functional foods containing probiotics as a solution to improve health has increased significantly. However, maintaining the viability of *Lactobacillus acidophilus* (LA5) in acidic and salty products such as jalapeno pepper pickles under the influence of key factors such as salt concentration, vinegar percentage and storage temperature has always been a major scientific challenge. The effect of each variable parameter, directly or through interaction, on the viability of LA5 and quality characteristics such as product color changes as well as sensory acceptance of fermented pickled peppers played a significant role ($P < 0.05$). High salt concentrations (more than 2.5%) and low pH due to vinegar acidity significantly reduced the viability of the probiotic strain LA5. In contrast, storage at low temperatures (4-10°C) increased cell viability and allowed LA5 to survive for a longer period. Finally, the results of this study based on the quadratic regression model showed that the variable parameters of temperature and vinegar content had the greatest effect on the viability and quality of jalapeno pepper, while salt played a role as a secondary factor with a moderating effect in the fermentation process. Therefore, controlling and evaluating the interaction effects of these variables during the processing of probiotic jalapeno pepper seems necessary in order to produce a high-quality product.

Keywords: Process optimization, Viability of commercial probiotic cultures, Fermented jalapeno pepper, Regression model

[http://doi: 10.22092/fooder.2026.371662.1440](http://doi.org/10.22092/fooder.2026.371662.1440)

Email: a.abedfar@guilan.ac.ir : نویسنده مسئول



© 2026, The Author(s). Published by [Agricultural Engineering Research Institute](https://www.fooder.areeo.ac.ir/). This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>). Which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.