

## تولید کره کم کلسترول با استفاده از بتاسیکلودکسترین

مریم آریافر<sup>۱</sup>، پروین زندی<sup>۲</sup>

۱- کارشناس ارشد علوم و صنایع غذایی

۲- نویسنده مسئول: استاد گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، پست الکترونیکی: p.zandi@nmftri.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۶/۲/۱

تاریخ پذیرش: ۸۶/۷/۲۲

### چکیده

**سابقه و هدف:** افزایش شیوع بیماری‌های قلبی عروقی در سال‌های اخیر و تأثیر افزایش کلسترول خون در ابتلا به این بیماری‌ها، منجر به تحقیقات گسترده‌ای در زمینه تولید فراورده‌های رژیمی و کم کلسترول شده است. هدف از انجام این پژوهش، کاهش کلسترول روغن کره به کمک بتاسیکلودکسترین ( $\beta$ -CD) و تعیین ماندگاری آن بود.

**مواد و روش‌ها:** بعد از جداسازی روغن کره، برای تعیین بهترین درصد  $\beta$ -CD ابتدا فرایند کلسترول زدایی در ۳ سطح ۱، ۳ و ۵ درصد  $\beta$ -CD، نسبت ۱:۱ آب و چربی در دمای  $35^{\circ}\text{C}$  و هم‌زدن با سرعت ۸۰۰ دور در دقیقه به مدت نیم ساعت در مقیاس آزمایشگاهی انجام شد. نتایج اندازه‌گیری میزان کلسترول این تیمارها با گاز کروماتوگرافی نشان داد که استفاده از ۵ درصد  $\beta$ -CD بیشترین میزان کاهش کلسترول را سبب شده است. ویژگی‌های شیمیایی (اعداد اسیدی، پراکسید، یدی، صابونی، رایشر میسل، پولنسک و کرشنر) و فیزیکی (ضریب شکست و نقطه ذوب) و ترکیب اسیدهای چرب روغن کره کلسترول زدایی شده (با استفاده از ۵ درصد  $\beta$ -CD) با روغن کره شاهد مقایسه شد. از این روغن برای تولید کره کم کلسترول همراه با آب، شیر خشک بدون چربی و طعم دهنده استفاده شد. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی (نفوذ پذیری، درصد رطوبت، چربی و ماده جامد بدون چربی)، میکروبی (کپک و مخمر، استافیلوکوکوس اورئوس، کلی فرم و باکتری‌های سرما دوست) و حسی (پذیرش رنگ، بافت و عطر و طعم) کره کم کلسترول با کره شاهد مقایسه شد. به منظور تعیین ماندگاری کره کم کلسترول در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  ویژگی‌های شیمیایی (اعداد اسیدی و پراکسید)، میکروبی (کپک و مخمر، استافیلوکوکوس اورئوس، کلی فرم و باکتری‌های سرما دوست) و حسی نمونه‌ها (رنگ، بافت و عطر و طعم به روش ترجیح) در زمان‌های ۲، ۳، ۴ و ۶ ماه پس از تولید، ارزیابی شد.

**یافته‌ها:** با استفاده از ۵ درصد  $\beta$ -CD، میزان کلسترول روغن کره از ۲۴۳ به ۶۱/۶ میلی‌گرم درصد رسید. یعنی ۷۵٪ کاهش یافت که بیشترین میزان کاهش بوده است. مقایسه ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی روغن کره کم کلسترول با روغن کره شاهد، تفاوت آماری معنی‌داری نشان نداد ( $P>0/05$ ). به علاوه، ویژگی‌های شیمیایی، فیزیکی و حسی کره شاهد و کره کم کلسترول هم تفاوت آماری معنی‌داری نداشتند ( $P>0/05$ ). نتایج آزمون‌های میکروبی در زمان تولید و دوره ماندگاری منفی بود. در ماه ششم، عدد پراکسید از حد مجاز فراتر رفت و ماندگاری محصول ۵ ماه تعیین شد.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج به دست آمده، استفاده از  $\beta$ -CD برای کلسترول زدایی از روغن کره مناسب است و می‌توان از آن در تولید کره کم کلسترول استفاده کرد. ادامه کار در مقیاس وسیع‌تر توصیه می‌شود.

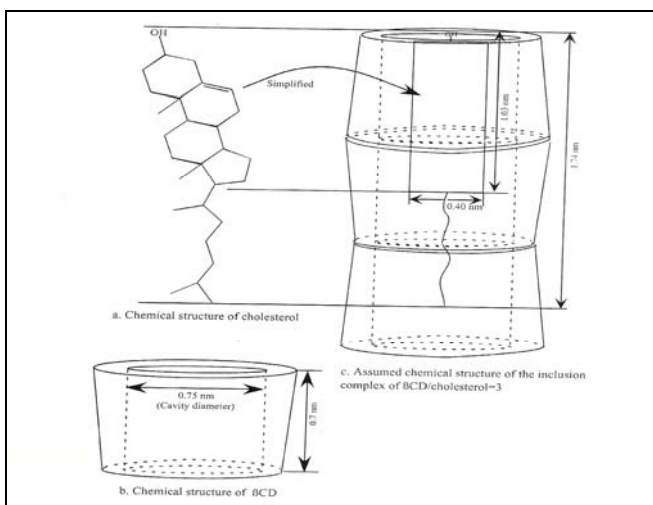
**واژگان کلیدی:** کاهش کلسترول، کره کم کلسترول، ماندگاری، بتاسیکلودکسترین،  $\beta$ -CD

### • مقدمه

دریافتی از چربی‌های اشباع، کلسترول پلازما حدود  $2/7\text{mg/dl}$  افزایش می‌یابد و افزایش  $25\text{mg}$  کلسترول رژیم باعث افزایش  $1\text{mg/dl}$  کلسترول خون می‌شود (۱). تحقیقات نشان داده‌اند که مصرف کره باعث افزایش

ارتباط مستقیمی بین میزان کلسترول خون و ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی وجود دارد. کلسترول رژیم غذایی و اسیدهای چرب اشباع باعث بالا رفتن کلسترول خون می‌شوند. به طوری که با افزایش ۱ درصد کالری

تاکنون تحقیقات فراوانی در زمینه تاثیر  $\beta$ -CD در کلسترول زدایی از چربی‌های حیوانی انجام شده است. در تحقیقی با استفاده از ۵ درصد  $\beta$ -CD و نسبت ۱:۱ آب و چربی با سرعت هم‌زدن ۸۰۰ rpm در دمای  $30-40^{\circ}\text{C}$  به مدت نیم ساعت ۸۰٪ کلسترول چربی‌های حیوانی جداسازی شد (۶). در تحقیق دیگری با استفاده از ۵ درصد  $\beta$ -CD، نسبت ۱:۱ آب و لارد و سرعت هم‌زدن ۱۵۰ rpm در دمای  $27^{\circ}\text{C}$  حدود ۹۰٪ کلسترول لارد جداسازی شد (۷).



شکل ۱- ساختمان شیمیایی  $\beta$ -CD، کلسترول و ساختمان شیمیایی فرضی کمپلکس  $\beta$ -CD و کلسترول

استفاده از  $\beta$ -CD در کلسترول زدایی از فراورده‌های لبنی هم بررسی شده است؛ به طوری که با استفاده از ۰/۵ تا ۱/۵ درصد  $\beta$ -CD هم‌زدن به مدت ۱۰ دقیقه در دمای  $10^{\circ}\text{C}$ ، در حدود ۹۲/۲ تا ۹۵/۳ درصد کلسترول شیر هم‌وزنیه، جداسازی شد (۸). در تحقیق دیگری ۹۴٪ کلسترول خامه با استفاده از ۱۰ درصد  $\beta$ -CD و سرعت هم‌زدن ۱۶۰۰ rpm به مدت ۳۰ دقیقه جداسازی شد (۹).

بیشتر مطالعاتی که در این زمینه انجام شده است با استفاده از  $\beta$ -CD پودری شکل بوده ولی اشکالی که این روش دارد این است که جداسازی  $\beta$ -CD به طور کامل از ماده غذایی صورت نمی‌گیرد و مقداری از آن در داخل ماده غذایی باقی می‌ماند و از آنجا که این ترکیب گران

کلسترول تام و LDL-C خون، بویژه در افرادی می‌شود که سابقه افزایش کلسترول خون دارند (۲). برای کلسترول زدایی از مواد غذایی با استفاده از روش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی اقداماتی شده است. شامل: مخلوط کردن با روغن‌های گیاهی، استخراج با حلال‌های آلی، جذب سطحی با ساپونین و دیژیتونین، تجزیه کلسترول با کلسترول اکسیداز و استخراج با  $\text{CO}_2$  در شرایط فوق بحرانی. ولی بیشتر این روش‌ها، غیر انتخابی عمل می‌کنند، باعث از بین رفتن عطر و طعم و ترکیبات مغذی می‌شوند و از نظر اقتصادی، مقرون به صرفه نیستند. در این میان، استفاده از بتاسیکلودکسترین ( $\beta$ -CD)، تنها روشی است که بدون اثرات جانبی باعث جداسازی کلسترول از مواد غذایی می‌شود (۳)، بنابراین، می‌تواند ماده مناسبی برای حذف کلسترول از مواد غذایی باشد.

$\beta$ -CD یک اولیگوساکارید حلقوی متشکل از ۷ واحد گلوکز است. بخش خارجی مولکول، آب دوست است، ولی یک حفره مرکزی آب‌گریز دارد و همین ویژگی باعث می‌شود که مولکول  $\beta$ -CD توانایی ترکیب با ترکیبات غیرقطبی و تشکیل کمپلکس بویژه با کلسترول را داشته باشد (۴). قسمت آب‌گریز مولکول مهمان (کلسترول) با حفره سیکلودکسترین، وارد واکنش می‌شود و به دلیل خاصیت آب دوستی بخش خارجی مولکول  $\beta$ -CD، کمپلکس حاصله، وارد محلول می‌شود. با افزایش مقدار آب، مولکول‌های  $\beta$ -CD آزاد شده و قدرت تشکیل کمپلکس آنها تجدید می‌شود (۳). بررسی ساختمان شیمیایی کمپلکس  $\beta$ -CD و کلسترول نشان داده است که نسبت مولی  $\beta$ -CD به کلسترول ۳ است و یک مولکول کلسترول توسط ۳ مولکول  $\beta$ -CD احاطه می‌شود. ساختمان شیمیایی این کمپلکس به صورت  $\text{Ch-H}_2\text{O}_3$ - $\beta$ -CD است و  $\text{Ch-H}_2\text{O}$ -کلسترول مونوهیدرات است (۵). ساختمان شیمیایی  $\beta$ -CD و کلسترول و همچنین ساختمان شیمیایی فرضی کمپلکس  $\beta$ -CD و کلسترول در شکل ۱ نشان داده شده است.

Chin و همکاران با تثبیت  $\beta$ -CD روی بستری از کیتوزان اقدام به کلاسترول زدایی از زرده تخم مرغ کردند. این عمل از طریق ایجاد اتصالات عرضی به وسیله ۶ و ۱۶ هگزا متیلن دی ایزوتیوسیانات انجام شد. در این تحقیق ۹۲٪ کلاسترول از زرده‌ای که تا ۳۰ برابر رقیق شده بود در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  با استفاده از ۱٪  $\beta$ -CD تثبیت شده در مدت زمان فرایند ۲ ساعت جداسازی شد. از طرف دیگر ۹۶٪ کلاسترول جذب شده توسط بتاسیکلودکسترین - کیتوزان با استفاده از ۹۵٪ اتانول در  $50^{\circ}\text{C}$  جداسازی شد. در نهایت نشان داده شد که بتاسیکلودکسترین تثبیت شده ۸۴٪ ظرفیت جذبی خود را پس از ۱۲ بار استفاده در فرایند کلاسترول زدایی حفظ کرده است (۱۳). در ایران هم تحقیقاتی در مورد کلاسترول زدایی از پیه و دنبه با استفاده از  $\beta$ -CD انجام شده است. در این تحقیقات، با استفاده از ۵ درصد  $\beta$ -CD و نسبت ۱:۱ آب و چربی و هم‌زدن با سرعت ۴۵۰ rpm به مدت یک ساعت در دمای  $30^{\circ}\text{C}$  و سپس سانتریفوژ کردن مخلوط حاصله با نیروی ۱۰۰۰ g به مدت ۱۵ دقیقه، حدود ۸۰٪ کلاسترول پیه و ۷۲٪ کلاسترول دنبه جداسازی شد. در این فرایند، تغییری در طیف اسیدهای چرب پیه و دنبه، قبل و بعد از فراوری با  $\beta$ -CD مشاهده نشد (۱۴، ۱۵). هدف از انجام این تحقیق، کلاسترول زدایی از روغن کره و تولید کره کم کلاسترول در مقیاس آزمایشگاهی بود. در صورت موفقیت می‌توان امیدوار بود که در مقیاس صنعتی شاهد تولید انبوه این محصول باشیم.

#### • مواد و روش‌ها

مشخصات نمونه کره شاهد: کره مورد استفاده در این تحقیق از شرکت New Zealand Milk Products (NZMP) بود که در کارخانه لبنیات "پاک" بسته بندی و توزیع می‌شود. یک بسته ۲۵ کیلوگرمی از این کره (تاریخ تولید سپتامبر ۲۰۰۴) برای انجام این تحقیق در اختیار گذاشته شد.

قیمت می‌باشد باعث افزایش ارزش تمام شده محصول می‌شود. بنابراین، استفاده از روش‌های بازیافت  $\beta$ -CD باعث کاهش هزینه تولید خواهد شد و از نظر اقتصادی مقرون به صرفه می‌باشد. بدین منظور، تحقیقاتی در زمینه چگونگی بازیافت  $\beta$ -CD و همچنین استفاده از روش‌های تثبیت  $\beta$ -CD به منظور کاهش میزان مصرف آن انجام گرفته است.

در تحقیقی به منظور بازیافت  $\beta$ -CD، ترکیب بتاسیکلودکسترین همراه با کلاسترول در حضور ۲۰-۱ درصد از انواع نمک‌ها برای مدت ۵ دقیقه تا ۲ ساعت در فشار ۷۰-۱۵ PSI داخل اتوکلاو تا دمای  $100-150^{\circ}\text{C}$  حرارت داده شد. این فشار به منظور جلوگیری از جوشیدن محلول و کمک به شکسته شدن ترکیب اعمال شد. کلاسترول و  $\beta$ -CD بازیافت شده از این طریق هردو قابل استفاده مجدد بودند (۱۰).

Kim و همکاران (۱۱) به منظور افزایش بازیافت  $\beta$ -CD از  $\beta$ -CD دارای اتصالات عرضی که توسط اپی کلروهیدرین ایجاد شده بود، استفاده و اقدام به کلاسترول زدایی از شیر کردند. در این تحقیق نشان داده شد که با استفاده از ۱٪  $\beta$ -CD دارای اتصالات عرضی و مدت زمان هم‌زدن ۱۰ دقیقه و سرعت ۴۰۰ rpm در دمای  $5^{\circ}\text{C}$  حدود ۸۰٪ کلاسترول شیر جداسازی شده است. در حالی که کفایت بازیابی  $\beta$ -CD از شیر در این تحقیق کامل و ۱۰۰٪ بود.

در تحقیق مشابهی از  $\beta$ -CD دارای اتصالات عرضی که توسط اسید آدیپیک ایجاد شده بود برای کلاسترول زدایی از خامه استفاده شد. در این تحقیق با استفاده از ۱۰٪  $\beta$ -CD دارای اتصالات عرضی با سرعت هم‌زدن ۱۴۰۰ rpm در دمای  $40^{\circ}\text{C}$ ، حدود ۹۰٪ کلاسترول خامه جداسازی شد و در نهایت بعد از ۷ بار انجام فرایند کلاسترول زدایی کارایی  $\beta$ -CD، ۹۰٪ گزارش داده شد (۱۲).

در یک سطل آب و یخ و در دمای  $5^{\circ}\text{C}$  - با استفاده از تیغه مناسب تا رسیدن به بافت مطلوب هم زده شد. کره تولیدی در لیوان‌های پلاستیکی ریخته شده و در خط تولید با ورق‌های آلومینیوم دربندی و در فریزر ( $20^{\circ}\text{C}$  -) نگهداری شد.

**تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی:** آزمون‌های شیمیایی و فیزیکی روغن کره شاهد و روغن کره کم کلسترول شامل اعداد اسیدی، پراکسید، صابونی، رایشر مایسل، پولنسک، کرشنر، نقطه ذوب و ضریب شکست به روش AOCS (۱۶)، عدد یدی به روش AOAC (۱۷) و آزمون‌های شیمیایی و فیزیکی نمونه کره کم کلسترول تولیدی و کره شاهد شامل نفوذپذیری (با دستگاه Stanhope Cone Penetrometer) و رطوبت به روش AOCS (۱۶)، چربی به روش ژربر اندازه‌گیری و ماده جامد بدون چربی از تفاضل مجموع درصد رطوبت و چربی از عدد ۱۰۰ محاسبه شد.

برای اندازه‌گیری کلسترول، ابتدا کلسترول از نمونه‌های روغن کره، مطابق روش AOAC (۱۷) استخراج شد. سپس، محلول استاندارد کلسترول (با درجه خلوص  $99\%$  از شرکت Merck) در استات اتیل تهیه شد. به منظور اندازه‌گیری کلسترول از دستگاه گاز کروماتوگراف Varian مدل ۳۴۰۰ با ستون dimethylpolysiloxan (OV-۱۰۱) به طول ۱۵ متر و قطر  $0.25\mu\text{m}$  استفاده شد. محلول استاندارد کلسترول و محلول نمونه به دستگاه، تزریق و کلسترول با استفاده از روش Standard Addition اندازه‌گیری شد (۱۸).

جهت آماده سازی استر متیل اسیدهای چرب، حلال n-هپتان و معرف ترانس استریفیکاسیون (KOH) در متانول) به نمونه‌ها اضافه شد (۱۹). اندازه‌گیری اسیدهای چرب به وسیله دستگاه گاز کروماتوگراف Varian مدل ۳۸۰۰ مجهز به ستون شیشه‌ای موبین (CP-Splitter) به طول ۳۰ متر، قطر  $0.32\text{mm}$  و ضخامت  $0.25\mu\text{m}$  انجام شد. دمای ستون، محل تزریق و شناساگر به ترتیب ۲۶۰،

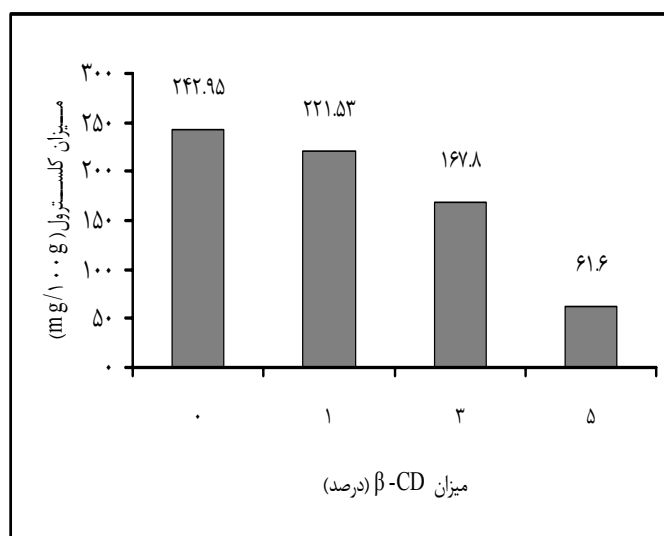
آماده سازی کره برای فراوری: ابتدا کره را ذوب کرده و قسمت اعظم آب آن توسط دکانتور و سپس باقیمانده آب توسط کاغذ صافی در داخل گرمخانه  $35^{\circ}\text{C}$  جداسازی شد. روغن کره به دست آمده، تا زمان استفاده در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  - نگهداری شد.

تیمار با  $\beta$ -CD: به منظور تعیین بهترین درصد  $\beta$ -CD برای کاهش حداکثر مقدار کلسترول کره، ابتدا در ۳ بشر  $1000$  میلی‌لیتری، حاوی  $200$  گرم روغن کره، به ترتیب ۱، ۳ و ۵ درصد  $\beta$ -CD (شرکت Merck با خلوص  $98\%$ ) افزوده شد. مطابق شرایط بهینه به دست آمده توسط Roderbourg در سال ۱۹۹۳ (۶) به هر کدام  $200$  گرم آب اضافه شد و هم‌زدن با سرعت  $800\text{rpm}$  در درجه حرارت  $35^{\circ}\text{C}$  به مدت نیم ساعت انجام شد. سپس با سرعت  $1000\text{rpm}$  به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. با این عمل، روغن کلسترول زدایی شده، از فاز آبی جدا شد.

**تولید آزمایشگاهی کره کم کلسترول:** نتایج اندازه‌گیری کلسترول با گاز کروماتوگرافی (CG) نشان داد که استفاده از ۵ درصد  $\beta$ -CD باعث حداکثر جداسازی کلسترول شده است. بنابراین، به عنوان تیمار برگزیده انتخاب شد و کار روی روغن کلسترول زدایی شده با ۵ درصد  $\beta$ -CD ادامه یافت. جهت تهیه کره کم کلسترول، ابتدا فاز آبی و روغنی به طور جداگانه تهیه شدند.  $1/4$  درصد شیر خشک بدون چربی را به تدریج در آب حل کرده و آن را به پاستوریزاتور آزمایشگاهی منتقل کرده و در دمای  $75-80^{\circ}\text{C}$  برای مدت ۳۰ دقیقه پاستوریزه شد. برای آماده سازی فاز روغنی، ابتدا  $0/1$  درصد طعم دهنده دی استیل (شرکت Firmenich آلمان) در یک پنجم روغن کره در دمای  $70-80^{\circ}\text{C}$  حل و سپس به همه روغن اضافه شد. دمای فاز آبی و روغنی به  $40-45^{\circ}\text{C}$  رسانده شد و فاز آبی، به تدریج و به آهستگی به فاز روغنی اضافه شد. سپس توسط یک همزن برقی با سرعت  $150\text{rpm}$  به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه

### • یافته‌ها

نتایج حاصل از اندازه‌گیری کلسترول روغن کره شاهد و نمونه‌های روغن کره کلسترول‌زدایی شده با ۱، ۳ و ۵ درصد  $\beta$ -CD در شکل ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که مشخص است، میزان کلسترول روغن کره با افزایش غلظت  $\beta$ -CD کاهش می‌یابد.



شکل ۲- میزان کلسترول روغن کره شاهد و نمونه‌های روغن کره کلسترول‌زدایی شده با ۱٪، ۳٪ و ۵٪  $\beta$ -CD

نتایج آزمون‌های شیمیایی و فیزیکی انجام شده روی روغن کره شاهد و روغن کره کم کلسترول در جدول ۱ آورده شده است. آنالیز آماری داده‌های جدول ۱ نشان داد که بین ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی روغن کره شاهد و روغن کره کم کلسترول، هیچ‌گونه تفاوت آماری معنی‌داری وجود ندارد ( $P > 0.05$ ).

نتایج تعیین ترکیب اسیدهای چرب روغن کره شاهد و روغن کره کم کلسترول در جدول ۲ نشان داده شده است. آنالیز آماری این داده‌ها نیز تفاوت معنی‌داری میان ترکیب اسیدهای چرب روغن کره شاهد و روغن کره کم کلسترول نشان نداد ( $P > 0.05$ ).

۲۵۰ و ۲۸۰°C بود و گاز حامل هیدروژن با فشار سرستون ۰/۴ بار بود (۲۰).

تعیین ویژگی‌های میکروبی: آزمون‌های میکروبی، شامل شمارش کپک و مخمر (۲۱)، استافیلوکوکوس اورئوس (۲۲)، کلی‌فرم (۲۳) و باکتری‌های سرمادوست (۲۴) مطابق استانداردهای ملی ایران انجام شد.

آزمون‌های حسی: آزمون‌های حسی توسط ۳۰ ارزیاب خانگی آموزش ندیده انجام شد. ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمون، نمونه‌ها از فریزر به یخچال منتقل شدند و سپس کره کم کلسترول و کره شاهد به همراه نان و یک عدد کارد پلاستیکی در اختیار ارزیاب‌ها قرار گرفت و از آنها خواسته شد در فواصل ۲ دقیقه‌ای ۵ تا ۱۰ گرم کره را همراه با نان میل کنند و نمونه ترجیح داده شده از نظر بافت، رنگ، عطر و طعم را مشخص کنند.

تعیین ماندگاری محصول: جهت تعیین ماندگاری محصول تولیدی، اعداد اسیدی و پراکسید نمونه‌های روغن کره در زمان تولید و ۲، ۳، ۴ و ۶ ماه پس از تولید، اندازه‌گیری شد. همچنین آزمون‌های میکروبی و حسی در زمان تولید و ۲ و ۴ ماه پس از تولید انجام گرفت.

آنالیز آماری: برای بیان متغیرهای کمی از آمار توصیفی به صورت میانگین و انحراف معیار، برای مقایسه ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی روغن کره شاهد و روغن کره کم کلسترول و همچنین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی کره شاهد و کره کم کلسترول از Paired t-test، برای مقایسه آنالیز اسیدهای چرب از روش ناپارامتری Wilcoxon و برای تعیین تغییرات اعداد اسیدی و پراکسید در زمان‌های ماندگاری از آنالیز واریانس دوطرفه به روش تکرار استفاده شد. برای تحلیل آماری نتایج به دست آمده از ارزیابی حسی کره شاهد و کره کم کلسترول، از آزمون ترجیح جفتی استفاده شد.

نتایج آزمون‌های شیمیایی و فیزیکی انجام شده روی نمونه‌های کره شاهد و کره کم کلسترول در جدول ۳ نشان داده شده است. بعد از انجام آزمون‌های مربوط و بررسی نتایج آنالیز آماری، تفاوت آماری معنی‌داری بین کره کم کلسترول و شاهد مشاهده نشد و کره کم کلسترول تولیدی در همه ویژگی‌ها مشابه کره شاهد بود ( $P > 0/05$ ).

نتایج آزمون‌های میکروبی انجام شده روی نمونه کره تولیدی و کره شاهد، شامل تعیین کپک و مخمر، کلی‌فرم، باکتری‌های سرمادوست و استافیلوکوکوس اورئوس در زمان تولید منفی بود.

جدول ۳- ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی کره شاهد و کره کم کلسترول\*

ویژگی	تیمار	
	کره شاهد	کره کم کلسترول
رطوبت	۱۵/۵۷±۰/۱۱	۱۵/۴۹±۰/۰۱
چربی	۸۳±۰	۸۳±۰
مواد جامد بدون چربی	۱/۴۲±۰/۱۱	۱/۵±۰/۰۱۱
نفوذ پذیری	۵±۰/۱۵	۵/۳۶±۰/۳۵

\*کلسترول زدایی شده با ۵ درصد  $\beta$ -CD

نتایج آزمون‌های حسی در جدول ۴ نشان داده شده است. نتایج ارزیابی حسی کره شاهد و کره کم کلسترول در زمان تولید، هیچ گونه تفاوت معنی‌داری در رنگ، عطر و طعم و بافت نشان نداد ( $P > 0/05$ ). همچنین، تفاوت آماری معنی‌داری میان ویژگی‌های حسی کره شاهد و کره کم کلسترول تولیدی در زمان‌های ماندگاری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ).

روند تغییرات اعداد اسیدی و پراکسید کره شاهد و کره کم کلسترول تولید شده در دوره ماندگاری در شکل‌های ۳ و ۴ نشان داده شده است. آنالیز آماری داده‌ها نشان می‌داد که اعداد اسیدی و پراکسید، با گذشت زمان افزایش یافته‌اند و این افزایش، معنی‌دار بود ( $p < 0/05$ ).

جدول ۱- ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی روغن کره شاهد و روغن کره کم کلسترول\*

آزمون	تیمار	
	روغن کره شاهد	روغن کره کم کلسترول
عدد اسیدی (mg/g)	۰/۲۳±۰/۳۲	۰/۲۵±۰/۰۳
عدد پراکسید (meq/Kg)	۰/۲±۰	۰/۲±۰
عدد یدی (g/100g)	۳۵/۷۳±۱/۲۷۷	۳۵/۳۷±۲/۱۷
ضریب شکست (C ۴۰°)	۱/۴۵۳۱±۰/۰۰۲	۱/۴۵۳۳±۰/۰۰۵
عدد رایشر مایسل	۳۱/۲±۰/۴۵	۳۱/۴۵±۰/۴۸
عدد پولنسک	۳/۳±۰/۱۹	۳/۵±۰/۲۳
عدد کرشنر	۲۶/۴۵±۰/۳۷	۲۶/۳۳±۰/۲۸
نقطه ذوب (C °)	۳۰±۰	۳۰±۰
عدد صابونی (mg/g)	۲۳۱/۸۶±۰/۰۸	۲۳۱/۳۸±۳/۳

\*کلسترول زدایی شده با ۵ درصد  $\beta$ -CD

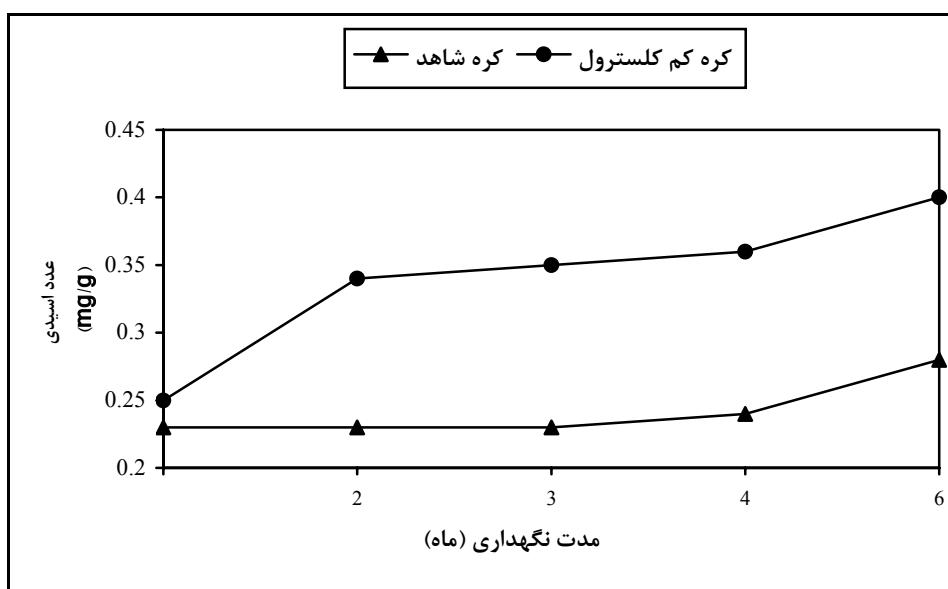
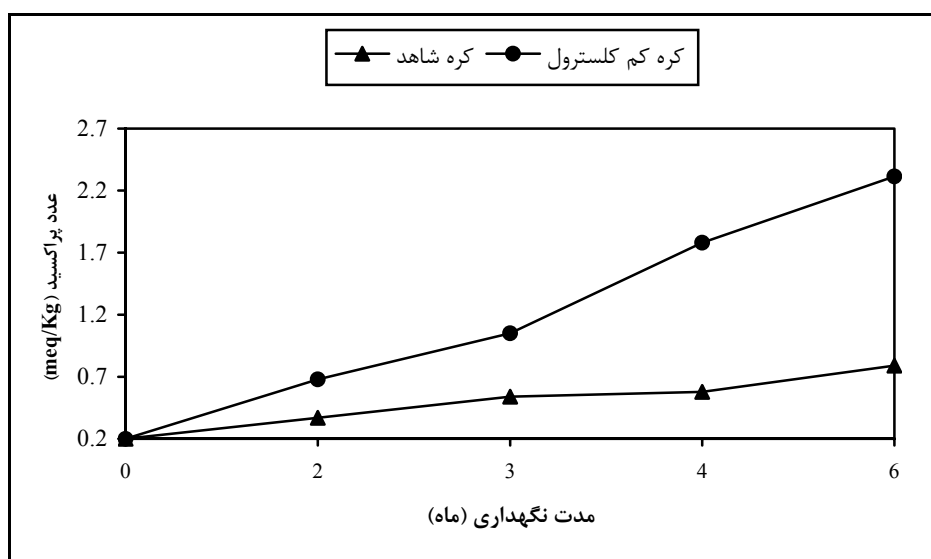
جدول ۲- درصد اسیدهای چرب روغن کره شاهد و روغن کره کم کلسترول\*

اسید چرب	نمونه	
	روغن کره شاهد	روغن کره کم کلسترول
C (4:0)	۲/۷۲±۰/۱۷	۲/۵±۰/۰۲۶
C (6:0)	۱/۴۵±۰/۰۰۱	۱/۱۹±۰/۰۱۵
C (8:0)	۱/۲۴±۰/۰۰۴	۱/۰۲±۰/۰۰۲
C (10:0)	۲/۴۵±۰/۰۴۵	۲/۲۱±۰/۰۱۲
C (12:0)	۳/۳±۰/۱۹	۳/۲±۰/۰۳
C (14:0)	۱۰/۷۶±۰/۰۰۶	۱۰/۵۱±۰/۰۰۱
C (14:1)	۱/۰۳±۰/۰۰۲	۱/۱۲±۰/۱۵
C (16:0)	۳۰/۴۴±۰/۰۳	۳۰/۷۹±۰/۱۹
C (16:1)	۰/۹۴±۰/۰۰۳	۰/۹۱±۰/۰۰۲
C (18:0)	۱۴/۲۲±۰/۰۰۲	۱۴/۵۹±۰/۰۰۵
C (18:1)	۲۷/۳±۰/۰۰۲	۲۷/۴±۰/۰۰۲
C (18:2)	۰/۹۶±۰/۰۰۲	۰/۹۹±۰/۰۰۵
C (18:3)	۰/۸۳±۰/۰۰۱	۰/۸۳±۰/۰۰۵

\*کلسترول زدایی شده با ۵ درصد  $\beta$ -CD

جدول ۴- نتایج ارزیابی حسی کره شاهد و کره کم کلسترول\* در زمان تولید و ماندگاری

ویژگی	نمونه	ویژگی** ترجیح داده شده در زمان تولید	ویژگی ترجیح داده شده ۲ ماه پس از تولید	ویژگی ترجیح داده شده ۴ ماه پس از تولید
• رنگ	کره شاهد	۱۹	۲۰	۲۰
	کره کم کلسترول	۱۱	۱۰	۱۰
• بافت	کره شاهد	۱۷	۱۵	۱۸
	کره کم کلسترول	۱۳	۱۵	۱۲
• عطر و طعم	کره شاهد	۱۳	۱۲	۱۳
	کره کم کلسترول	۱۷	۱۸	۱۷

\* کلسترول زدایی شده با ۵ درصد  $\beta$ -CD \*\* تعداد ارزیاب‌هایی که ویژگی مورد نظر را ترجیح دادندشکل ۳- تغییرات عدد اسیدی کره شاهد و کره کم کلسترول (۵٪  $\beta$ -CD) در دوره ماندگاری در دمای ۲۰°C-شکل ۴- تغییرات عدد پراکسید کره شاهد و کره کم کلسترول (۵٪  $\beta$ -CD) در دوره ماندگاری در دمای ۲۰°C-

## • بحث

فرایند فیزیکی است، تغییری در ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی روغن کره ایجاد نمی‌شود.

نتایج به دست آمده از جدول ۲ با نتایج تحقیقات سایر پژوهشگران مطابقت دارد. Yen و Tsai در سال ۱۹۹۵ ترکیب اسیدهای چرب نمونه‌های روغن لارد معمولی و کلسترول زدایی شده با ۵ درصد  $\beta$ -CD را با هم مقایسه کردند و هیچ گونه تغییری را گزارش نکردند (۷). این نتایج در سال ۲۰۰۰ توسط Yen و Chen نیز تأیید شد (۲۶). یافته‌های تحقیقات مشابه انجام شده در ایران هم با پژوهش فعلی مطابقت دارد و تغییری در ترکیب اسیدهای چرب روغن پیه و دنبه، قبل و بعد از تیمار با  $\beta$ -CD مشاهده نشده است (۱۵، ۱۴).

در فرایند تهیه کره کم کلسترول، میزان چربی، رطوبت و مواد جامد بدون چربی محصول کم کلسترول، مشابه کره شاهد فرموله شد. به همین دلیل، تفاوتی در ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی نمونه کره تولیدی با کره شاهد، مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). به منظور بررسی قوام و قابلیت پخش شدن کره روی نان، علاوه بر آزمون حسی از آزمون نفوذپذیری استفاده شد که اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد و پلاستیسیته کره کم کلسترول مشابه کره شاهد بود (۲۷).

نتایج آزمون‌های میکروبی در زمان تولید، منفی بود که دلیل آن را می‌توان کیفیت بالای کره اولیه، انجام پاستوریزاسیون روی فاز آبی، دربندی مناسب و نگهداری در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  ذکر کرد.

علت تشابه ویژگی‌های حسی نمونه کره تولیدی با کره شاهد را می‌توان یکسان بودن میزان رطوبت و مواد جامد آنها دانست. زیرا چربی، تاثیر مهمی در ویژگی‌های حسی محصول از نظر ظاهر، عطر و طعم، رنگ و بافت دارد و از آنجا که میزان چربی هردو کره، یکسان بود، تاثیر نامطلوبی در ویژگی‌های حسی کره کم کلسترول ایجاد نشد.

در دوده‌ها اخیر، مطالعات فراوانی اهمیت کاهش کلسترول را در فراورده‌های غذایی بررسی کرده‌اند. استفاده از  $\beta$ -CD یکی از راه‌های مؤثر برای جداسازی کلسترول از فراورده‌های لبنی می‌باشد، زیرا بیشتر روش‌های کلسترول زدایی، نسبتاً غیر انتخابی، عمل می‌کنند و باعث جداسازی ترکیبات مغذی به هنگام جداسازی کلسترول می‌شوند. بعضی دیگر هم به تجهیزات و فرایندهای پرهزینه نیاز دارند (۴). جذب کلسترول توسط  $\beta$ -CD به عوامل مختلفی مانند غلظت  $\beta$ -CD، مدت زمان و درجه حرارت هم‌زدن و مدت و نیروی سانتریفوژ بستگی دارد (۹). افزودن آب برای بالا بردن کارایی واکنش مهم است ولی استفاده از مقدار زیاد آب باعث کاهش تاثیر متقابل بین  $\beta$ -CD و کلسترول می‌شود (۷).

با مشاهده شکل ۲ در می‌یابیم که میزان کاهش کلسترول، ارتباط مستقیمی با نسبت  $\beta$ -CD به کار رفته در تیمارها داشت. میزان کاهش کلسترول در غلظت ۱ درصد  $\beta$ -CD، ۸/۸۲٪ بود و زمانی که غلظت  $\beta$ -CD به ۳٪ رسید، میزان کاهش کلسترول ۳۰/۹۳٪ شد. جداسازی ۷۵٪ کلسترول روغن کره با ۵ درصد  $\beta$ -CD امکان‌پذیر شد. این نتایج با تحقیقات سایر پژوهشگران، مطابقت دارد. به طوری که Ahn و Kwak در سال ۱۹۹۹ نشان دادند که با افزایش غلظت  $\beta$ -CD، میزان کاهش کلسترول خامه بیشتر می‌شود (۹). همچنین Roderbourg و همکاران در سال ۱۹۹۳ اقدام به کلسترول زدایی از روغن کره با استفاده از ۵ درصد  $\beta$ -CD کردند و توانستند ۸۰٪ کلسترول روغن کره را جدا کنند (۶). با توجه به این نتایج، می‌توان ادعا کرد که استفاده از ۵ درصد  $\beta$ -CD برای جداسازی بخش اعظم کلسترول روغن کره، مناسب است.

مقایسه یافته‌های جدول ۱ با استاندارد ملی کره (۲۵) نشان دهنده کیفیت مطلوب نمونه‌های کره مورد آزمایش است. از آنجا که فرایند کلسترول زدایی با  $\beta$ -CD یک

حد مجاز بالاتر رفت و با استفاده از شکل ۴، میزان ماندگاری محصول، ۵ ماه تعیین شد. دلیل افزایش عدد پراکسید کره تولیدی را نسبت به کره شاهد می‌توان وارد شدن هوا به داخل بافت روغن کره، حین فرایندهای کلسترول زدایی و تولید کره بازساخته در شرایط آزمایشگاهی ذکر کرد.

نتایج آزمون‌های میکروبی در ماه دوم و چهارم نیز منفی بود، ولی با توجه به بالا رفتن عدد پراکسید نمونه کره کم-کلسترول و گذشتن از حد مجاز، آزمون‌های میکروبی و ارزیابی حسی در ماه ششم انجام نشد.

با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق، استفاده از  $\beta$ -CD برای کاهش روغن کره مناسب است و می‌توان از آن برای تولید کره کم کلسترول استفاده کرد و ادامه پژوهش در مقیاس وسیع‌تر توصیه می‌شود. به کارگیری روش‌های بازیافت  $\beta$ -CD به کاهش هزینه محصول کمک خواهد کرد.

#### سپاسگزاری

بدینوسیله از مشاوره خانم دکتر گیتی کریم و آقای مهندس محمد تقی مظلومی، از مسئولان محترم کارخانه لبنیات پاک برای تامین بودجه و آقای مهندس رضا روحانی برای فراهم کردن امکان اجرای این تحقیق، سپاسگزاری می‌شود.

همچنین، با افزودن طعم دهنده به کره کم کلسترول، تاثیر منفی  $\beta$ -CD در جداسازی ترکیبات طعم‌زا جبران شد.

نتایج آزمون نفوذپذیری، تأیید کننده شباهت بافت کره تولیدی با کره شاهد است. چنین رفتاری، معمولاً از ایجاد شبکه مولکولی به هم پیوسته پخش شده در زمینه مایع ناشی می‌شود؛ مانند شبکه‌ای از کریستال‌های ریز چربی پخش شده در فاز روغن مایع کره. در فرایند تهیه کره و کره‌های بازساخته، بهتر است که شرایط فرایند طوری هدایت شود که کریستال‌های فرم  $\beta'$  تولید شوند. زیرا این نوع کریستال‌ها کوچک بوده و سطح شفاف و بافت نرم ایجاد می‌کنند. از آنجا که قوام محصول مشابه کره شاهد بود، بافت نرمی داشت و در دهان احساس شنی ایجاد نمی‌کرد، می‌توان ادعا کرد که کریستال‌های کره کم-کلسترول، به دلیل سرد کردن سریع و هم‌زدن امولسیون در موقع سرد کردن از نوع  $\beta'$  است (۲۷).

مطابق استاندارد ملی ایران، عدد اسیدی کره وارداتی و کره تولید داخل باید به ترتیب کمتر از ۰/۳ و ۰/۶ گرم درصد (بر حسب اسید اولئیک) باشد. با وجود افزایش عدد اسیدی کره شاهد و کره کم کلسترول، این اعداد تا ماه ششم در محدوده قابل قبول قرار داشتند. میزان عدد پراکسید برای کره وارداتی و کره تولید داخل، مطابق استاندارد ایران باید به ترتیب کمتر از ۱ و ۲ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم باشد. عدد پراکسید کره تولیدی در ماه ششم از

#### • References

- Mahan L K, Escott-Stump S. Nutrition in cardiovascular disease , In: Krause' s food, nutrition and diet therapy. Washington: W.B, Saunders Company;2000 : 509-548.
- Miller D G ,Jarvis K J , Mc Bean D I. Handbook of dairy foods and nutrition .New York: CRC Press; 2000: 65-101.
- Hedges A , Mc Bride C. Utilization of  $\beta$ - cyclodextrin in food .Cereal Food World. 1999; 44 (10):700-704.
- Hettinga D. Butter. In: Shahidi F(ed). Baileys industrial oil and fat products. 6th ed. vol 2 , New York, John Willey and Sons, Inc. 2005: 2-59.
- Yamamoto S, Kurihara H, Mutoh T, Xing X, Unno H. cholesterol recovery from inclusion complex of  $\beta$ -cyclodextrin and cholesterol by aeration at elevated temperatures. Biochem Eng J. 2005; 22: 197-205.
- Roderbourg H, Dalemans D, Bouhon R. Process for reducing the cholesterol and free fatty acids in an animal fat. US Patent .5, 232, 725. 1993.
- Yen GC ,Tsai LJ.Cholesterol removal from a lard-water mixture with  $\beta$ -cyclodextrin. J Food Sci. 1995;60, 3:561-564 .
- Lee DK , Ahn J , Kwak H S.Cholesterol removal from homogenized milk with  $\beta$ -cyclodextrin . J Dairy Sci. 1999;82:2327-2330 .
- Ahn J,Kwak H S.Optimizing cholesterol removal in cream using  $\beta$ -cyclodextrin and response methodology. J Food Sci. 1999 ;64 (4): 629-632.

10. Shieh W, Hedges A. Process for separating cyclodextrin from a complex. US Patent. 5, 371, 209, 1994.
11. Kim SH, Ahn J, Kwak HS. Crosslinking of  $\beta$ -cyclodextrin on cholesterol removal from milk. Arch Pharm Res. 2004; 27 (11):1183-1187.
12. Mihan E, Kim SH, Ahn J, Kwak HS. Optimizing cholesterol removal from cream using  $\beta$ -cyclodextrin cross-linked with adipic acid. Inter J Dairy Tech. 2007; 60 (1): 31-36.
13. Chiu SH, Chung TW, Giridihar R, Wu WT. Immobilization of  $\beta$ -cyclodextrin in chitosan beads for separation of cholesterol from egg yolk. Food Res Internl. 2004; 217-223.
۱۴. ظهیر اقدم حسین، زندی پروین. اثرات فرایند تصفیه و تیمار با بتاسیکلودکسترین بر میزان کاهش کلسترول پیه گاو. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران ۱۳۸۵؛ ۱(۱): ۱-۶.
۱۵. ظهیر اقدم حسین، زندی پروین. بررسی میزان کاهش کلسترول روغن دنبه طی فرایند تصفیه و تیمار با بتاسیکلودکسترین، خلاصه مقالات هشتمین کنگره تغذیه ایران؛ ۱۹-۱۶ شهریور ۱۳۸۳؛ تهران: دانشگاه علوم پزشکی ایران، ص ۳۸۶-۳۸۷.
16. AOCS. Official and tentative methods of analysis. 5th ed. Champaign, American Oil Chemists Society, 1998: Methods Cd 3d-63, Cd 8-53, Cd 3-25, Cd 5-40, Cc 1-25, Cc 7-25, Cc 16-60, Ca 2c-25.
17. Cuniff P editor. Official methods of analysis of AOAC International. 16th ed, 3rd Revision, Maryland, AOAC International. 1997; Methods 920-158, 955-34.
18. Harvey D. Modern analytical chemistry. Boston: Mc Graw Hill; 2000:110-115.
19. ISO 15884. Milk fat-preparation of fatty acid methyl esters. 2002.
20. ISO 15885. Milk fat-determination of the fatty acid composition by gas-liquid chromatography. 2002.
۲۱. استاندارد ملی شماره ۹۹۷: روش جستجو و شمارش قارچها. تجدید نظر دوم. کرج: موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۷۴.
۲۲. استاندارد ملی شماره ۱۱۹۴: روش شناسایی و شمارش استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز (+) در مواد غذایی. کرج: موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۷۴.
۲۳. استاندارد ملی شماره ۴۳۷: روش جستجو و شمارش کلی فرمها در مواد غذایی. تجدید نظر سوم، کرج: موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۷۵.
۲۴. استاندارد ملی شماره ۲۶۲۹: روش شمارش میکروارگانیزمهای سرماگرا و سرما دوست. کرج: موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۶۹.
۲۵. استاندارد ملی شماره ۱۶۲: کره. تجدید نظر چهارم، کرج: موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۷۴.
26. Yen G C, Chen C J. Effects of fractionation and the refining process of lard on cholesterol removal by  $\beta$ -cyclodextrin. J Food Sci. 2000; 65 (4): 622-624.
27. Morane D PJ, Rajah K K. Fats in food products. London: Blackie Academic Professional; 1994: 155-207.