

## ارزیابی فعالیت ضد میکروبی و قدرت رنگی کورکومین در ماکارونی

فرشته حسینی<sup>۱\*</sup> - محمد باقر حبیبی نجفی<sup>۲</sup> - مجید هاشمی<sup>۳</sup> - شادی بلوریان<sup>۴</sup> - فرشته زمان زاده<sup>۵</sup>

تاریخ دریافت: ۸۹/۳/۲۴

تاریخ پذیرش: ۹۰/۲/۱۲

### چکیده

ماکارونی از جمله اقلام رایج و پر مصرف در سید غذایی خانوارهای ایرانی است که در فرمولاسیون آن از افزودنی های رنگی جهت بالا بردن پذیرش مصرف کننده استفاده می شود. در این پژوهش تاثیر افزودن سطوح مختلف کورکومین استخراج شده از زردچوبه، به عنوان یک ترکیب رنگی طبیعی و سلامتی زا و چگونگی تاثیر آن بر میزان بار میکروبی کل، کلی فرم، میکروب های سرمادوست، کپک و مخمر و نیز ویژگیهای کالریمتریک ماکارونی در مقایسه با افزودنی های رنگی تجاری متداول نظیر بتا کاروتن و زردچوبه مورد بررسی قرار گرفته است. تیمارهای مورد آزمون شامل ماکارونی های حاوی ۵ سطح مختلف کورکومین از C1 تا C5 بصورت ۰/۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۳، ۰/۰۵ و ۰/۰۷ درصد، شاهد های مثبت، ۰/۰۷ درصد زردچوبه (Z) و ۰/۰۱ درصد بتا کاروتن (B) و شاهد منفی بصورت نمونه فاقد هر گونه افزودنی رنگی (S) بودند. تفاوت های رنگی به دو روش (ماکارونی رشته ای و ماکارونی پودر شده) با استفاده از دستگاه هانتربل و بصورت ارزش های CIELAB شامل L\* (روشنی)، a\* (قرمزج سبزی) و b\* (زردج آبی) ثبت گردیده و تفاوت رنگ سنجی (E) تیمارها محاسبه گردید. نتایج آنالیز داده ها و مقایسه میانگین ها نشان داد میان غلظت کورکومین مورد استفاده در فرمولاسیون ماکارونی و میزان کل میکروارگانیسم ها و کپک و مخمر موجود در آن، رابطه ای خطی برقرار است به طوری که با افزایش غلظت کورکومین میزان کل بار میکروبی و کپک و مخمر کاهش نشان می دهد. همچنین ماکارونی های رشته ای حاوی کورکومین در غلظت برابر با بتا کاروتن دارای رنگ روشن تر (L\* بالاتر)، قرمزی کمتر (a\* پایین تر) و زردی تقریباً برابر (b\* مشابه) بودند، به طوری که در صورت استفاده از ۰/۰۳ درصد کورکومین در فرمولاسیون ماکارونی، تفاوت رنگ ایجاد شده (E) در محصول نسبت به نمونه شاهد بدون رنگ، معادل کاربرد ۰/۰۷ زردچوبه و ۰/۰۱ درصد بتا کاروتن می باشد.

واژه‌های کلیدی: ماکارونی، کورکومین، ضد میکروب، هانتربل، زردچوبه

### مقدمه

امروزه سطح آگاهی مصرف کنندگان و تولید کنندگان در ارتباط با مشکلات ناشی از مصرف غذاهای ناسالم رو به افزایش است، بنابراین تقاضا برای مواد طبیعی بهبود دهنده سلامت روز به روز افزوده می گردد. از جمله گیاهانی که در سالهای اخیر به دلیل وجود مواد موثره

طبیعی و ایمن بسیار مورد توجه واقع شده است، گیاه زردچوبه می باشد. کورکومین با نام شیمیایی دی فرولیل متان (C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>)، یک پلی فنل هیدروفوب مشتق شده از ریزوم گیاه زردچوبه (*Curcuma Longa*) است. ریزوم زردچوبه محتوی سه آنالوگ رنگی مهم می باشد: کورکومین، دمتوکسی کورکومین (DMC) و بیس دمتوکسی کورکومین (BDMC) که در مجموع کورکومینوئیدها نامیده می شوند. این ترکیبات عامل ایجاد رنگ زرد در زردچوبه هستند که در موقعیت گروه متوکسی بر روی حلقه آروماتیک با یکدیگر متفاوتند. در میان این سه کورکومینوئید، کورکومین در زردچوبه از همه فراوانتر است (۵).

زردچوبه به سبب ویژگیهای منحصر به فرد سلامتی زایی اش در سراسر جهان به عنوان یک ماده غذایی فانکشنال شناخته شده است. امروزه مطالعات مختلف نشان داده اند که کورکومین زردچوبه دارای

۱ دانشجوی دکتری میکروبیولوژی مواد غذایی دانشگاه فردوسی مشهد و عضو هیئت علمی گروه افزودنی های غذایی جهاد دانشگاهی مشهد.

(\*) نویسنده مسئول: Email: fereshtehosseini@yahoo.com

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

۳ دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد و عضو گروه افزودنی های غذایی جهاد دانشگاهی مشهد.

۴ عضو هیئت علمی گروه افزودنی های غذایی جهاد دانشگاهی مشهد

۵ مدیر کنترل کیفیت شرکت ماکارونی ۲۰۰۱

خمیر ماکارونی طبق فرمولاسیون مشخص و یکنواخت در خط تولید کارخانه ماکارونی ۲۰۰۱ تولید گردید. کورکومین در ۵ سطح مختلف از C1 تا C5 بصورت ۰/۰۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۳، ۰/۰۵ و ۰/۰۷ درصد در فرمولاسیون‌ها افزوده شد. همچنین نمونه‌هایی با فرمولاسیون مشابه و ۰/۰۷ درصد زردچوبه (Z) و ۰/۰۱ درصد بتا کاروتن (B) به عنوان شاهد مثبت و نمونه فاقد هر گونه افزودنی رنگی (S) به عنوان شاهد منفی تولید شدند. پس از طی مراحل فرم‌گیری، گرمخانه‌گذاری و برش، نمونه‌ها در بسته بندی سلوفانی و در وزن‌های ۷۰۰ گرمی توزین و درب بندی شده و تا زمان انجام آزمایش در دمای محیط نگهداری گردیدند.

### آزمون‌های شیمیایی

اندازه‌گیری پروتئین کل مطابق استاندارد (AOAC, 2003) شماره ۹۲۰.۸۷ و با استفاده از دستگاه کلدال با مارک Gerhardt مدل VAP۲۰، ساخت آلمان انجام شد.

خاکستر کل و خاکستر نامحلول در اسید مطابق استاندارد (AOAC, 2003) شماره ۹۲۳.۰۳ تعیین شد.

مقدار چربی بر اساس روش (AOAC, 2003) شماره ۹۲۲.۶ و با استفاده از دستگاه سوکسله ساخت شرکت Funke تعیین گردید.

رطوبت مطابق استاندارد (AOAC, 2003) شماره 926.07 اندازه‌گیری شد. آون مورد استفاده جهت اندازه‌گیری رطوبت با مارک Bindep، مدل ۲۴۰ E، ساخت کشور آلمان و ترازوی آزمایشگاهی با مارک A&D مدل FX ۳۰۰۰، ساخت ژاپن بودند.

pH با استفاده از دستگاه pH متر با مارک HTC اندازه‌گیری شد.

لازم به ذکر است که کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده در آزمون‌ها از نوع آزمایشگاهی و ساخت شرکت مرک آلمان بودند و آزمون‌های شیمیایی نمونه‌ها در ۲ تکرار انجام شدند.

### آزمون میکروبی

به منظور تعیین تعداد کل میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌های آرد و ماکارونی، محیط کشت پلیت کانت آگار (PCA) مورد استفاده قرار گرفت. از تیمارهای مختلف ماکارونی نمونه‌هایی همگن در ۳ رقت متوالی (برای آرد ۶ رقت متوالی) تهیه و در دو تکرار در پلیت‌های استریل کشت داده شدند. پلیت‌ها پس از گرمخانه‌گذاری در دمای  $30 \pm 1$  درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت، از نظر رشد پرگنه‌ها ارزیابی شده و تعداد پرگنه‌های موجود در آنها شمارش گردید. همچنین به منظور تعیین تعداد کل میکروارگانیسم‌های سرمدوست احتمالی نیز همین محیط کشت در دمای ۴ درجه سانتیگراد (یخچال) مورد استفاده قرار گرفت و پس از ۴۸ ساعت پلیت‌های کشت داده

ویژگی‌های عملکردی چشمگیری است و در تحقیقات محققان خواص متفاوتی از این ترکیب از جمله: فعالیت ضد تومور و ضد سرطان، کاهش سطح کلسترول خون و کبد، افزایش عملکرد ایمنی بدن، بازدارندگی از بیماری‌های قلبی-عروقی، جلوگیری از آسیب غشاهای زیستی در مقابل پراکسیداسیون، خاصیت ضد التهاب و کاهش آرتروز روماتیسمی، حفاظت در مقابل بیماری آلزایمر و اثرات حفاظتی در مقابل آفات ناکسین B1 گزارش شده است (۸،۱۱،۱۲،۱۴،۱۸).

محققان مختلفی اثرات ضد میکروبی زردچوبه و ترکیبات استحصالی از آن مانند کورکومین، روغن زردچوبه، عصاره زردچوبه و ... را بر روی میکروارگانیسم‌های مختلف بصورت *invitro* مورد بررسی قرار داده‌اند (۲،۳،۷،۱۳،۱۵،۱۷).

در حال حاضر ماکارونی و محصولات خمیری (پاستا)، به عنوان یکی از مقبول‌ترین غذاهای دنیا مصرف می‌شوند و جایگاه این محصول در سبد غذایی خانواده‌های ایرانی نیز تا حدود زیادی تثبیت شده است. میزان مصرف سالانه ماکارونی در ایران  $35/000/000$  هزار تن می‌باشد که مصرف سرانه آن برای هر نفر ۵ کیلوگرم در سال محاسبه شده است. در ایران به علت کمبود گندم در داخل و گرانی گندم وارداتی، به جزء تعداد محدودی از شرکت‌ها مابقی به جای آرد سمولینا از آرد نول استفاده می‌نمایند که کیفیت و رنگ این محصول را به شدت تحت تاثیر قرار می‌دهد. از این رو افزودنی‌های مختلف به منظور افزایش کیفیت رنگی و خواص تغذیه‌ای این محصول مورد استفاده قرار می‌گیرند (۴).

از آنجا که اطلاعاتی پیرامون کاربرد کورکومین در سیستم‌های غذایی مختلف نظیر ماکارونی و نحوه اثر آن بر بار میکروبی در این محصولات در دست نیست و نیز با توجه به اثرات سلامتی زایی چشمگیر کورکومین و مصرف بالای ماکارونی در سبد غذایی خانوارهای ایرانی و علاقمندی کودکان به مصرف این محصولات، در این پژوهش با رویکرد بهبود ارزش تغذیه‌ای و افزایش سطح سلامت فرآورده‌های غذایی، تاثیر افزودن سطوح مختلف کورکومین بر ویژگی‌های رنگی، میزان بار میکروبی کل، کلی فرم، میکروب‌های سرمدوست، کپک و مخمر در ماکارونی بررسی شده و با افزودنی‌های رنگی متداول نظیر بتا کاروتن و زردچوبه مقایسه گردیده است.

### مواد و روش‌ها

#### تولید ماکارونی

آرد مصرفی در تهیه ماکارونی از شرکت آرد رضا تهیه و آزمون‌های شیمیایی شامل رطوبت، خاکستر، پروتئین و چربی بر روی آن انجام شد. کورکومین و بتا کاروتن مورد استفاده از شرکت سیگما و زردچوبه از بازار محلی تهیه گردید. در تمام تیمارهای پیش‌بینی شده،

شده ارزیابی گردیدند (۹).

برای تعیین میزان کلی فرم کل، محیط کشت و ابولت رد بایل آگار (VRBA) مورد استفاده قرار گرفت. پس از انجام کشت در محیط استریل و در دو تکرار برای هر نمونه و هر رقت، پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در  $37 \pm 1$  درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شده و سپس مورد بررسی قرار گرفتند (۹).

همچنین جهت تعیین میزان کپک و مخمر محیط مالت اکسترکت آگار (MEA) بکار گرفته شد و نمونه ها پس از گرمخانه گذاری در دمای  $25 \pm 1$  درجه سانتیگراد به مدت ۵ روز شمارش گردیدند (۹).

محیط کشت های بکارگرفته شده همگی محصول شرکت مرک آلمان بودند.

$b^* =$  تفاوت \* b نمونه و شاهد منفی (نمونه فاقد رنگ) می باشد.

### روش آماری

آزمایش فوق در قالب طرح فاکتوریل انجام شده و آنالیز واریانس و مقایسه میانگین ها با استفاده از نرم افزار MSTAT-C و آزمون LSD صورت گرفت. برای رسم نمودار نرم افزار EXCEL استفاده شد.

### نتایج و بحث

#### نتایج آزمون های شیمیایی

جدول ۱ ویژگیهای شیمیایی آرد مصرفی را نشان می دهد که بر اساس نتایج آزمایشات، این ویژگی ها مطابق با مندرجات استاندارد ملی ایران است. در جدول ۲ ویژگیهای شیمیایی تیمارهای تولید شده آورده شده است. از آنجا که پایه اصلی فرمولاسیون نمونه های ماکارونی در همه تیمارها یکسان در نظر گرفته شد، تفاوت چشمگیری در نتایج آزمون های شیمیایی نمونه ها مورد انتظار نبود که داده های حاصل از انجام آزمایش های شیمیایی نیز این امر را تایید می کنند.

#### نتایج آزمون میکروبی

داده های حاصل از شمارش کلی میکروارگانیسم ها، میکروارگانیسم های سرمدوست، کلی فرم ها و کپک و مخمر در نمونه های ماکارونی در جدول ۳ نشان داده شده است.

همانگونه که در جدول ۳ مشاهده می شود، میزان کل بار میکروبی ماکارونی های فاقد افزودنی رنگی، نزدیک به بار میکروبی آرد اولیه می باشد. با توجه به آنکه حرارت مورد استفاده در فرایند تجاری تولید ماکارونی به حدی بالا نیست که تاثیر قابل ملاحظه ای بر کاهش فلور میکروبی محصول بگذارد، این امر دور از انتظار نیست. از سوی دیگر نتایج نشان می دهد که میزان کل بار میکروبی ماکارونی های حاوی کورکومین نسبت به آرد اولیه پایین تر است و با افزایش غلظت کورکومین مصرفی در تیمارها، تعداد کل میکروارگانیسم ها روند کاهشی داشته است. تاثیر کورکومین بر کاهش میزان بار میکروبی در غلظت های بالاتر یعنی ۰/۰۵ و ۰/۰۷ درصد کاملاً مشخص بوده و اثر ممانعت کنندگی از رشد میکروارگانیسم ها نشان داده است (شکل ۱). همچنین زردچوبه با وجود غلظت بالا (۰/۰۷ درصد) تاثیر چشمگیری بر تعداد میکروارگانیسم ها در مقایسه با کورکومین نداشته است. از سوی دیگر بر اساس نتایج موجود در جدول ۳، نمونه های دارای بتا کاروتن، بار میکروبی کمتری نسبت به ماکارونی های فاقد افزودنی رنگی و نمونه آرد اولیه داشته اند و نیز از مقایسه داده ها نتیجه می شود که تاثیر

#### ارزیابی قدرت رنگ

به منظور ارزیابی قدرت رنگی کورکومین در ماکارونی در مقایسه با نمونه های شاهد، رنگ نمونه ها با استفاده از دستگاه هانتربل مدل colorflex ساخت امریکا اندازه گیری شد. آماده سازی نمونه ها به دو روش صورت گرفت. در روش اول رشته های ماکارونی با کمک آسیاب به مدت ۴۵ ثانیه خرد شده و سپس از الک با مش ۳۰ عبور داده شدند، به منظور یکنواخت بودن قطر نمونه ها، ۵ گرم از پودر حاصل در فنجانک دستگاه ریخته شده و آزمون رنگ سنجی انجام شد (۱۰). در روش دوم رشته های ماکارونی بصورت موازی در چند لایه و تا پر شدن فنجانک رویهم قرار داده شده و ارزش های رنگی آنها مورد اندازه گیری قرار گرفت (۱۶).

تفاوت های رنگی در دو روش بصورت ارزش های CIELAB شامل  $L^*$  (روشنی)،  $a^*$  (قرمز-سبزی) و  $b^*$  (زرد-آبی) ثبت گردید. رنگ سنج با استفاده از صفحه سیاه و سفید ( $x=77.25$ ,  $y=82.09$ ,  $z=87.27$ ) استاندارد شد. برای هر نمونه فنجانک در ۶ زاویه مختلف قرار گرفته و در هر زاویه ارزش های فوق قرائت گردید. پارامتر  $C^*$  یا کروما از طریق تبدیل مختصات کارترین ( $a^*$ ,  $b^*$ ) به مختصات قطبی بر اساس فرمول زیر به دست آمد (۱۹):

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (1)$$

برای بدست آوردن همستگی بهتر بین تفاوت های کالریمتریک و دیداری، تفاوت رنگ سنجی E برای هر نمونه از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (2)$$

که در آن:

$L^*$  = تفاوت \* L نمونه و شاهد منفی (نمونه فاقد رنگ)

$a^*$  = تفاوت \* a نمونه و شاهد منفی (نمونه فاقد رنگ)

۰/۰۱ درصد بتا کاروتن بر کاهش بار میکروبی ماکارونی مشابه ۰/۰۱ درصد کورکومین بوده است.

جدول ۱ نتایج آزمون‌های شیمیایی آرد

| رطوبت (%) | پروتئین (%) | pH   | خاکستر کل (%) | خاکستر نامحلول در اسید (%) | چربی (%) |
|-----------|-------------|------|---------------|----------------------------|----------|
| ۱۳/۲      | ۱۰/۱۱       | ۶/۱۸ | ۰/۴۴          | ۰/۰۴                       | ۰/۸۵     |

جدول ۲ نتایج آزمون‌های شیمیایی نمونه‌ها

| ویژگی‌های شیمیایی<br>* تیمارها | رطوبت (%) | پروتئین (%) | pH   | خاکستر کل (%) | خاکستر نامحلول در اسید (%) | کل مواد جامد در آب پخت (لغاب پخت) (%) |
|--------------------------------|-----------|-------------|------|---------------|----------------------------|---------------------------------------|
| C1                             | ۸/۲       | ۹/۸۸        | ۵/۸  | ۰/۴۱          | ۰/۰۳                       | ۸/۶۸                                  |
| C2                             | ۸/۲       | ۹/۹۸        | ۵/۹۴ | ۰/۴۳          | ۰/۰۲                       | ۸/۹۲                                  |
| C3                             | ۸/۴       | ۹/۷۸        | ۵/۷۸ | ۰/۴۴          | ۰/۰۳                       | ۸/۷۶                                  |
| C4                             | ۸/۲       | ۹/۷۵        | ۵/۵۸ | ۰/۴۳          | ۰/۰۱                       | ۸/۸۴                                  |
| C5                             | ۸/۴       | ۹/۷۸        | ۵/۸۰ | ۰/۴۴          | ۰/۰۳                       | ۸/۴۸                                  |
| Z                              | ۸/۳       | ۹/۳۵        | ۵/۸۴ | ۰/۴۸          | ۰/۰۳                       | ۸/۱۶                                  |
| B                              | ۸/۴       | ۹/۷۱        | ۵/۶۳ | ۰/۵۱          | ۰/۰۷                       | ۸/۴۴                                  |
| S                              | ۸/۳       | ۹/۱۷        | ۵/۴  | ۰/۴۷          | ۰/۰۳                       | ۸/۶                                   |

\* C1: ۰/۰۰۵ درصد کورکومین، C2: ۰/۰۱ درصد کورکومین، C3: ۰/۰۳ درصد کورکومین، C4: ۰/۰۵ درصد کورکومین، C5: ۰/۰۷ درصد کورکومین، Z: ۰/۰۷ درصد زردچوبه، B: ۰/۰۱ درصد بتا کاروتن، S: نمونه فاقد افزودنی رنگی

جدول ۳ نتایج آزمون‌های میکروبی نمونه‌های ماکارونی

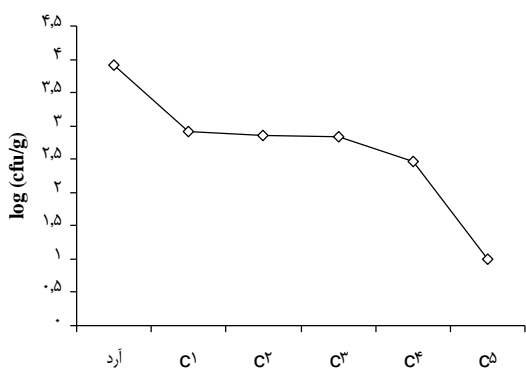
| تیمارها * | میکروارگانیزم کل (cfu/g) | میکروارگانیزم‌های سرمدوست (cfu/g) | کلی فرم کل (cfu/g) | کپک و مخمر (cfu/g) |
|-----------|--------------------------|-----------------------------------|--------------------|--------------------|
| آرد       | ۳/۹۰۴±۰/۵۳               | <۱۰                               | <۱۰                | ۲/۳۹۹±۰/۶۷         |
| C1        | ۲/۹۱۰±۰/۸۴               | <۱۰                               | <۱۰                | ۲/۴۱۲±۰/۳۷         |
| C2        | ۲/۸۵۸±۰/۳۸               | <۱۰                               | <۱۰                | ۲/۴۵۹±۰/۹۵         |
| C3        | ۲/۸۴۶±۰/۶۳               | <۱۰                               | <۱۰                | ۲/۱۳۳±۱/۲۰         |
| C4        | ۲/۴۶۰±۰/۷۵               | <۱۰                               | <۱۰                | ۱/۴۳۴±۰/۵۱         |
| C5        | ۱±۰                      | <۱۰                               | <۱۰                | ۱±۰                |
| Z         | ۳/۱۲۸±۰/۶۵               | <۱۰                               | <۱۰                | ۱/۳۲±۰/۵۱          |
| B         | ۲/۸۶±۱/۴۷                | <۱۰                               | <۱۰                | ۱/۴۳±۰/۳۸          |
| S         | ۳/۰۶۳±۱/۱۵               | <۱۰                               | <۱۰                | ۱/۲۳۳±۰/۴۰         |

\* C1: ۰/۰۰۵ درصد کورکومین، C2: ۰/۰۱ درصد کورکومین، C3: ۰/۰۳ درصد کورکومین، C4: ۰/۰۵ درصد کورکومین، C5: ۰/۰۷ درصد کورکومین، Z: ۰/۰۷ درصد زردچوبه، B: ۰/۰۱ درصد بتا کاروتن، S: نمونه فاقد افزودنی رنگی

کورکومین را بر ضد ۱۵ گونه درماتوسیت، ۴ گونه کپک بیماریزا و ۶ گونه مخمر مورد بررسی قرار داده و گزارش کردند که همه ۶ گونه مخمر مورد آزمون شامل چهار زیرگونه *Candida albicans*، یک

لازم به ذکر است که گزارشی از پژوهش‌های دیگر پیرامون نحوه تاثیر کورکومین بر بار میکروبی ماکارونی در دست نیست، اما محققان مختلف اثرات ضد میکروبی این ماده و سایر ترکیبات زردچوبه را بر روی میکروارگانیزم‌های متفاوت مورد ارزیابی قرار داده اند. از جمله: آپیساریاکول و همکاران (۱۹۹۵) تاثیرات ضد میکروبی

رشد کپک و مخمر نشان داده است و ۰/۰۷ درصد زردچوبه و ۰/۰۱ درصد بتا کاروتن نیز اثر بازدارندگی مشابهی با ۰/۰۵ درصد کورکومین از خود نشان داده اند. لازم به توضیح است که فرایندهای تحت فشار بیرون آمدن خمیر ماکارونی از قالب و خشک کردن، خود سبب کاهش بار میکروبی خمیر می شود. از سوی دیگر با اضافه شدن رطوبت و مواد افزودنی به آرد در تولید ماکارونی، میکروکوسی ها، کلی فرم ها و انواع باسیلوس و کپک قادر به رشد می باشند که اگر شرایط برای فعالیت آنها فراهم باشد، می توانند سبب ایجاد تغییرات مختلف از جمله تولید اسید لاکتیک، الکل، استن، اسید لاکتیک و ... در ماکارونی شده و کیفیت آن را تحت تاثیر قرار دهند (۱). بدن ترتیب ماهیت ضد میکروبی افزودنی های مورد استفاده در فرمولاسیون ماکارونی و مجموعه عوامل فوق، در نهایت تعیین کننده میزان کل بار میکروبی ماکارونی خواهد بود.



شکل ۴ روند تاثیر غلظت های مختلف کورکومین بر شمارش کلی میکروارگانیزم ها

### نتیجه آزمون ارزیابی قدرت رنگ

نتایج ارزیابی رنگ نمونه های ماکارونی بصورت رشته ای در جدول ۴ نشان داده شده است. همانطور که ملاحظه می شود میزان (\*L)، روشنی نمونه های حاوی کورکومین نسبت به نمونه شاهد حاوی بتا کاروتن به طور معنی دار بالاتر است ( $p < 0.05$ ). با افزایش غلظت کورکومین در فرمولاسیون ماکارونی ها، میزان روشنی ماکارونی کاهش نشان می دهد بطوریکه ماکارونی های بدون رنگ، روشن تر از نمونه های ماکارونی حاوی غلظت های بیش از ۰/۰۱ درصد کورکومین می باشند.

در مقایسه نمونه های حاوی کورکومین با شاهد بتا کاروتن دار، مشاهده می شود که میزان قرمزی (\*a) نمونه های حاوی ۰/۰۱ درصد بتا کاروتن بطور معنی دار بالاتر از نمونه های حاوی کورکومین است. افزایش غلظت کورکومین سبب افزایش میزان قرمزی ماکارونی می شود، اما حتی در بالاترین غلظت مورد استفاده (۰/۰۷

زیرگونه کاندیدیا تروپیکالیس<sup>۱</sup> و یک زیرگونه کاندیدیا استلاتوئید<sup>۲</sup> در برابر کورکومین حساس می باشند، اما این ترکیب تاثیر بازدارندگی بر درماتوسیت ها و کپک های بیماریزای مورد استفاده در پژوهش نداشته است. جایا پراکاشا و همکاران (۲۰۰۱) برای روغن زردچوبه فعالیت ضد قارچی قابل توجهی را در برابر *آسپرژیلوس فلاووس*<sup>۳</sup>، *آسپرژیلوس پارازیتیکوس*<sup>۴</sup>، *فوزاریوم مونیلی فرم*<sup>۵</sup> و *پنی سیلیوم دیجیتاتوم*<sup>۶</sup> گزارش کردند. تانگسون و همکاران (۲۰۰۴) برای عصاره الکلی استخراج شده از زردچوبه با کمک روش فراصوت با شدت بالا فعالیت ضد میکروبی در برابر *سالمونلا* و *لیستریا* گزارش کردند. پرت آلمدیا و همکاران (۲۰۰۸) اثرات ضد میکروبی پودر زردچوبه، کورکومین تجاری، کورکومینوئیدهای خالص شده و روغن زردچوبه را بر روی رشد چند سوبه مختلف باکتری و مخمر مورد بررسی قرار دادند. این محققان گزارش کردند که تاثیرات بازدارندگی روغن زردچوبه در مقایسه با آنتی بیوتیک های متداول نظیر کلرامفنیکل و آنفوتربسین چشمگیری می باشد. شفقی اصل و همکاران (۱۳۸۴) اثر ضد باکتریایی عصاره آبی و الکلی زردچوبه بر رشد ۵ سوبه هلیکوباکتر پیلوری<sup>۷</sup> (شایع ترین عامل زخم معده) مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که خاصیت بازدارندگی عصاره زردچوبه بر رشد هلیکوباکتر قابل توجه می باشد. عطایی و همکاران (۱۳۸۶) نیز در تحقیق خود اثر ضد قارچی عصاره زردچوبه بر سوش استاندارد *کاندیدیا آلبیکانس* را چشمگیر دانستند.

در بررسی میزان میکروارگانیزم های سرمادوست و کلی فرم ها در پلیت های مورد شمارش نمونه آرد و کلیه تیمارهای ماکارونی، پرگنه ای مشاهده نشد. لازم به ذکر است که چون نمونه ها جامد بوده و امکان کشت مستقیم آنها بدون رقیق سازی وجود نداشت و در اولین رقت (رقت ۱ +) پرگنه ای وجود نداشت، تعداد میکروارگانیزم های سرمادوست و کلی فرم ها کمتر از ۱۰ در هر گرم گزارش شده است (جدول ۳).

از بررسی نتایج اندازه گیری کپک و مخمر در نمونه ها مشاهده می شود که در کلیه تیمارهای ماکارونی میزان کپک و مخمر نسبت به آرد اولیه پایین تر است، به طوری که نمونه شاهد بدون رنگ نیز دارای میزان کمتری کپک و مخمر نسبت به آرد اولیه می باشد. همچنین بر اساس نتایج بدست آمده در جدول ۳، در تیمارهای حاوی کورکومین تاثیرات ضد کپک و مخمر از غلظت ۰/۰۳ به بالا چشمگیر است و در بالاترین غلظت یعنی ۰/۰۷ درصد اثر ممانعت کنندگی بر

- 1 -Candida tropicalis
- 2 -Candida stellatoidea
- 3 -Aspergillus flavous
- 4 -Aspergillus parasiticus
- 5 -Fusarium moniliform
- 6 -Penicillium digitatum
- 7- Helicobacter pylori

۰/۰۳ درصد بیشتر کورکومین، میزان کرومای رنگ نمونه های ماکارونی نسبت به نمونه های حاوی بتا کاروتن و زردچوبه افزایش نشان می دهد.

نتایج محاسبه تفاوت های کالریمتریک تیمارها با نمونه شاهد بدون رنگ حاکی از آن است که میزان E با افزایش غلظت کورکومین، افزایش معنی داری نشان می دهد و در غلظت ۰/۰۷ درصد این تفاوت به حداکثر مقدار خود می رسد. همچنین در مقایسه با بتا کاروتن و زردچوبه، تفاوت رنگی ایجاد شده توسط کورکومین در غلظت ۰/۰۳ درصد (۲۲/۴۲)، نسبت به غلظت ۰/۰۷ زردچوبه (۱۹/۸۳) و ۰/۰۱ بتا کاروتن (۲۱/۴۰) بیشتر است. به عبارت دیگر در صورت استفاده از ۰/۰۳ درصد کورکومین در فرمولاسیون ماکارونی، تفاوت رنگ ایجاد شده در محصول نسبت به نمونه شاهد بدون رنگ، حداقل معادل کاربرد ۰/۰۷ زردچوبه و ۰/۰۱ درصد بتا کاروتن و یا بیشتر خواهد بود (جدول ۵).

درصد کورکومین)، ارزش a\* نسبت به نمونه دارای ۰/۰۱ بتا کاروتن کمتر است. لازم به ذکر است که استفاده از کورکومین نسبت به شاهد بدون رنگ، میزان قرمزی را به طور معنی دار افزایش می دهد. با مشاهده داده های حاصل از اندازه گیری b\* در تیمارهای مورد آزمون، می توان نتیجه گرفت که استفاده از افزودنی های رنگی بتا کاروتن، زردچوبه و کورکومین، میزان b\* و به عبارت دیگر زردی نمونه ها را نسبت به ماکارونی های فاقد رنگ بطور معنی دار افزایش می دهد. در این میان، در نمونه های کورکومین دار با افزایش غلظت کورکومین، زردی ماکارونی ها افزایش می یابد که از غلظت بیش از ۰/۰۳ درصد، این افزایش نسبت به نمونه های حاوی بتا کاروتن و زردچوبه بطور معنی دار بالاتر است (p < ۰/۰۵).

کروما معیار تفاوت یک رنگ از رنگ خاکستری می باشد و بصورت معیار خلوص تعریف می شود. محاسبه میزان کروما در نمونه ها حاکی از افزایش میزان کروما متناسب با افزایش غلظت کورکومین است و نمونه شاهد بدون رنگ کرومای پایین تری نسبت به سایر تیمارها نشان می دهد. همچنین مشابه میزان b\*، از غلظت

جدول ۴ نتایج ارزیابی ویژگی های رنگی نمونه های ماکارونی بصورت رشته ای

| تیمارها | L*                      | a*                      | b*                      | C*         |
|---------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------|
| C1      | ۶۲/۹۱±۰/۰۳ <sup>a</sup> | ۴/۹±۰/۰۲ <sup>g</sup>   | ۴۸/۱۳±۰/۰۹ <sup>f</sup> | ۴۸/۳۸±۰/۰۹ |
| C2      | ۶۱/۶۳±۰/۰۴ <sup>c</sup> | ۵/۹۳±۰/۰۸ <sup>e</sup>  | ۵۵/۴۳±۰/۱۹ <sup>e</sup> | ۵۵/۷۶±۰/۱۹ |
| C3      | ۶۱/۵۵±۰/۰۶ <sup>c</sup> | ۶/۰۳±۰/۰۳ <sup>d</sup>  | ۶۰/۰۲±۰/۱۲ <sup>b</sup> | ۶۰/۳۱±۰/۱۲ |
| C4      | ۵۹/۹۷±۰/۱۴ <sup>e</sup> | ۸/۷۷±۰/۰۳ <sup>c</sup>  | ۵۹/۹۹±۰/۱۲ <sup>b</sup> | ۶۰/۶۲±۰/۱۲ |
| C5      | ۵۹/۲۹±۰/۱۰ <sup>f</sup> | ۱۰/۰۴±۰/۰۶ <sup>b</sup> | ۶۱/۱۶±۰/۲۱ <sup>a</sup> | ۶۱/۹۸±۰/۲۱ |
| Z       | ۶۰/۷۸±۰/۰۵ <sup>d</sup> | ۵/۰۶±۰/۰۱ <sup>f</sup>  | ۵۷/۴۲±۰/۲۰ <sup>c</sup> | ۵۷/۶۴±۰/۲۰ |
| B       | ۵۹/۲۳±۰/۰۱ <sup>f</sup> | ۱۴/۷۶±۰/۰۱ <sup>a</sup> | ۵۶/۴۵±۰/۰۹ <sup>d</sup> | ۵۸/۳۵±۰/۰۹ |
| S       | ۶۱/۸۰±۰/۰۳ <sup>b</sup> | ۴/۹۱±۰/۰۱ <sup>g</sup>  | ۳۷/۶۲±۰/۰۵ <sup>g</sup> | ۳۷/۹۴±۰/۰۵ |

\* C1: ۰/۰۵ درصد کورکومین، C2: ۰/۰۱ درصد کورکومین، C3: ۰/۰۳ درصد کورکومین، C4: ۰/۰۵ درصد کورکومین، C5: ۰/۰۷ درصد کورکومین، Z: ۰/۰۷ درصد زردچوبه، B: ۰/۰۱ درصد بتا کاروتن، S: نمونه فاقد افزودنی رنگی

جدول ۵ تفاوت کالریمتریک تیمارهای ماکارونی با نمونه شاهد بدون رنگ بصورت رشته ای

| تیمارها | C1                      | C2                      | C3                      | C4                      | C5                      | Z                       | B                      |
|---------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| E       | ۱۰/۵۷±۰/۱۳ <sup>g</sup> | ۱۷/۸۵±۰/۱۹ <sup>f</sup> | ۲۲/۴۲±۰/۱۱ <sup>c</sup> | ۲۲/۷۶±۰/۱۶ <sup>b</sup> | ۲۴/۲۲±۰/۲۳ <sup>a</sup> | ۱۹/۸۳±۰/۲۰ <sup>e</sup> | ۲۱/۴۰±۰/۱ <sup>d</sup> |

\* C1: ۰/۰۵ درصد کورکومین، C2: ۰/۰۱ درصد کورکومین، C3: ۰/۰۳ درصد کورکومین، C4: ۰/۰۵ درصد کورکومین، C5: ۰/۰۷ درصد کورکومین، Z: ۰/۰۷ درصد زردچوبه، B: ۰/۰۱ درصد بتا کاروتن

جدول ۶ نتایج ارزیابی ویژگی های رنگی نمونه های ماکارونی بصورت پودر شده

| تیماها | L*                      | a*                     | b*                      | C*         |
|--------|-------------------------|------------------------|-------------------------|------------|
| C1     | 87/2±0/07 <sup>a</sup>  | 1/08±0/42 <sup>d</sup> | 24/14±0/21 <sup>e</sup> | 24/16±0/21 |
| C2     | 86/49±0/26 <sup>b</sup> | 1/72±0/05 <sup>e</sup> | 39/29±0/28 <sup>d</sup> | 39/33±0/28 |
| C3     | 85/44±0/13 <sup>c</sup> | 1/68±0/18 <sup>e</sup> | 42/31±0/29 <sup>c</sup> | 42/34±0/29 |
| C4     | 85/34±0/34 <sup>c</sup> | 1/32±0/03 <sup>c</sup> | 50/34±0/25 <sup>b</sup> | 50/34±0/25 |
| C5     | 84/43±0/12 <sup>d</sup> | 1/79±0/22 <sup>b</sup> | 52/43±0/26 <sup>a</sup> | 52/43±0/28 |
| Z      | 86/53±0/06 <sup>b</sup> | 2/79±0/03 <sup>f</sup> | 39/34±0/17 <sup>d</sup> | 39/44±0/17 |
| B      | 85/41±0/20 <sup>c</sup> | 3/43±0/36 <sup>a</sup> | 23/50±0/96 <sup>f</sup> | 23/75±0/99 |
| S      | 87/15±0/15 <sup>a</sup> | 1/37±0/05 <sup>c</sup> | 20/32±0/13 <sup>g</sup> | 20/32±0/13 |

\* C1: 0/05 درصد کورکومین، C2: 0/1 درصد کورکومین، C3: 0/03 درصد کورکومین، C4: 0/05 درصد کورکومین، C5: 0/07 درصد کورکومین، Z: 0/07 درصد زردچوبه، B: 0/1 درصد بتا کاروتن، S: نمونه فاقد افزودنی رنگی

جدول ۷ تفاوت کالریمتریک تیمارهای ماکارونی با نمونه شاهد بدون رنگ بصورت پودر شده

| تیماها | C1                       | C2                         | C3                         | C4                         | C5                         | Z                          | B                        |
|--------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|
| E      | 8±0/25 3/88 <sup>e</sup> | 19±0/32 19/03 <sup>d</sup> | 23±0/31 23/09 <sup>c</sup> | 30±0/27 30/07 <sup>b</sup> | 32±0/32 32/24 <sup>a</sup> | 19±0/23 19/19 <sup>d</sup> | 5±0/14 5/26 <sup>f</sup> |

\* C1: 0/05 درصد کورکومین، C2: 0/1 درصد کورکومین، C3: 0/03 درصد کورکومین، C4: 0/05 درصد کورکومین، C5: 0/07 درصد کورکومین، Z: 0/07 درصد زردچوبه، B: 0/1 درصد بتا کاروتن

ماکارونی ها است و نمونه های کورکومین دار c بزرگتری نسبت به نمونه های حاوی بتا کاروتن دارند.

با افزایش غلظت کورکومین تفاوت رنگی ایجاد شده نسبت نمونه شاهد بدون رنگ افزایش می یابد. همچنین همانطور که مشاهده می شود بتا کاروتن در غلظت برابر با کورکومین (0/01 درصد) تفاوت کالریمتریک کمتری را نسبت به نمونه بدون رنگ ایجاد کرده است (جدول ۷).

### نتیجه گیری

از بررسی کلی نتایج می توان دریافت که میان غلظت کورکومین مورد استفاده در فرمولاسیون ماکارونی و میزان کل میکروارگانیزم ها و کپک و مخمر موجود در آن، رابطه ای خطی برقرار است به طوری که با افزایش غلظت کورکومین میزان کل بار میکروبی و کپک و مخمر کاهش نشان می دهد و در غلظت 0/07 درصد کورکومین اثر مانع کنندگی بر رشد میکروارگانیزم ها مشاهده می شود.

همچنین در مقایسه ویژگیهای رنگی کورکومین با بتا کاروتن که رنگ متداول مورد استفاده در ماکارونی است، مشاهده می شود که ماکارونی های رشته ای حاوی کورکومین در غلظت برابر با بتا کاروتن دارای رنگ روشن تر (L\* بالاتر)، قرمزتری کمتر (a\* پایین تر) و

همچنین مشاهده نتایج حاصل از رنگ سنجی نمونه های ماکارونی بصورت پودر شده نیز حاکی از کاهش میزان روشنی نمونه ها با افزایش غلظت کورکومین می باشد و نمونه شاهد بدون رنگ و نمونه 0/05 درصد کورکومین، بیشترین روشنی را در مقایسه با سایر نمونه ها نشان می دهند. همچنین نمونه های دارای 0/03 و 0/05 کورکومین از نظر آماری روشنی یکسانی با نمونه های حاوی 0/01 بتا کاروتن دارند (جدول ۶).

در بررسی میزان a\* مشاهده می شود که نمونه های بتا کاروتن دار بیشترین ارزش a\* را در مقایسه با نمونه های کورکومین دار و حاوی زردچوبه دارند و به عبارت دیگر قرمزتر هستند.

از سوی دیگر میزان زردی در نمونه های ماکارونی با افزایش غلظت کورکومین افزایش می یابد، بطوری که نمونه های دارای 0/07 درصد کورکومین زردتر از کلیه تیمارها می باشند. استفاده از 0/01 درصد کورکومین در فرمولاسیون ماکارونی، زردی معادل 0/07 درصد زردچوبه ایجاد می کند. همچنین می توان نتیجه گرفت که بطور کلی استفاده از رنگ کورکومین در فرمولاسیون ماکارونی، نسبت به استفاده از بتا کاروتن حتی در کمترین غلظت (0/05 درصد) سبب زردتر شدن رنگ ماکارونی ها می شود.

مشاهده نتایج محاسبه میزان کروما در ماکارونی های پودر شده نیز حاکی از افزایش میزان c متناسب با افزایش غلظت کورکومین در

بدین ترتیب مجموع نتایج این پژوهش حاکی از آنست که با استفاده از کورکومین به عنوان افزودنی رنگی در فرمولاسیون ماکارونی می‌توان از قدرت رنگ دهی مناسب، ویژگی‌های عملکردی و اثرات ضد میکروبی آن در کاهش بار میکروبی و سلامت محصول و افزایش زمان ماندگاری بهره مند گردید.

### تشکر و قدردانی

از همکاری جناب آقای مهندس وزیری مدیریت کارخانه ماکارونی ۲۰۰۱ در انجام این طرح پژوهشی قدردانی می‌گردد.

زردی تقریباً برابر ( $b^*$  مشابه) می‌باشند به طوری که در صورت استفاده از ۰/۰۳ درصد کورکومین در فرمولاسیون ماکارونی، تفاوت رنگ ایجاد شده ( $E$ ) در محصول نسبت به نمونه شاهد بدون رنگ، معادل کاربرد ۰/۰۷ زردچوبه و ۰/۰۱ درصد بتا کاروتن خواهد بود. لازم به ذکر است که هنگامی که ویژگی‌های رنگی ماکارونی بصورت پودر شده مورد ارزیابی قرار گرفته است روند تغییرات  $L^*$  و  $a^*$  مشابه با ماکارونی رشته ای است، اما میزان زردی نمونه های کورکومین دار ( $b^*$ ) در غلظت برابر با بتا کاروتن بطور معنی داری بالاتر است و بنابراین تفاوت رنگ ایجاد شده ( $E$ ) نیز بسیار بالاتر است. از این رو روش ارزیابی رنگ با هانتز لب (نمونه رشته ای یا پودر شده) بر نتایج ارزش های  $b^*$  و  $E$  تاثیر گذار می باشد.

### منابع

- جعفری، محمد مهدی. ۱۳۸۲. تولید ماکارونی و فراورده های آن. نشر علوم کشاورزی.
- شفقی اصل، سید کریم. نوری زاده، عزت. مالوفی، نقی. بررسی خواص ضد باکتریایی عصاره های آبی و الکلی دارچین و زردچوبه بر رشد هلیکوباکتر پیلوری. شانزدهمین کنگره ملی صنایع غذایی ایران. گرگان. ۱۳۸۵.
- عطایی، زهرا. انصاری، مهدی. آی تالهی موسوی، امین. میرزایی، احمد. ۱۳۸۶. مطالعه آزمایشگاهی اثر ضد قارچ عصاره های افسنتین، اکالیپتوس، پیاز، دارچین، زردچوبه، مریم گلی، نعنای و همیشه بهار بر سوش استاندارد کاندیدا آلبیکانس در مقایسه با دهان شویه نیستاتین. مجله دندانپزشکی جامعه اسلامی دندانپزشکان / دوره ۱۹، شماره ۲، ۹۷-۹۱.
- ناصری، علیرضا. تسلیمی، اقدس. سیدین، سید مهدی. هراتیان، پریش. ابدی، علیرضا. ۱۳۸۸. بررسی تاثیر ایزوله پروتئین سویا بر ویژگی‌های ماکارونی. فصلنامه علوم و صنایع غذایی. دوره ۶ شماره ۲.
- Anand, P. Thomas, S. G. Kunnumakkara, A. B. Sundaram, C. Harikumar, K. B. Sung, B. Tharakan, S. T. Misra, K. Priyadarsini, I. K. Rajasekharan, K. Naggarwal, B. B. 2008. Biological activities of curcumin and its analogues (Congeners) made by man and Mother Nature. *biochemical pharmacology* 76, 1590 – 1611.
- AOAC. Official Methods of Analysis. 2003. Washington, DC, Association of Official Analytical Chemists.
- Aplsarlyakul, A. Vanittanakom b. N. Buddhasukh D. 1995. Antifungal activity of turmeric oil extracted from *Curcuma longa* (Zingiberaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 49 . 163-169.
- Cleary, K. 2004. Effects of oxygen and turmeric on the formulation of oxidative aldehyde in fresh-pack dill pickles. A Thesis submitted to the Graduate Faculty of North Carolina State University.
- Del Nobile, M. A. Benedetto, N. DiSuriano, N. Conte, A. Lamacchia C, M. Sinigaglia M. R. 2009. Use of natural compounds to improve the microbial stability of Amaranth-based homemade fresh pasta. *Food Microbiology*. 26, 151–156.
- Gallegos-Infante, J. A., Rocha-Guzman N. E., Gonzalez-Laredo, R. F., Ochoa-Martinez, L. A., N. Corzo, L. A. Bello-Perez, L. Medina-Torres, L. E. Peralta-Alvarez. 2010. Quality of spaghetti pasta containing Mexican common bean flour (*Phaseolus vulgaris* L.), *Food Chemistry* 119 , 1544–1549.
- Gowda, N. K. S. Ledoux, D. R. Rottinghaus, G. E. Bermudez, A. J. and Chen, Y. C. 2008. Efficacy of Turmeric (*Curcuma longa*), Containing a Known Level of Curcumin, and a Hydrated Sodium Calcium Aluminosilicate to Ameliorate the Adverse Effects of Aflatoxin in Broiler Chicks. *Poult Sci* 87:1125-1130.
- Indira Priyadarsini. K. 1997. Free radical reactions of curcumin in membrane models. *Free Radical Biology & Medicine*. Vol 23. No 6. 838-843.
- Jayaprakasha, G. K., Negi, P. S., Anandha Ramakrishnan, C., & Sakariah, K. K. (2001). Chemical composition of turmeric oil—a byproduct from turmeric oleoresin industry and its inhibitory activity against different fungi. *Zeitschrift für Naturforschung*, 56, 40–44.
- Lopez-Lazaro, M. 2008. Anticancer and carcinogenic properties of curcumin: Considerations for its clinical development as a cancer chemopreventive and chemotherapeutic agent. *Mol. Nutr. Food Res.*, 52, S103–S127.
- Peret-Almeida, I. Cristina da Cunha Naghetini, Elziria de Aguiar Nuan, Roberto Goncalves Junqueira, Maria Beatriz Abreu Gloria. 2008. In vitro antimicrobial activity of the ground rhizome, curcuminoid pigments and essential oil of



Curcuma longa L. Ciencia e , 32(3), 875-881.

Petitot, M. Boyer,L. Minier,C. Micard.V. 2010.Fortification of pasta with split pea and faba bean flours: Pasta processing and quality evaluation. Food Research International .43 , 634–641.

Thongson, C., Davidson, P.M., Mahakarnchanakul, W.and Weiss, J. 2004.Antimicrobial activity of ultrasound-assisted solvent-extracted Spices. Letters in Applied Microbiology. 39, 401–406.

Vijaykumar, J.B.M. and Lokesh, B.R. 2004. Biological properties of curcumin-cellular and molecular mechanism of action. Food Science and Nutrition. 44:97-111.

Zardetto ,S., Rosa, M.D.,2006. Study of the effect of lamination process on pasta by physical chemical determination and near infrared spectroscopy analysis. Journal of Food Engineering. 74 ,402–409.