

# تغییرات خواص فیزیکوشیمیایی و ساختار مولکولی نشاسته گندم تحت تأثیر دما و فشار تنفسی بالا

مهسا مجذوبی<sup>\*</sup> و عسگر فرخانکی<sup>۱</sup>

(تاریخ دریافت: ۸۵/۹/۲۶؛ تاریخ پذیرش: ۸۶/۲/۱۸)

## چکیده

در این تحقیق تأثیر دو فرایند حرارتی متداول در پخت مواد غذایی شامل اتوکلاو و اکستروژن بر خواص فیزیکوشیمیایی و ساختار مولکولی نشاسته گندم بررسی شده است. نتایج نشان داد که فرایند پخت با اتوکلاو باعث افزایش حلالیت و کاهش ویسکوزیته نسبی نمونه ها می شود که خود دلیلی بر احتمال شکستگی مولکول های نشاسته می باشد. به علاوه ثابت ماندن ضربه تهشیش شدن (*s-value*) آمیلوز و کاهش *s-value* آمیلوپکتین نمونه ها با افزایش دما تأکیدی بر تجزیه مولکولی نشاسته خصوصاً آمیلوپکتین بود، درحالی که ساختار آمیلوز بدون تغییر باقی ماند. نتایج نشان داد که کاهش آب مصرفي در تهیه نمونه ها جهت فرایند اکستروژن باعث افزایش نیروی برش و فشار لازم جهت این فرایند گردید که خود باعث تغییراتی در ساختار نشاسته شد که شامل تخریب گرانول های نشاسته، ایجاد اتصال آمیلوز با چربی و نیز تجزیه آمیلوپکتین بود که با مشاهده کاهش در *s-value* آمیلوپکتین مشخص گردید. هم چنین با کاهش آب مصرفي پف کردگی محصول نهایی افزایش ولی ویسکوزیته آب سرد و نهایی آنها کاهش یافت. این مشاهدات می تواند دلیلی بر تأثیر خواص مولکولی نشاسته بر بعضی خواص فیزیکی محصول نهایی باشد که خود اهمیت مطالعات مولکولی را برای توجیه خواص فیزیکی محصولات آشکار می سازد.

**واژه های کلیدی:** نشاسته گندم، اکستروژن، اتوکلاو، ساختار مولکولی، ضربه تهشیشی

دارویی، شیمیایی و صنایع تولید کاغذ، رنگ و پارچه می باشد

## مقدمه

نشاسته عمده ای "از دو کربوهیدرات به نام های آمیلوز و آمیلوپکتین تشکیل شده است (۶ و ۲۳). آمیلوز یک پلیمر خطی از واحد های گلوکز است که با اتصالات (۱-۴)  $\alpha$  به یکدیگر متصل شده اند. در حدود ۱/۶ درصد از واحد های گلوکز توسط اتصالات (۱-۶)  $\alpha$  بر این ساختار اصلی وصل می شوند که این امر ساختار آمیلوز را کمی شاخه ای می کند. آمیلوز که در حدود

نشاسته مهم ترین منبع انرژی ذخیره ای در گیاهان به شمار می رود که به وفور در دانه غلات (مانند گندم، ذرت و برنج) و در گیاهان غده ای (مانند انواع سیب زمینی) یافت می شود. از نظر تغذیه ای نشاسته تأمین کننده ۷۰-۸۰٪ از انرژی مورد نیاز روزانه انسان می باشد و به ویژه از لحاظ تأمین کالری مورد نیاز در کشورهای جهان سوم حائز اهمیت فراوان می باشد. نشاسته هم چنین دارای مصارف و کاربردهای بسیار در صنایع غذایی،

۱. استادیاران علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز  
\* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: majzoobi@shirazu.ac.ir

(High Performance Liquid Chromatography; HPLC) نشان دادند که نشاسته محلول شده با روش قبل دچار تجزیه می‌گردد (۱۹). وسترنین و همکارانش نشاسته ذرت با آمیلوز بالا را در دمای  $140^{\circ}\text{C}$  و  $160^{\circ}\text{C}$  در اتوکلاو به مدت ۳۰ دقیقه حرارت دادند و ساختار مولکولی آن را با استفاده از تکنیک جداسازی بر اساس اندازه مولکول‌ها (Size Exclusion Chromatography; SEC) مورد مطالعه قرار دادند و نشان دادند که آمیلوز تجزیه می‌گردد (۳۱).

در مورد تأثیر اکستروژن بر مولکول‌های نشاسته کلونا و همکارانش نشاسته گندم را با استفاده از یک اکسترودر در رطوبت  $19-44\%$  در دمای  $90-180^{\circ}\text{C}$  اکسترود نمودند و ساختار مولکولی نشاسته را با استفاده از روش ویسکوزیته ذاتی (Intrinsic viscosity) و ژل کروماتوگرافی (GC) مطالعه نمودند. نتایج این تحقیق نشان داد که هر دو مولکول آمیلوز و آمیلوپکتین در طی این فرایند تجزیه می‌شوند (۸). در تحقیق دیگری توسط کای و همکارانش نشاسته گندم با اکسترودر دارای دو پیچ در رطوبت  $30$  تا  $25$  درصد در دمای  $160^{\circ}\text{C}$   $100$  اکسترود شد. آنها مطالعات مولکولی خود را توسط روش جداسازی HPSEC انجام دادند و نشان دادند تنها آمیلوپکتین در طی این فرایند تجزیه می‌گردد (۷). برامر و همکارانش با استفاده از تکنیک جداسازی بر اساس اندازه مولکول‌ها مجهز به سیستم افتراق چند زاویه‌ای نور لیزر

Size Exclusion Chromatography Multi Angle Laser ( ) (Light Scattering; SEC-MALLS) تجزیه شدن تنها آمیلوپکتین ذرت در طی فرایند اکستروژن را نشان دادند (۴).

تعیین این که کدامیک از مولکول‌های سازنده نشاسته (آمیلوز و آمیلوپکتین) در طی این فرایندها دچار تغییر می‌شوند در تجزیه و تحلیل بهتر خواص فیزیکی و عملکردی محصولات فرایند شده کاربرد دارد (۸ و ۱۱ و ۲۸). اگرچه بررسی خواص مولکولی نشاسته فرایند شده از اهمیت بسیاری برخوردار است، انجام آزمایش‌ها و تجزیه و تحلیل‌های مربوطه پیچیدگی خاصی دارد. از دلایل این امر می‌توان به ساختار پیچیده مولکول‌های

۲۰-۳۰٪ نشاسته را تشکیل می‌دهد دارای وزن مولکولی  $105-106$  دالتون است (۱۳ و ۲۳).

آمیلوپکتین دیگر پلی ساکارید سازنده نشاسته، دارای ساختاری بسیار بزرگ و شاخه‌ای است. ساختار اصلی این مولکول شبیه به آمیلوز است که در آن واحدهای گلوكز با اتصالات (۱-۴)  $\alpha$  به هم متصل شده‌اند. علاوه بر آن در حدود ۴-۶٪ از گلوكزها با اتصالات (۱-۶)  $\alpha$  به ساختار اصلی وصل می‌شوند که این امر ساختار بسیار شاخه‌ای را ایجاد می‌کند. وزن مولکولی آمیلوپکتین حدود  $107-109$  دالتون است و در حدود  $70-80$  درصد از وزن نشاسته را شامل می‌شود (۱۱ و ۲۳). تحقیقات مولکولی نشان داده است که ارتباط تنگاتنگی بین ساختار شیمیایی آمیلوز و آمیلوپکتین و خواص عملکردی نشاسته وجود دارد. به همین دلیل مطالعات بسیاری در زمینه کشف چنین ارتباطی در حال انجام شدن است (۱۷، ۱۶ و ۱۸). بسیاری از فرایندهای تهیه غذا باعث ایجاد تغییراتی در ساختار نشاسته و در نتیجه باعث بروز خواص عملکردی جدیدی در آن می‌شود (۵ و ۸). متداول‌ترین این فرایندها اتوکلاو و دمای بالا می‌باشد که از انواع آن می‌توان به فرایندهای اتوکلاو و اکستروژن اشاره کرد که در آنها از دما و فشار بالا و نیروی برشی استفاده می‌گردد. فرایند اتوکلاو علاوه بر پخت غذا در افزایش حلالیت نشاسته در آب، استریلیزاسیون مواد غذایی و ایجاد ترکیب نشاسته و چربی کاربرد دارد (۶ و ۱۰). از فرایند اکستروژن که امروزه کاربرد زیادی در صنایع غذایی دارد، در تولید غلات صبحانه‌ای، انواع اسنک‌ها، غذاهای آماده مصرف، غذاهای رژیمی و غذای دام استفاده می‌شود (۲۲ و ۲۵).

در زمینه کاربرد اتوکلاو جهت افزایش حلالیت نشاسته در آب، ابرل و همکارانش نشان دادند که استفاده از دمای  $120-180$  درجه سانتی‌گراد در فشار  $15$  بار به مدت ۲۰ دقیقه منجر به حلالیت کامل نشاسته در آب بدون هیچ‌گونه تأثیری بر مولکول‌های نشاسته می‌شود (۱). درحالی که هان و همکارانش با استفاده از تکنیک جدا سازی مولکولی با کارایی بالا بر اساس اندازه مولکول‌ها

اجزای نامحلول، نتایج قابل قبولی به دست نمی‌آید (۳۲، ۲۰ و ۳۰).

## مواد و روش‌ها

### (الف) فرایند اتوکلاو

#### تهیه نمونه‌ها

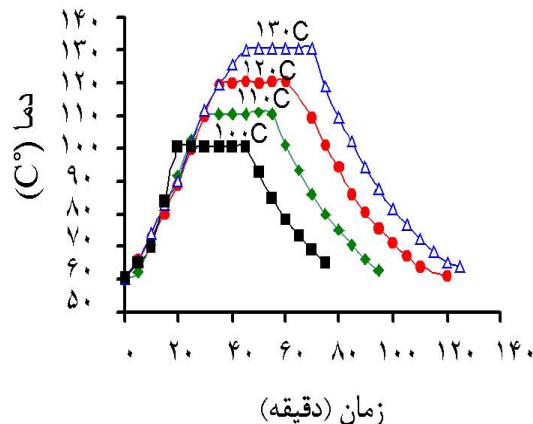
برای تهیه هر نمونه،  $3/5$  گرم نشاسته گندم تهیه شده از شرکت سیگما (با  $11/5$ ٪ رطوبت) با  $25$  گرم آب مقطر در درون یک ظرف فلزی (فولاد قلع انود) مخصوص غذاهای کنسروی کاملاً مخلوط شد و پس از درب بندی به مدت  $30$  دقیقه در حمام آب  $80^{\circ}\text{C}$  قرار گرفت و هر پنج دقیقه یک بار با استفاده از یک همزن رومیزی (Vortex mixer) (به مدت  $30$  ثانیه همزده شد تا از رسوب احتمالی نشاسته جلوگیری شود و سپس به حمام آب گرم بازگردانده شد. هم زدن نمونه‌ها و حرارت دادن آنها به منظور ایجاد یک ژل یکنواخت از نشاسته قبل از انتقال آنها به اتوکلاو به کار رفت. نمونه شاهد از نمونه تهیه شده در این مرحله قبل از انتقال آنها به اتوکلاو تهیه شد.

#### شرایط اتوکلاو

درجه حرارت‌های  $100$ ،  $110$ ،  $120$  و  $130$  درجه سانتی‌گراد هر یک به مدت  $30$  دقیقه در فشار  $15\text{ psi}$  در یک اتوکلاو رومیزی مدل Rodwell Scientific Instrument Genesis 60E ساخت شرکت (انگلستان) جهت فرایند نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت و در پایان نمونه‌ها در درجه  $65^{\circ}\text{C}$  خارج شدند. نمودار دما-زمان که در طی آن فرایند اتوکلاو کامل شد در شکل ۱ نشان داده شده است.

**اندازه‌گیری میزان حلایت نشاسته نمونه‌های اتوکلاو شده**  
پس از خروج نمونه‌ها از اتوکلاو دمای متوسط آنها  $70^{\circ}\text{C}$  بود. در این شرایط محتويات هر ظرف به یک لوله سانتریفیوژ حاوی  $28/5$  گرم آب (معادل وزن نمونه‌ها) در درجه  $70^{\circ}\text{C}$  اضافه شد و به مدت  $30$  ثانیه با استفاده از یک همزن برقی کاملاً مخلوط شد و

نشاسته اشاره کرد: هر دو مولکول آمیلوز و آمیلوپکتین دارای یک طیف وسیع از نظر وزن مولکولی می‌باشند و لذا جدا سازی آنها بسیار مشکل است (۲۰، ۲۴ و ۲۶). مرحله جدا سازی آمیلوز و آمیلوپکتین یک مرحله اصلی و در عین حال دشوار و بحث برانگیز در بسیاری از تکنیک‌های مولکولی بررسی نشاسته می‌باشد (۲۴ و ۲۶). علاوه بر آن جهت دریافت نتایج دقیق لازم است نشاسته به طور کامل در حللال مناسبی حل شود (۱۷، ۱۱ و ۲۷). بهترین حللال شناخته شده محلول  $90$ ٪ دی‌متیل سولف‌اکسید (DMSO) در آب مقطر می‌باشد که می‌تواند تحت شرایط خاصی (دما  $100^{\circ}\text{C}$  و هم زدن مدام نمونه) نزدیک به  $100$ ٪ نشاسته را بدون هیچ‌گونه تغییر مولکولی در خود حل کند (۲، ۱۷ و ۲۷). اما کاربرد این حللال در بسیاری از دستگاه‌های مطالعات مولکولی به دلیل اثر خورندگی آن امکان‌پذیر نیست و لذا نشاسته با استفاده از فشار و دمای بالا در آب حل می‌گردد که تحت این شرایط امکان تخریب ساختار نشاسته وجود دارد که این خود تفسیر نتایج را مشکل می‌سازد (۵، ۱۷ و ۱۹). در این تحقیق با استفاده از یک روش جدید در مطالعات مولکولی نشاسته به نام تکنیک اولتراسانتریفیوژ آنالیتیکی (AUC) ضریب تهنه‌شدن (s-value) آمیلوز و آمیلوپکتین تعیین شده است. این ضریب شاخصی از وزن مولکولی، اندازه و شکل فضایی این مولکول‌هاست (۲۰، ۲۹ و ۳۰). به طور کلی با افزایش وزن و اندازه مولکول، s-value افزایش می‌یابد (۳۰ و ۳۲). با مقایسه s-value نشاسته فرایند شده با حالت فرایند نشده آن می‌توان به تغییرات مولکولی نشاسته در طی فرایند پی‌برد (۱۷ و ۲۷). یکی از مزایای این روش نسبت به سایر روش‌های مولکولی متداول، عدم نیاز آن به کالیبراسیون با استفاده از استانداردهای خاص است (۳۰ و ۳۲). به علاوه نیازی به جداسازی مقدماتی آمیلوز و آمیلوپکتین نیز نمی‌باشد که این مرحله خود یک مرحله دشوار در سایر روش‌هاست (۲۰ و ۲۷). البته در این روش نیز نظیر سایر روش‌های مولکولی، نشاسته می‌باشد در حللال مناسبی کاملاً حل گردد، زیرا در غیر این صورت به دلیل وجود



شکل ۱. نمودار دما - زمان نمونه‌های نشاسته گندم اتوکلاو شده در دامنه دمای  $100\text{--}130^{\circ}\text{C}$  و فشار ۱۵psi

توسط نمونه ( $t$ ) و حلال DMSO ( $t_0$ )٪/۹۰ محاسبه گردید.  
نسبت این دو زمان ویسکوزیته نسبی نمونه‌ها ( $V_{\text{rel}}$ ) را نشان می‌دهد (۲۱).

$$V_{\text{rel}} \approx \frac{t}{t_0} \quad [1]$$

#### اندازه‌گیری s-value

به این منظور از دستگاه AUC مدل XL-I ساخت شرکت Beckman Palo Alto آمریکا استفاده شد. این دستگاه دارای مخزن نمونه (Centrifuge cell) مخصوصی است که خود از دو محفظه (Chamber) تشکیل شده است. در یکی از محفظه‌ها ۴۰۰ میکرولیتر از محلول حاوی نمونه و در دیگری ۴۰۰ میکرولیتر حلال (٪/۹۰ DMSO) تزریق گردید. پس از قرار دادن مخزن نمونه (به طور هم‌زمان سه مخزن قابل استفاده است) در داخل رتور دستگاه (An 60 Ti)، آزمایش در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  در سرعت rpm ۳۵۰۰۰ انجام شد. حرکت مولکول‌ها به انتهای محفظه به صورت موجی متحرک توسط سیستم نوری UV ریلای (Rayleigh) هر ۳۰ ثانیه یکبار عکس برداری شد و این کار تا زمانی که هردو مولکول آمیلوز و آمیلوپکتین کاملاً تنشین شدند و دستگاه دیگر موج حرکتی را نشان نداد ادامه یافت که در مجموع حدود هفت ساعت به طول انجامید. سپس برنامه کامپیوتري DCDT<sup>+</sup> تصاویر گرفته شده را به منحنی‌های

بعد به مدت پنج دقیقه با سرعت  $g \times 4000$  سانتریفیوژ شد. سپس میزان کربوهیدرات مایع فوکانی هر لوله با استفاده از روش فنول-اسید سولفوریک تعیین گردید (۱۲). میزان قند موجود در مایع فوکانی نسبت به وزن کل نشاسته اولیه (۳/۵ گرم) با احتساب رقت نمونه‌ها با آب، درصد حلالیت نشاسته در آب را مشخص می‌کند. بقیه مایع فوکانی به عنوان نمونه محلول برای آزمایش‌های مولکولی با استفاده از خشک کن تصعیدی خشک گردید و در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  در ظروف غیر قابل نفوذ به رطوبت نگهداری شد.

تهیه نمونه‌ها جهت انجام مطالعات مولکولی از نمونه‌های خشک شده مرحله قبل محلول‌هایی با  $8\text{ mg/ml}$  در حلال ٪/۹۰ DMSO در آب مقطر تهیه شد. این کار با حرارت دادن نمونه‌ها در دمای  $100^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۰ دقیقه و هم زدن مداوم آنها انجام گردید (۲۷) و جهت انجام مطالعات مولکولی روش‌های زیر به کار گرفته شد.

#### اندازه‌گیری ویسکوزیته نسبی

ویسکوزیته نسبی نمونه‌ها که شاخصی از وضعیت مولکولی از لحاظ اندازه و شکل در محلول است توسط روش ویسکومتری U-tube در دمای  $20 \pm 0/1^{\circ}\text{C}$  اندازه‌گیری شد (۱۱ و ۱۸). به این منظور زمان‌های لازم جهت طی مسافت معینی در U-tube

تورک (torque) و سرعت پیچ توسط نرم افزار متصل به دستگاه محاسبه و ثبت گردید.

### اندازه‌گیری شاخص انبساط حجمی (SEI) و دانسیته نمونه‌های اکستروود شده

مقدار شاخص انبساط حجمی (SEI) و دانسیته نمونه‌ها ( $\rho_e$ ) به ترتیب با استفاده از فرمول‌های ۳ و ۴ محاسبه شدند (۱۴ و ۱۸)

$$SEI = \left( \frac{D}{D_0} \right)^2 \quad [3]$$

در فرمول،  $D_0$  قطر داخلی لوله اکسترودر (۳ mm) و  $D$  میانگین قطر حداقل ۲۰ تکرار هر نمونه است.

$$\rho_e = \frac{4M}{\pi D^2 L} \quad [4]$$

$D$ ,  $M$  و  $L$  به ترتیب قطر، جرم و طول میانگین هر نمونه است (میانگین حداقل ۲۰ بار اندازه‌گیری).

مطالعه شکل و ظاهر اجزای نمونه‌های اکستروود شده توسط میکروسکوپ نوری و بررسی امکان وجود گرانول‌های نشاسته در آنها

در این روش ابتدا نمونه‌های پودرشده در ایزوپروپیل الکل (IPA) معلق شدند و سپس توسط میکروسکوپ نوری مجهز به نور پولاریزه (Polarized light) مورد مطالعه قرار گرفتند. گرانول‌های سالم نشاسته در زیر نور پولاریزه میکروسکوپ به صورت رنگین کمانی قابل تشخیص می‌باشند، در حالی که گرانول‌های آسیب دیده در اثر فرایند چنین شکلی ندارند.

بررسی حالت کریستالی نشاسته نمونه‌های اکستروود شده در این آزمایش پودر نمونه‌های اکستروود شده با استفاده از محلول نمک فوق اشباع NaCl در یک محفظه کاملاً بسته در دمای  $23^\circ C$  به رطوبت نسبی ۷۵٪ رسید و سپس با استفاده از دستگاه X-ray diffractometer انکساری ساخت شرکت Bruker Analytical X-Ray System (انگلستان) مورد مطالعه قرار گرفتند (۳۳).

از تغییرات لحظه‌ای غلظت ( $s^*$ ) در برابر  $s$ -value تبدیل کرد. نقطه اوج این منحنی‌ها مقدار متوسط  $s$ -value می‌باشد که با واحد سوئد برگ (Svedberge) که به اختصار S نشان داده می‌شود گزارش می‌گردد (۲۹، ۳۰ و ۳۲). مقدار  $s$ -value به خصوصیات حال از لحاظ درجه حرارت، ویسکوزیته و دانسیته بستگی دارد (۳۲، ۳۰) که در این تحقیق  $s$ -value در شرایط آزمایش (دما ۲۰°C و حال حلال یکسان DMSO ۹۰٪) محاسبه شده است.

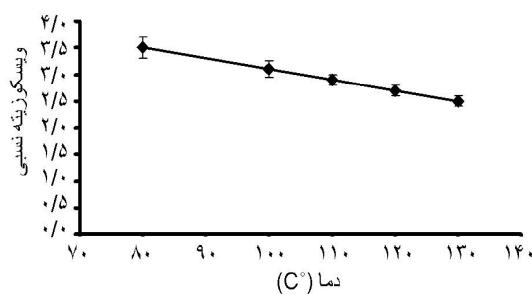
### ب) فرایند اکستروژن

آرد گندم نرم که از شرکت Choice Bakery (انگلیس) تهیه شد برای انجام فرایند اکستروژن به کار رفت. در این نمونه درصد نشاسته با روش آنزیمی و با استفاده از کیت شرکت Megazyme (۷۰/۴٪ تعیین شد (۱۵)). فرایند اکستروژن با استفاده از یک اکسترودر ساخت شرکت Clextral BC-21- Firming (فرانسه) که به صورت دو مارپیچ هم جهت با طول ۴۰۰ میلی‌متر بود انجام شد. میزان ورود مواد جامد ۱۲ kg/h و میزان آب برای تهیه هر نمونه به ترتیب صفر و ۰/۷۵، ۰/۲۵ و ۱/۷۸ kg/h انتخاب شد. کلیه شرایط اکستروژن ثابت بوده و تنها تغییرات در میزان آب به عنوان عامل تغییر شرایط آزمایش به کار رفت. پس از ثابت شدن شرایط، نمونه‌ها به صورت نوارهای پف کرده از دستگاه خارج شدند. نمونه‌های تولید شده بر اساس کاهاش مقدار آب مصرفی در تهیه آنها به ترتیب به صورت WE1 نام‌گذاری شدند.

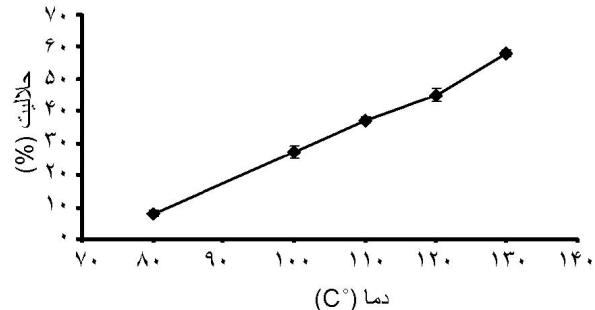
رطوبت نمونه‌ها پس از خروج از دستگاه بلافالسله به روش خشک کردن در آون  $105^\circ C$  اندازه‌گیری شد. همچنین مقداری از هر نمونه در دمای  $60^\circ C$  به مدت ۳۰ دقیقه خشک شد و سپس آسیاب و با الک با اندازه مش ۲۱۲-۲۱۵ میکرومتر الک گردید.

مقدار انرژی مکانیکی ویژه (SME) که میزان انرژی لازم جهت انتقال مواد در حین اکستروژن را نشان می‌دهد با استفاده از فرمول ۲ محاسبه گردید (۱۸ و ۲۲):

$$SME = \frac{\text{تعداد پیچها} \times \pi \times \text{سرعت پیچ (rpm)} \times \text{تورک (N.m)}}{\text{مقادیر ورودی مواد جامد} \times ۶۰} \quad [2]$$



شکل ۳. ویسکوزیته نسبی نمونه‌های نشاسته گندم اتوکلاو شده در دماهای مختلف



شکل ۲. میزان حلالت در آب نمونه‌های نشاسته گندم اتوکلاو شده در دماهای مختلف

### آنالیز آماری

وجود اختلاف معنی‌دار میان میانگین نمونه‌ها (حد اقل سه تکرار) به کمک روش آماری آنالیز مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ با استفاده از نرم افزار Design Expert 6 بررسی شد.

### نتایج و بحث

**اندازه‌گیری حلالت نمونه‌های اتوکلاو شده**  
نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری حلالت نمونه‌ها (شکل ۲) نشان می‌دهد که با افزایش دما، اتوکلاو حلالت نشاسته به طور معنی‌داری افزایش یافت. این افزایش حلالت می‌تواند به سه دلیل عمله باشد: اولاً حرارت دادن می‌تواند باعث شکسته شدن بعضی از اتصالات بین مولکولی مانند اتصالات هیدروژنی شده و در نتیجه باعث افزایش حلالت شود. ثانیاً افزایش دما قدرت حلال را برای حل نمودن نمونه‌ها بالامی برد و در نتیجه مواد بیشتری به صورت محلول در آمده و حللات بالا می‌رود. ثالثاً افزایش دما می‌تواند باعث تجزیه مولکولی شود که مولکول‌های کوچک‌تر پدید آمده حللات بالاتری دارند (۸ و ۱۳).

### مطالعات مولکولی نمونه‌های اتوکلاو شده

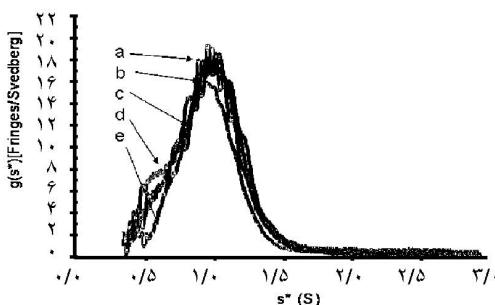
نتایج آزمایش اندازه‌گیری ویسکوزیته نسبی نمونه‌ها (شکل ۳) نشان می‌دهد که با افزایش درجه حرارت، ویسکوزیته نسبی نمونه‌ها به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد.

### اندازه‌گیری ویسکوزیته نمونه‌های اکسترود شده

جهت اندازه‌گیری ویسکوزیته نمونه‌ها از دستگاه ساخت شرکت Rapid Visco Analyser (RVA) (استرالیا) استفاده شد. دما، زمان و سرعت هم زدن به کمک نرم افزار طراحی شده در دستگاه قابل تنظیم می‌باشد. در این آزمایش ابتدا ۴ گرم از پودر نمونه‌های اکسترود شده و ۲۵ گرم آب مقطمر در درون ظروف آلミニومی مخصوص دستگاه وزن شدند و سپس با سرعت ۹۶۰ rpm به مدت شش دقیقه در دماهای ۲۵°C مخلوط شدند. در صورتی که ویسکوزیتهای در این مرحله دیده شود به آن ویسکوزیته آب سرد گویند. سپس نمونه‌ها با افزایش دماهای ثابت ۱۸°C/min ۱۸°C تا ۹۵°C حرارت داده شده و در این دما به مدت ۶/۵ دقیقه نگهداری شدند. در این حالت ویسکوزیته اوج (Peak viscosity) اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها تا دماهای ۲۵°C با سرعت ثابت ۱۸°C در دقیقه سرد شدند و ۹ دقیقه در این حالت نگهداری شدند. در این مرحله ویسکوزیته نهایی (Final viscosity) اندازه‌گیری شد (۳ و ۲۷).

### مطالعات مولکولی روی نشاسته نمونه‌های اکسترود شده

جهت انجام مطالعات مولکولی از روش AUC استفاده گردید و نمونه‌ها با غلظت ۸ mg/ml در ۹۰% DMSO در ۳۵۰۰۰ rpm در دماهای ۲۰°C به مدت هفت ساعت در دستگاه AUC مورد آزمایش قرار گرفتند که در طی این زمان آمیلوز و آمیلوپکتین تهنشین شده و آنها در شرایط آزمایش تعیین گردید.



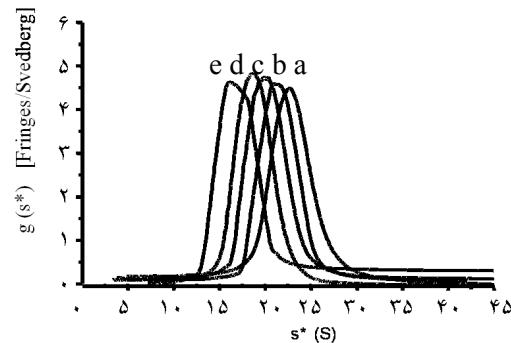
شکل ۵. نمودار ته‌نشین شدن آمیلوز نمونه‌های اتوکلاو شده در دماهای مختلف به دست آمده با دستگاه AUC. نمونه a، نمونه شاهد (حرارت دیده تا دمای  $80^{\circ}\text{C}$ ) و نمونه‌های b تا e به ترتیب مربوط به نمونه‌های اتوکلاو شده در دماهای  $100^{\circ}\text{C}$  تا  $130^{\circ}\text{C}$  می‌باشند.

می‌باشد که خود اثباتی بر تجزیه این ماده با افزایش درجه حرارت است.

مقایسه ضریب ته‌نشین شدن آمیلوز اتوکلاو شده نسبت به آمیلوز شاهد (حرارت دیده در دمای  $80^{\circ}\text{C}$ ) تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد (شکل ۵). این امر می‌تواند دلیلی بر عدم تأثیر حرارت بر مولکول آمیلوز باشد که در اثر این فرایند ساختار آمیلوز دست نخورده باقی می‌ماند.

بررسی تأثیر فرایند اکستروژن بر نشاسته گندم رطوبت نمونه‌ها قبل از خروج از دستگاه (رطوبت اولیه + میزان آب مصرفی جهت تهیه آنها) و نیز SME مورد نیاز برای هر نمونه محاسبه شدند. شکل ۶ تغییرات SME نسبت به رطوبت داخل دستگاه را نشان می‌دهد. این نتایج نشان می‌دهد که با افزایش رطوبت، مقدار SME به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. این امر به دلیل کاهش ویسکوزیته مواد داخل اکستروژن با افزایش مقدار آب می‌باشد که در اثر آن انرژی لازم جهت حرکت مواد به انتهای لوله اکستروژن در کاهش می‌یابد (۱۴ و ۱۸).

اندازه‌گیری شاخص انبساط حجمی محصول و دانسیته نمونه‌ها در هنگام خروج از اکستروژن نمونه‌ها به صورت پف کرده در آمدند. از لحاظ شکل ظاهری با کاهش مقدار آب مصرفی،



شکل ۴. نمودار ته‌نشین شدن آمیلوپکتین نمونه‌های اتوکلاو شده در دماهای مختلف به دست آمده با دستگاه AUC. نمونه a، نمونه شاهد (حرارت دیده تا دمای  $80^{\circ}\text{C}$ ) و نمونه‌های b تا e به ترتیب مربوط به نمونه‌های اتوکلاو شده در دماهای  $100^{\circ}\text{C}$  تا  $130^{\circ}\text{C}$  می‌باشند.

کاهش ویسکوزیته نسبی می‌تواند به دلیل تجزیه مولکول‌های نشاسته باشد (۲۱). اگرچه با انجام این آزمایش نمی‌توان مشخص کرد که کدامیک از مولکول‌های نشاسته دچار تجزیه شده‌اند. کاهش ویسکوزیته می‌تواند به دلیل متقارن شدن مولکول‌ها از لحاظ شکل فضایی نیز باشد. مثلاً تنها چند شکستگی در اتصالات مولکول آمیلوپکتین می‌تواند شکل آن را تا حدودی متقارن کرده و در نتیجه ویسکوزیته نسبی را کاهش دهد. در صورتی که همین تعداد شکستگی در مولکول متقارن آمیلوز ممکن است تأثیر چندانی در ویسکوزیته نسبی آن نگذارد (۲۱). بنابراین برای دریافت اطلاعات دقیق‌تر از روش مولکولی AUC استفاده شد.

**AUC** مولکول‌های نشاسته اتوکلاو شده با روش تغییر s-value نمودارهای ته‌نشین شدن آمیلوپکتین و آمیلوز به ترتیب در شکل‌های ۴ و ۵ نشان داده شده است. در این اسکال مقدار میانگین s-value مربوط به نقطه اوج هر منحنی روی محور x محاسبه می‌شود. نتایج نشان می‌دهد که ضریب ته‌نشین شدن آمیلوپکتین برای نمونه‌های اتوکلاو شده در دمای  $100^{\circ}\text{C}$  تا  $130^{\circ}\text{C}$  سانتی‌گراد نسبت به نمونه شاهد (نمونه به دست آمده در دمای  $80^{\circ}\text{C}$ ) به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (شکل ۴). کاهش در این مقدار به معنای کاهش در وزن مولکولی و اندازه آمیلوپکتین

یافته خمیر در محل دیواره حباب‌های هوا جداسازی شده بودند. همان‌طور که در تصاویر مشخص است با افزایش SME تعداد اجزای دیسکی شکل افزایش می‌یابد، درحالی که تعداد اجزای کروی کاهش می‌یابد. این امر به دلیل افزایش تشکیل حباب‌های هوا در نمونه‌ها و کاهش فواصل بین مولکولی در اثر افزایش SME است. نظیر چنین نتایجی نیز توسط بکر برای نشاسته ذرات اکسترود شده گزارش شده است (۳). عدم وجود گرانول‌های رنگین کمانی نشاسته در زیر میکروسکپ نشان می‌دهد که تمامی گرانول‌ها در اثر فشار و دمای بالا در طی فرایند اکستروژن کاملاً تخریب و ژلاتینه شده‌اند. نظیر چنین مشاهداتی توسط گای و هورن برای آرد گندم اکسترود شده گزارش شده است (۱۸).

#### مطالعه خواص کریستالی مولکول‌ها

با استفاده از دستگاه X-ray انکساری، الگوی کریستالی نمونه‌ها به دست آمد (شکل ۱۰). نشاسته غلات در حالت طبیعی الگوی کریستالی به نام نوع A را از خود نشان می‌دهند (۳۳). این الگو در نمونه آرد معمولی گندم مشاهده می‌شود. با انجام فرایند اکستروژن و افزایش SME این الگو به طور کامل از بین رفته و الگوهای V و E دیده می‌شوند. الگوی V که برای نمونه‌های WE1 و WE2 دیده شد، نشان دهنده ایجاد ترکیب آمیلوز با لیپید آرد است (۳ و ۱۵). الگوی E یا الگوی اکستروژن برای نمونه‌های WE3 دیده شد و این شکل نیز نشان دهنده ایجاد کریستال آمیلوز-لیپید در طی فرایند است. این الگو شباهت بسیاری با الگوی V دارد، با این تفاوت که فاصله بین پیچ‌های کریستال‌ها کمی متفاوت است (۳۳).

#### اندازه‌گیری ویسکوزیته نمونه‌ها توسط دستگاه RVA

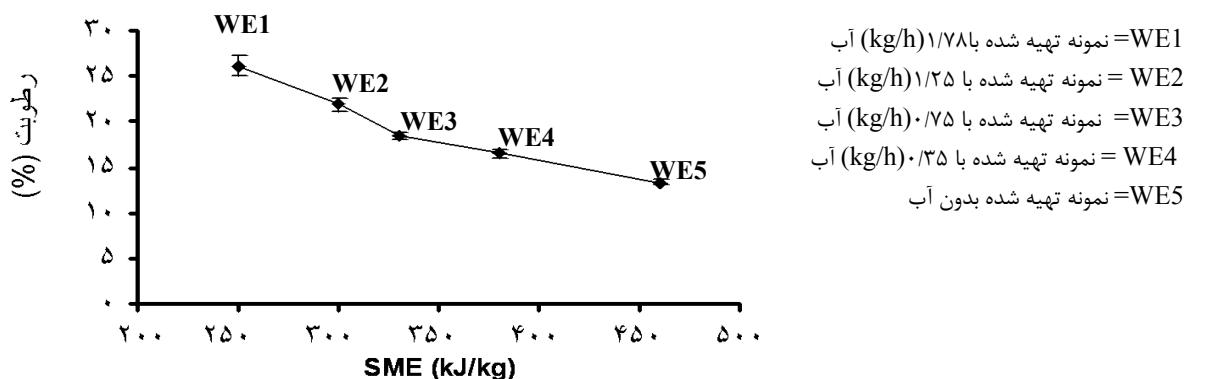
نتایج اندازه‌گیری ویسکوزیته توسط دستگاه RVA (شکل ۱۱) نشان داد که تمامی نمونه‌های اکسترود شده دارای ویسکوزیته آب سرد (در دمای  $25^{\circ}\text{C}$ ) می‌باشند، در حالی نمونه شاهد (آرد گندم) در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  ویسکوزیته‌ای از خود نشان نمی‌دهد.

میزان پف‌کردگی آنها بیشتر گردید، به طوری که نمونه فقد آب، بیشترین پف‌کردگی و تخلخل را داشت. با اندازه‌گیری انبساط حجمی و دانسیته نمونه‌ها در مقایسه با SME (شکل ۷ و ۸) معلوم گردید که افزایش SME با افزایش معنی‌دار انبساط عرضی و کاهش دانسیته نمونه‌ها همراه است. بر اساس نظریه‌ای که توسط فان و همکارانش ارائه شد (۱۴)، در حین اکستروژن فشار بالایی در دستگاه به وجود می‌آید که نتیجه حرکت مارپیچ‌ها و حرارت بالای دستگاه است. در هنگام خروج نمونه‌ها از دستگاه، فشار به طور ناگهانی کاهش می‌یابد و در نتیجه آب موجود در آنها بلا فاصله تبخیر می‌گردد و نمونه‌ها منبسط می‌گردند. در اثر خروج بخار آب از نمونه‌ها حباب‌های هوا در داخل محصول شکل می‌گیرد. در مورد نمونه‌های با رطوبت بالا این نمونه‌ها دارای بافت نرم‌تری هستند و لذا انبساط بیشتری می‌یابند. هرچند پس از انبساط و خروج بخار آب به علت ویسکوزیته پایین و نرمی بافت، این نمونه‌ها بلا فاصله چروکیده می‌گردد و حجم نهایی کاهش می‌یابد. در نمونه‌های با رطوبت کم نیز افزایش حجم در اثر خروج آب دیده می‌شود. در این نمونه‌ها به علت ویسکوزیته بالاتر و بافت محکمتر محصول کمتر چروکیده شد. لذا حجم نهایی بیشتری نسبت به نمونه‌های با آب بالا پیدا می‌کند، ضمن آنکه تخلخل بالای این نمونه‌ها باعث کاهش دانسیته آنها می‌گردد.

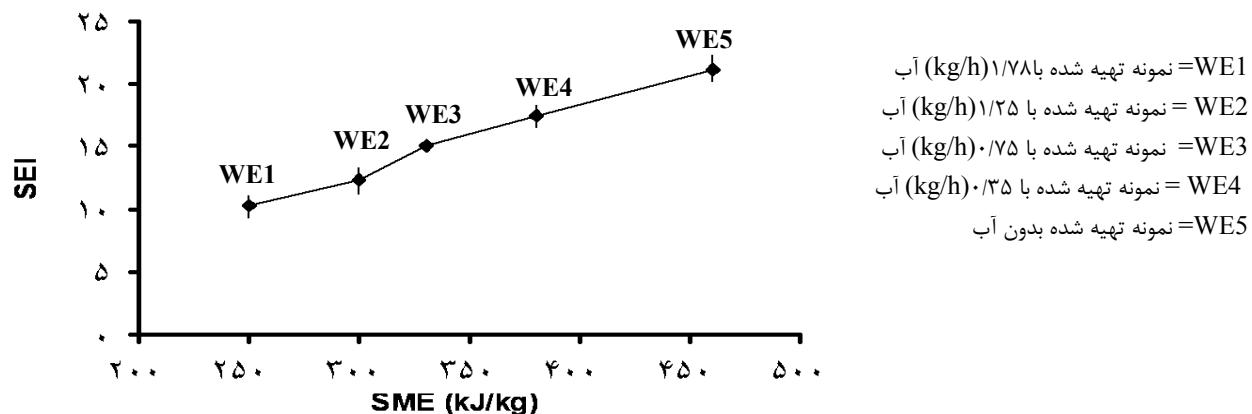
#### مطالعه شکل ظاهری اجزای نمونه‌ها و بررسی وجود

##### گرانول‌های نشاسته با استفاده از میکروسکپ نوری

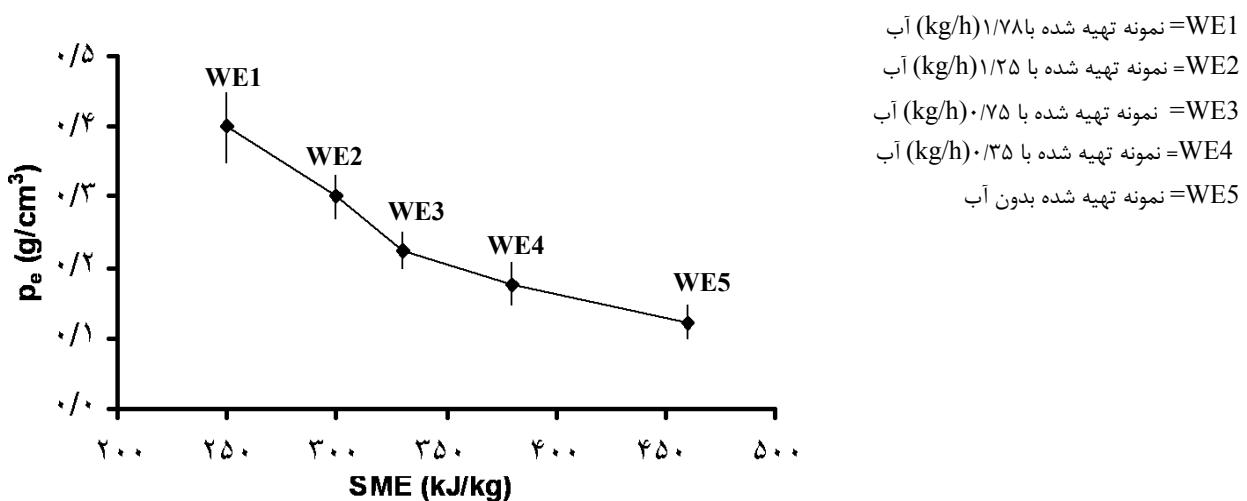
با مشاهده ذرات اکسترود شده پس از آسیاب شدن در زیر میکروسکپ نوری، تغییراتی در ظاهر و شکل این ذرات دیده شد (شکل ۹). ظاهر ذرات از لحاظ ضخامت و شکل به دو دسته عمده قابل تقسیم می‌باشد، یکی اجزای تقریباً کروی نامتقارن که از قسمت‌هایی به نام مناطق اتصال (junction zones) جداسازی شده بودند (اشکال WE1 تا WE3) و دیگری اجزای دیسک شکلی که ساختار ظرف و شیشه‌ای داشتند (اشکال WE4 و WE5). این اجزا از قسمت‌های انبساط



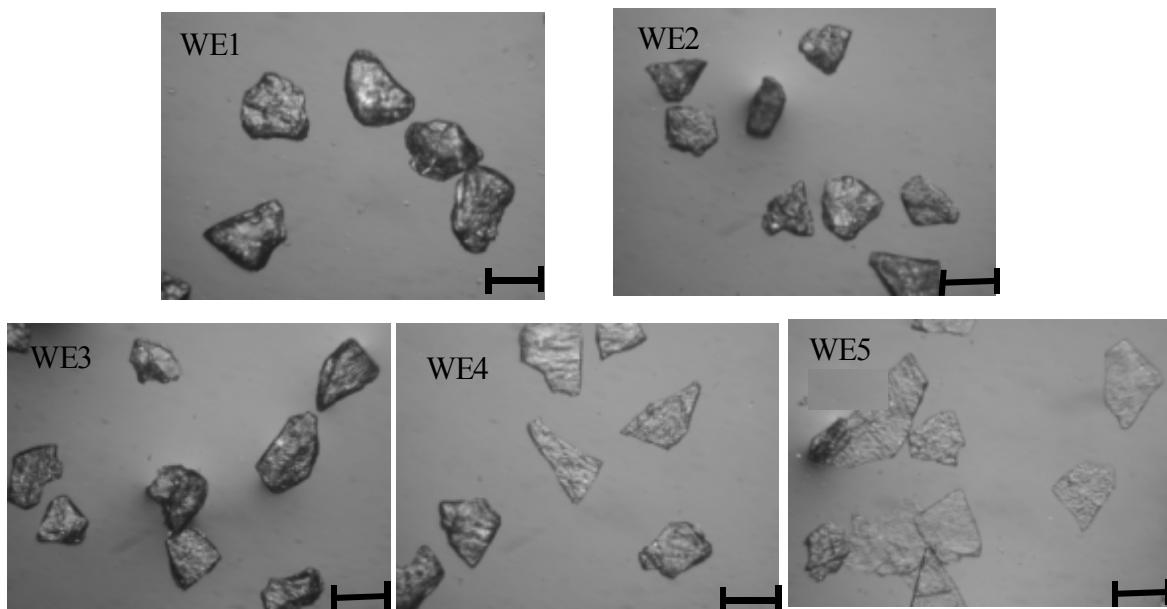
شکل ۶. تغییرات SME با میزان آب مصرفی جهت تهیه نمونه‌های نشاسته گندم در اکسترودر



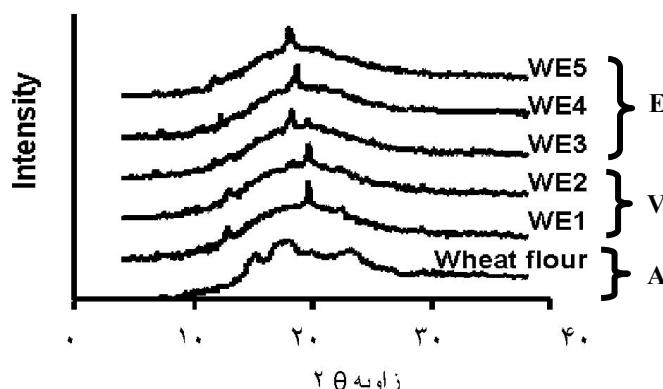
شکل ۷. تغییرات انبساط حجمی نمونه‌های اکسترودر شده نشاسته گندم در SME‌های مختلف



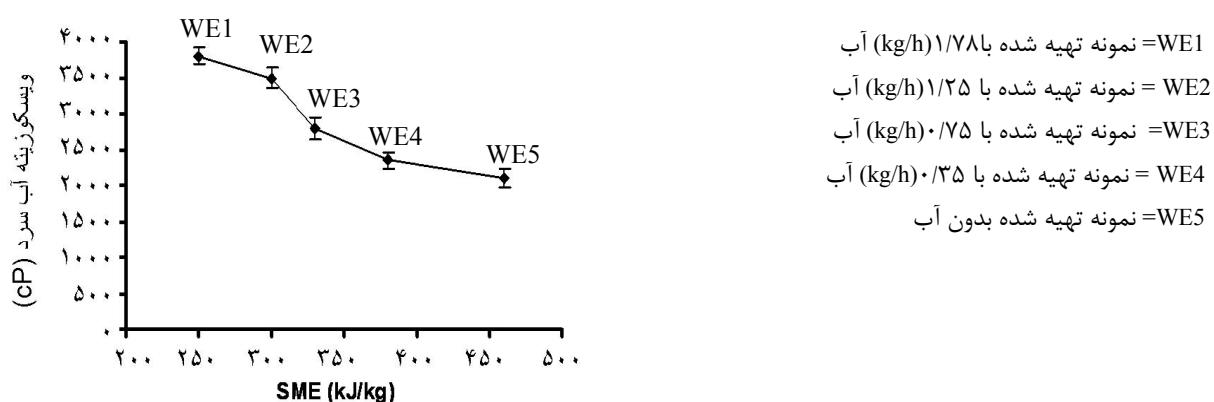
شکل ۸. تغییرات دانسیته نمونه‌های اکسترودر شده نشاسته گندم در SME‌های مختلف



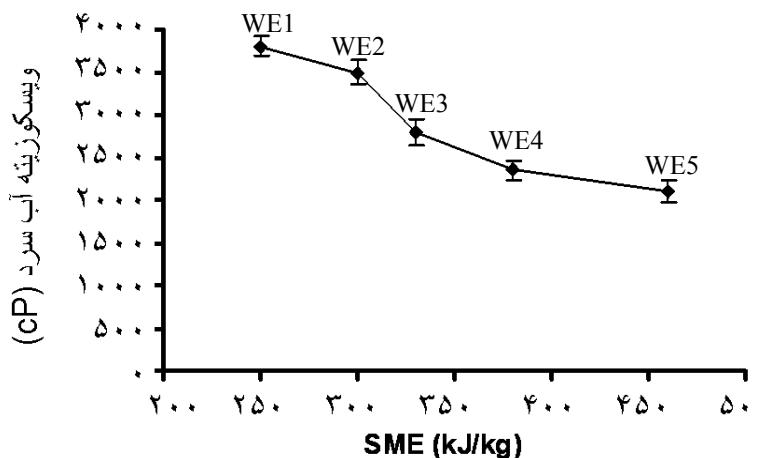
شکل ۹. میکروگراف نمونه‌های اکستروف شده نشاسته گندم با SME های متفاوت (خط زیر هر شکل ۱۰۰m است). WE1 = نمونه تهیه شده با آب (kg/h) ۱/۷۸، WE2 = نمونه تهیه شده با آب (kg/h) ۱/۲۵، WE3 = نمونه تهیه شده با آب (kg/h) ۰/۷۵، WE4 = نمونه تهیه شده با آب (kg/h) ۰/۳۵ و WE5 = نمونه تهیه شده بدون آب.



شکل ۱۰. الگوی X-ray انکساری نمونه‌های اکستروف شده نشاسته گندم با آرد گندم (WE5) در مقایسه با آرد گندم (WE1)



شکل ۱۱. نمودار ویسکوزیته آب سرد (در دمای ۲۵°C) به دست آمده از دستگاه RVA نمونه‌های اکستروف شده با SME های متفاوت



شکل ۱۲. نمودار ویسکوزیته نهایی نمونه‌های اکسترود شده نشاسته گندم (پس از سرد شدن خمیر در دستگاه RVA تا دمای  $25^{\circ}\text{C}$ ) با SME‌های متفاوت

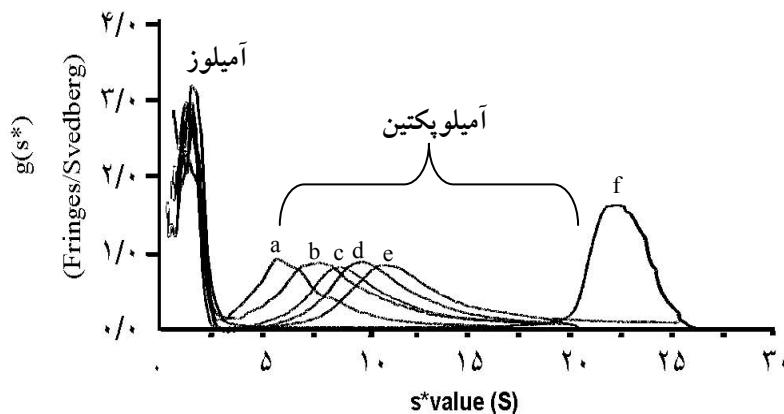
WE1 = نمونه تهیه شده با  $1/78\text{ kg/h}$  آب  
 WE2 = نمونه تهیه شده با  $1/25\text{ kg/h}$  آب  
 WE3 = نمونه تهیه شده با  $0/75\text{ kg/h}$  آب  
 WE4 = نمونه تهیه شده با  $0/35\text{ kg/h}$  آب  
 WE5 = نمونه تهیه شده بدون آب

ویسکوزیته نمونه‌ها کاهش می‌یابد. در انتهای کار دستگاه RVA وقتی که نمونه‌ها پس از طی مراحل حرارتی از دمای  $25^{\circ}\text{C}$  تا رسیدن به دمای محیط ( $25^{\circ}\text{C}$ ) سرد شدند، نمونه شاهد ویسکوزیته بالایی ایجاد کرد (حدود  $6000\text{ cP}$ )، درحالی که نمونه‌های اکسترود شده ویسکوزیته بسیار کمتری ایجاد کردند (شکل ۱۲). در مورد نمونه شاهد این امر کاملاً "روشن شده است که نشاسته حرارت دیده در محیط آبی با کاهش دما ایجاد ژل می‌کند و لذا ویسکوزیته افزایش می‌یابد. در مورد نمونه‌های اکسترود شده بهدلیل امکان تجزیه مولکول‌های نشاسته بر اثر فرایند اکستروژن، با کاهش دما ویسکوزیته به میزان بسیار کمتری نسبت به نمونه شاهد افزایش SME می‌یابد. هم‌چنین نتایج نشان می‌دهد با افزایش SME ویسکوزیته کاهش بیشتری می‌یابد که این امر تأییدی بر افزایش تجزیه مولکول‌های نشاسته با افزایش SME و در نتیجه کاهش قدرت نگهداری آب توسط آنها می‌باشد.

#### مطالعه خواص مولکولی نمونه‌ها

نمودار تهشیش شدن آمیلوز و آمیلوپکتین نمونه‌های اکسترود شده در مقایسه با نمونه شاهد (آرد معمولی) در شکل ۱۳ داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که مقدار *s*-value آمیلوپکتین نمونه‌های

این امر به این دلیل است که نمونه‌های اکسترود شده بهدلیل آنکه بخشی از آنها ژلاتینه شده‌اند، بنابراین حتی در آب سرد هم می‌توانند ویسکوزیته داشته باشند، حال آنکه آرد شاهد قدرت جذب آب در دمای پایین را نداشته و با افزایش دما است که به تدریج آب جذب کرده بهطوری که پس از رسیدن دمای دستگاه به  $95^{\circ}\text{C}$ ، بیشترین ویسکوزیته (ویسکوزیته اوج) را ایجاد می‌کند. افزایش ویسکوزیته در اثر افزایش حرارت عمدها" مربوط به جذب آب توسط نشاسته و ژلاتینه شدن آن می‌باشد. نشاسته گندم بهطور معمول در دمای حدود  $65-70^{\circ}\text{C}$  شروع به ژلاتینه شدن می‌کند. درحالی که در نشاسته فرایند شده دمای ژلاتینه شدن تغییر یافته و در نتیجه افزایش ویسکوزیته متفاوتی نسبت به حالت طبیعی آن دارد. با توجه به نتایج به دست آمده (شکل ۱۱) نمونه‌های اکسترود شده می‌توانند در دمای پایین ( $25^{\circ}\text{C}$ ) ایجاد ژل کنند و بیشترین ویسکوزیته آنها در این دما دیده می‌شود. این امر می‌تواند بهدلیل تخریب ساختار گرانول‌های نشاسته در اثر فرایند اکستروژن باشد که به دنبال آن مولکول‌های نشاسته از گرانول‌های شکسته شده آزاد گشته و می‌توانند به راحتی و بدون هیچ نیازی به افزایش دما آب جذب کرده و ویسکوزیته را افزایش دهند. با افزایش SME احتمال تجزیه مولکول‌های نشاسته وجود دارد و چنین مولکول‌هایی قدرت جذب آب کمتری دارند و به همین دلیل با افزایش SME



شکل ۱۳. نمودار تهشین شدن آمیلوز و آمیلوپکتین اکسترود شده نشاسته گندم با SME های متفاوت. حروف a تا e به ترتیب مربوط به نمونه های اکسترود شده WE1 WE5 می باشد و نمونه f شاهد (آرد گندم) است

خواص فیزیکی نمونه ها نظیر کاهش بیشتر ویسکوزیته آب سرد نمونه ها و افزایش انبساط حجمی آنها با افزایش SME نقش دارد. این تحقیق هم چنین نشان داد که آمیلوپکتین به دلیل دارا بودن ساختار بزرگ و پرشاخه نسبت به فرایندهای حرارتی، فشار و تنش بالا حساسیت بیشتری نسبت به آمیلوز دارد. تأثیر فرایند اکستروژن بر نشاسته شدیدتر از اتوکلاو می باشد. ساختار آمیلوپکتین و شکستگی آن در طی فرایند می تواند عامل کلیدی در توضیح بسیاری از خصوصیات فیزیکی محصولات نهایی باشد که این امر خود تأکیدی بر لزوم انجام تحقیقات مولکولی برای فهم بهتر خواص عملکردی محصولات است.

### سپاسگزاری

از تمامی کسانی که در انجام این تحقیق سهیم بوده اند "خصوصاً" پروفسور Stephen E. Harding و دکتر Sandra E. Hill که استاد راهنمای این تحقیق در دانشگاه ناتینگهام انگلستان بوده اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می گردد.

اکسترود شده نسبت به نمونه شاهد کاهش معنی داری دارد و با افزایش SME این مقدار کاهش بیشتری می یابد. کاهش در s-value می تواند دلیلی بر تجزیه مولکول آمیلوپکتین باشد. تحت همین شرایط s-value آمیلوز با نمونه شاهد یکی بوده و با افزایش SME تغییری در این مقدار مشاهده نمی شود. این امر نشان دهنده پایداری ساختار آمیلوز در طی فرایند اکستروژن می باشد.

### نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان می دهد که در طی فرایندهای اتوکلاو امکان تجزیه و شکستگی مولکول های نشاسته خصوصاً "آمیلوپکتین" وجود دارد. خواصی نظیر افزایش حلایت و کاهش ویسکوزیته نمونه ها می تواند به دلیل شکستگی این مولکول باشد.

در فرایند اکستروژن به دلیل وجود دما و فشار بالا مولکول های نشاسته چهار تغییراتی می گردند. این تغییرات شامل شکستگی مولکول آمیلوپکتین و ایجاد کمپلکس آمیلوز- لیپید می باشد که از لحاظ مولکولی ساختار کریستالی دارد و لذا حلایت کمتری نسبت به آمیلوز معمولی دارد. شکستگی آمیلوپکتین در توجیه بسیاری از

### منابع مورد استفاده

1. Aberle, T., W. Burchard, W. Vorwerg and S. Radosta. 1994. Conformational contributions of amylose and amylopectin to the structural-properties of starches from various sources. Starch-Stärke 46: 329-33.
2. Banks, W., R. Geddes, C.T. Greenwood and I.G. Jones. 1972. Physicochemical studies on starches. Starch-Stärke 8: 245-280.
3. Becker, A. 2001. Starch conversion and particle properties determining, the rapid visco analyser (RVA) profile. Ph.D. Thesis, The University of Nottingham, Nottingham, UK.

4. Brümmer, T., F. Meuser, B. van Lengerich and C. Niemann. 2002. Effect of extrusion cooking on molecular parameters of corn starch. *Starch-Stärke* 54: 1-8.
5. Bowen, S.E., D.A. Gray, C. Giraud, M. Majzoobi, C.E. Millan Testa, L.A. Bello Pérez and S.E. Hill. 2006. Lipid oxidation and amylopectin molecular weight changes occurring during storage of extruded starch samples. *J. Cereal Sci.* 43: 275-283.
6. Buléon, A., P. Colonna, V. Planchot and S. Ball. 1998. Starch granules: structure and biosynthesis. *Int. J. Biol. Macromole.* 23: 85-112.
7. Cai, W., L.L. Diosady and L.J. Rubin. 1995. Degradation of wheat starch in a twin-screw extruder. *J. Food Eng.* 26: 289-300.
8. Colonna, P., J.L. Doublier, J.P. Melcion, F. Demonredon and C. Mercier. 1984. Extrusion cooking and drum drying of wheat starch .1. Physical and macromolecular modifications. *Cereal Chem.* 61: 538-543.
9. Davis, E.A. 1994. Wheat starch. *Cereal Food World* 39: 34-36.
10. Dintzis, F.R., M.A. Berhow, E. B. Bagley, Y.V. Wu and F.C. Felker. 1996. Shear-thickening behavior and shear-induced structure in gently solubilized starches. *Cereal Chem.* 73: 638-643.
11. Durrani, C.M. and A.M. Donald. 2000. Shape, molecular weight distribution and viscosity of amylopectin in dilute solution. *Carbohydr. Polym.* 41: 207-217.
12. Dubois, M., K.K. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric methods for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350-356.
13. Eliasson, A.C. 1980. Effect of water content on the gelatinisation of wheat starch. *Starch-Stärke* 32: 270-272.
14. Fan, J. 1994. Bubble growth and starch conversion in extruded and baked cereal systems. Ph.D. Thesis, The University of Nottingham, Nottingham, UK.
15. Gibson, T.S., V.A. Solah and B.V. McCleary. 1997. A procedure to measure amylose in cereal starches and flours with concanavalin A. *J. Cereal Sci.* 25: 111-119.
16. Faubion, J.M. and R.C. Hoseney. 1982. High-temperature short-time extrusion cooking of wheat starch and flour. *Cereal Chem.* 59: 529-533.
17. Fronimos, P. 1990. Physico-chemical properties of two important food polysaccharides. Ph.D. Thesis: The University of Leicester.
18. Guy, R.C.E. and A.W. Horne. 1988. Extrusion and co-extrusion of cereals. PP. 65-100. In: J.M.V. Blanshard and J.R. Mitchell, (Eds.), *Food Structure-Its Creation and Evaluation*. Butterworths. London, UK.
19. Han, J.-A., J.N. BeMiller, B.R. Hamaker and S. T. Lim. 2003. Structural changes of debranched corn starch by aqueous heating and stirring. *Cereal Chem.* 80: 323-328.
20. Harding, S. E. 1992. Sedimentation analysis of polysaccharides. PP. 80-100. In: S.E. Harding, A.J. Rowe and J.C. Horton. (Eds.), *Analytical Ultracentrifugation in Biochemistry and Polymer Science*. The Royal Society of Chemistry, Nottingham, UK.
21. Harding, S.E. 1997. The intrinsic viscosity of biological macromolecules. progress in measurement, interpretation and application to structure in dilute solution. *Prog. Biophys. Mol. Bio.* 68: 207-262.
22. Harper, J.M. 1981. *Extrusion of Foods*. CRC Press. Inc., Boca Raton, Florida, USA.
23. Hizukuri, S. 1988. Recent advances in molecular structures of starch. *J. S. Starch Sci.* 35: 185-200.
24. Iwaki, K. and H. Fuwa. 1983. Fractionation of non-waxy rice starch by sucrose density gradient centrifugation. *J. S. Starch Sic.* 30: 264-269.
25. Kadan, R.S. and A.B. Pepperman. 2002. Physicochemical properties of starch in extruded rice flours. *Cereal Chem.* 79: 476-480.
26. Majzoobi, M., A.J. Rowe, M. Connock, S.E. Hill and S.E. Harding. 2003. Partial fractionation of wheat starch amylose and amylopectin using zonal ultracentrifugation. *Carbohydr. Polym.* 52: 269-274.
27. Majzoobi, M. 2004. Effect of processing on the molecular structure of wheat starch. Ph.D. Thesis, The University of Nottingham, Nottingham, UK.
28. Millard, M., F.R. Dintzis, J.L. Willett and J.A. Klavons. 1997. Light scattering molecular weights and intrinsic viscosity of processed waxy maize starches in 90% DMSO and H<sub>2</sub>O. *Cereal Chem.* 74: 687-691.
29. Philo, J.S. 2000. A method for directly fitting the time derivative of sedimentation velocity data and an alternative algorithm for calculating sedimentation coefficient distribution functions. *Anal. Biochem.* 279: 151-163.
30. Ralston, G. 1993. *Introduction to Analytical Ultracentrifugation*. Beckman Instruments Inc., California, USA.
31. Vesterinen, E., T. Suortti and K. Autio. 2001. Effects of preparation temperature on gelation properties and molecular structure of high-amylase maize starch. *Cereal Chem.* 78: 442-446.
32. Van Holde, K.E., W.C. Johnson and K.H. Ho. 1998. *Principle of Physical Biochemistry*. Prentice Hall Inc., New Jersey, USA.
33. Zobel, H.F., S.N. Young and A. Rocca. 1988. Starch gelatinization: An X-ray diffraction study. *Cereal Chem.* 65: 443-446.