تأثیر نوع بیوپلیمر، دما و رطوبت نسبی بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و پایداری ترکیبات زیست فعال زعفران ریزپوشانی شده

بهروز قرآنی[1*]، رسول کدخدایی[2]، علی آل حسینی[3]

۱- استادیار، گروه نانوفناوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران
۲- دانشیار، گروه نانوفناوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران
۳- دانشجوی دکتری پژوهش محور،گروه نانوفناوری مواد غذایی،پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، مشهد،ایران

(تاریخ دریافت: ۹٤/۰۹/۰۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۸)

چکیده

این پژوهش با هدف ریزپوشانی مواد مؤثره رنگ، طعم و عطر و بوی زعفران در جهت تولید محصولی با ارزش اقتصادی بالا انجام گرفت. بدین منظور تأثیر بیوپلیمرهای مختلف مالتودکسترین، پروتئین آب پنیر و صمغ عربی بر میزان پایداری مواد مؤثره زعفران ریزپوشانی شده با خشک‌کن پاششی مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که نوع ترکیب مواد دیواره‌ای، رطوبت نسبی و دما بر میزان راندمان و حضور ترکیبات زیست فعال زعفران، در مرحله خشک کردن و همچنین طی مدت نگهداری مؤثر بود. به طوری که مقادیر پیکروکروسین و سافرانال ریزکپسول‌های تولیدی با پروتئین آب پنیر در مقایسه با مالتودکسترین و صمغ عربی تا حدودی بیشتر بود، حال آنکه در مورد کروسین (قدرت رنگی)، ترکیب مالتودکسترین در مقایسه با مواد دیواره‌ای دیگر باعث حفاظت بهتر گردید. در تمامی‌دماهای مورد بررسی، با افزایش رطوبت نسبی، میزان افت کروسین، سافرانال و پیکروکروسین بیشتر شد و در رطوبت ۷۵٪ به بیشینه خود رسید. همچنین نتایج نشان داد با افزایش دما و رطوبت، به ویژه در دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۵٪، مرفولوژی ریزکپسول‌ها از حالت کروی تغییر پیدا نموده و تعداد حفرات و دندانه‌ها به طور گسترده‌ای افزایش یافت. با افزایش رطوبت نسبی، دمای گذار شیشه‌ای مالتودکسترین نیز کاهش یافت.

کلید واژگان: ریزکپسول زعفران، ترکیبات زیست فعال، مالتودکسترین، صمغ عربی، پروتئین آب پنیر

* مسئول مکاتبات: b.ghorani@rifst.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

۱- مقدمه

زعفران از خشک کردن کلاله‌های گل گیاه *کروکوس ساتیووس*[1] از خانواده زنبقیان[2] بدست می‌آید. مهمترین ترکیبات موجود در زعفران کارتنوئید محلول در آب کروسین می‌باشد که عامل ایجاد رنگ زرد است [۱]. پیکروکروسین جزء عمده دیگری است که همزمان با بیوسنتز کروسین از زی‌گزانتین تولید می‌شود و در ایجاد طعم تلخ زعفران مؤثر است. این ترکیب در اثر هیدرولیز آنزیمی به سافرانال تبدیل می‌شود که آرومای اصلی زعفران می‌باشد. پیکروکروسین و کروسین حساسیت زیادی به اکسیژن دارند و در مجاورت آن به سرعت اکسایش می‌یابند. افزایش دما نیز باعث اکسیداسیون خود به خودی کروسین و تجزیه پیکروکروسین می‌شود [۲]. در طی مدت نگهداری زعفران و بسته به شرایط نگهداری، گلیکوزیل استرهای کروسین تحت تأثیر عوامل مختلف تجزیه شده و مقدار آنها در زعفران کاهش می‌یابد [۳]. نقش سافرانال در جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها، کروسین در پلیمریزاسیون میکروتوبول‌ها و رشد سلول‌های هلا[3] و درمان بیماری سرطان، اثر ضد میکروبی و نقش بیولوژیک عصاره زعفران در تحریک فعالیت ضد میکروبی *انتروکوکوس‌هایرائی*[4]، ضد افسردگی، کاهش فشار خون و انبساط عروق، خاصیت آنتی‌اکسیدانی کلاله، آثار ضد توموری و جهش‌زایی و تأثیر این ترکیبات در سرطان پستان القا شده به موش‌ها و ... ثابت شده است [٤-۷].

ریزپوشانی[5]، فرآیندی است که در آن اجزای جامد، مایع یا گاز درون کپسول کوچک پوشانده می‌شوند، به طوری که بتوان محتوای آن‌ها را با سرعت کنترل شده تحت شرایط خاص آزاد کرد. تکنیک‌ها و روش‌های زیادی برای ریزپوشانی ترکیبات زیست فعال غذایی وجود دارد، با این حال سه هدف عمده‌شامل تشکیل دیواره مناسب در اطراف ماده مورد نظر، جلوگیری از تراوش و نفوذ ماده ریزپوشانی شده به سطح کپسول در حین نگهداری و ممانعت از تماس و واکنش عوامل محیطی با هسته در همه این فرآیندها دنبال می‌شود [۸]. ریزپوشانی ترکیبات مؤثره زعفران به ویژه کاروتنوئیدها باعث افزایش پایداری، ثبات و ماندگاری آن‌ها در برابر اکسیداسیون و اثرات مخرب شرایط محیطی می‌شود. هیدروکلوئیدهایی مانند مالتودکسترین، صمغ عربی، ژلاتین و سدیم کازئینات و ...، جهت پوشش‌دهی برای ترکیبات مؤثره زعفران استفاده شده‌اند. در مطالعات متعدد به اثرات محافظت کنندگی ترکیبات پروتئین آب پنیر، صمغ عربی و مالتودکسترین جهت ریزپوشانی ترکیبات زیست فعال[6] همچون رنگدانه‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها، آنزیم‌ها، باکتری‌ها، داروها و ... اشاره شده است [۹-۲۱]. مالتودکسترین‌ها از هیدرولیز جزیی اسیدی یا آنزیمی نشاسته ذرت تولید می‌شوند. درجه‌ی هیدرولیز نشاسته و شکسته شدن آن به مالتودکسترین با واحدی به نام معادل دکستروز[7] سنجیده می‌شود. مالتودکسترین به علت توانایی تشکیل شبکه، در روش‌های مختلف ریزپوشانی به عنوان ماده پوشش دهنده (دیواره) مورد توجه می‌باشند [۲۲]. بالا بودن کارایی ریزپوشانی توسط مالتودکسترین، پایین بودن گرانروی محلول‌های تولیدی از آن (حتی در غلظت‌های بالا)، امکان دسترس در اوزان مولکولی مختلف و پایین بودن نسبی قیمت از عوامل مهم در استفاده از این ترکیب در ریزپوشانی مواد مؤثره است [۲۳]. پروتئین‌ها از ترکیبات متداول در در ریزپوشانی انواع ترکیبات غذایی به روش خشک کردن پاششی به شمار می‌آیند [۲٤]. صمغ عربی نیز به دلیل داشتن خاصیت امولسیفایری، یکی رایج ترین مواد پوششی مورد استفاده در ریزپوشانی ترکیبات حساس از جمله کاروتنوئیدها می‌باشد [۲۵]. هر یک از این ترکیبات دارای خصوصیات منحصر به فردی در محیط های آبی بوده و رفتار خاصی را در طی ریزپوشانی با خشک کن پاششی نشان داده‌اند. لیم و همکاران (۲۰۱۲) تأثیر بکارگیری مواد پوشش دهنده مختلف (کازئینات سدیم، پروتئین آب پنیر و صمغ عربی) را بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و پایداری اکسایشی روغن هسته پیتایا[8] مورد بررسی قرار داده و دریافتند بیشترین و کمترین کارایی مواد دیواره‌ای در سطح ۳۰٪ ماده جامد بر راندمان ریزپوشانی به ترتیب مربوط به سدیم کازئینات و صمغ عربی می‌باشد [۲٦]. خزایی و همکاران (۲۰۱٤) ریزپوشانی آنتوسیانین‌های گلبرگ زعفران را به روش خشک کردن انجمادی با استفاده از مالتودکسترین و صمغ عربی به عنوان ماده پوشش دهنده (دیواره) در سطح ٤۰٪ ماده جامد بررسی نمودند. آنها نشان

1. *Crocus sativus L.*
2. Iridacea
3. Hela cell
4. *Enterococcus hirae*
5. Microencapsulation
6. Bioactive Compound
7. Dextrose equivalent (DE)
8. Pitaya Seed Oil

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

دادند زمانی که در فرمولاسیون ماده پوشش دهنده (دیواره)، مقادیر مالتودکسترین بالاتر از و مقدار صمغ عربی است، تغییرات رنگ آنتوسیانین در طی نگهداری، کمتر خواهد بود [۲۷]. شرایعی (۱۳۹۱) تأثیر فرآیند ریزپوشانی بر میزان حفظ مواد مؤثره زعفران را طی مدت نگهداری مورد بررسی قرار داد. نتایج وی نشان داد که ماندگاری مقادیر کروسین و پیکروکروسین ریزکپسول‌های تهیه شده با ماده دیواره پلی‌وینیل پیرولیدون در مقایسه با ماده دیواره مالتودکسترین تا حدودی بیشتر بود؛ حال آن که در مورد ترکیب سافرانال، مالتودکسترین در مقایسه با پلی‌وینیل پیرولیدون باعث حفاظت بهتر گردید [۲۸]. در تحقیقی دیگر نشان داده شد که ماده‌ی دیواره مالتودکسترین برای کروسین و در مورد سافرانال و پیکروکروسین، ماده‌ی دیواره‌ی پلی‌وینیل پیرولیدون اثر حفاظتی بهتری داشتند [۲۹]. کورمیر و همکاران (۱۹۹۵) از مالتوزیل بتاسیکلودکسترین برای ریزپوشانی کروستین در کشت‌های کالوس زعفران به منظور جلوگیری از گلوکوزیل شدن آن در اثر فعالیت‌های آنزیمی استفاده نمود. نتایج نشان داد که استفاده از این ترکیب جهت ریزپوشانی سوبستراهای غیرقطبی بسیار مناسب می‌باشد [۳۰]. مطالعات سینیتیکی روی میزان تخریب کاراتنوئیدهای محلول در آب کروسین ریزپوشانی شده‌در شبکه‌های آمورف پلولان‌و پلی‌وینیل پیرولیدون در فعالیت آبی ۰/٤۳، ۰/۵۳، ۰/٦٤ و ۰/۷۵ در محیط تاریک و دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفته است [۳۱]. نجفی (۲۰۱۰) و صادقیان (۲۰۱۳) به بررسی شناخت مکانیسم باقی ماندن ترکیبات فرار درون ریزکپسول‌ها پرداختند. این مطالعات نشان دادند که شرایط فرآیند خشک کردن نیز همانند نوع ترکیب ریزپوشانی شده و ماده دیواره از اهمیت ویژه ای برخوردار می‌باشد [۸, ۳۲]. غلظت ماده دیواره تأثیر مستقیمی روی پوشش‌دهی و ثبات ترکیبات مؤثره زعفران دارد [۳۳]. در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شد که استفاده از گاز بی‌اثر، مدت زمان ماندگاری ترکیبات مؤثره زعفران را از طریق کاهش سرعت رهایش آنها از درون کپسول‌ها افزایش می‌دهد [۳٤]. همچنین اختلاف فشار بخار، ماهیت شیمیایی و دمای گذار شیشه‌ای[1]، مورفولوژی، ابعاد هندسی دیواره، پارامترهای سینتیکی و ترمودینامیکی و حضور برخی ترکیبات خاص (نظیر نمک‌ها و چربی‌ها) بر سرعت رهایش مؤثر هستند [۳۲].

در مطالعه‌ای دیگر، تأثیر بکارگیری فرآیند مایکروویو در خشک کردن زعفران بر میزان ترکیبات رنگی (کروسین)، طعمی (پیکروکروسین)، عطری (سافرانال) و بار میکروبی زعفران مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان این ترکیبات در نمونه‌های زعفران خشک شده با مایکروویو نسبت به نمونه‌هایی که با روش سنتی خشک شده بودند، بالاتر بود و بار میکروبی نمونه‌ها در این روش کاهش بیش‌تری یافت [۳۵]. مدت نگهداری و روش خشک کردن، تأثیر معنی‌داری بر روی خواص رنگی، عطری و طعمی‌زعفران دارد؛ به طوری که در طول دوره‌ی نگهداری، میزان کروسین و سافرانال به ترتیب کاهش و افزایش می‌یابد [۳٦, ۳۷]. تیسیمیدو و همکاران (۱۹۹۳) اثرات میزان حرارت، اکسیژن، نور و pH محیط را روی پایداری رنگ عصاره آبی زعفران مورد بررسی قرار دادند [۳۸]. همچنین مقایسه روش‌های استخراج سرد و سوکسله نشان داده است که استخراج با سوکسله به لحاظ سرعت و بازده استخراج، بخصوص برای کروسین‌و سافرانال به عنوان روش مؤثرتری مطرح است [۳۹]. هر چه میزان رطوبت محصول پایین‌تر باشد باعث حفظ بهتر قدرت رنگ‌دهی، کاهش میزان سافرانال و تلخی، طی مدت نگهداری می‌شود [٤۰]. میزان رطوبت، به علت تأثیر در مقدار دانسیته‌ی ظاهری، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است [٤۱]. همچنین مطالعات متعددی روی روش‌های استخراج ترکیبات مؤثره زعفران صورت گرفته است [۷, ۳۱, ٤۱-۵۰].

تحقیقاتی که روی ریزپوشانی اجزای زیست فعال زعفران صورت گرفته است محدود بوده و در اکثر موارد اجزای خالص به منظور بررسی خواص دارویی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند و تا کنون روش مؤثر و کارآمدی جهت ریزپوشانی کلیه ترکیبات زعفران به طور همزمان به کار گرفته نشده است. در این مطالعه، ریزپوشانی مواد مؤثره پیکروکروسین، سافرانال و کروسین زعفران با بکارگیری بیوپلیمرهای مالتودکسترین، صمغ عربی و پروتئین آب پنیر و استفاده از خشک کن پاششی انجام شد و در گام بعدی، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و میزان پایداری ترکیبات زیست فعال ریزپوشانی شده، مورد ارزیابی قرار گرفت.

1. Glass Transition Temperatures (Tg)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد اولیه

زعفران درجه یک سرگل (صادراتی) از شرکت بازرگانی زعفران اسفدان (مشهد- ایران) تهیه گردید. مطابق استاندارد، مقادیر کروسین، سافرانال و پیکروکروسین برای نمونه‌های با کیفیت ممتاز به ترتیب ۲۲۰، ۵۰ و ۸۵ واحد تعیین شده است [۵۱]. زعفران مورد مطالعه در این پژوهش، دارای کیفیت ممتاز و مقادیر کروسین، سافرانال و پیکروکروسین به ترتیب ۲۴۷/۵۶، ۵۰/۳۶ و ۸۵/۱۶۲ واحد بود. حلال‌های اتانول و استن، پروتئین آب پنیر، صمغ عربی، مالتودکسترین، پتاسیم استات، منیزیم نیترات، سدیم کلراید و دیگر مواد شیمیایی از شرکت‌های سیگما و مرک خریداری شده و بدون هیچ گونه خالص سازی مجدد، مورد استفاده قرار گرفتند. برای تهیه کلیه محلول‌ها از آب یون‌زدایی شده دوبار تقطیر استفاده شد

۲-۲- تهیه پودر زعفران

زعفران سرگل صادراتی در یک‌هاون چینی کوبیده شد تا به پودری یکنواخت تبدیل شد. سپس پودر زعفران تهیه شده الک شد؛ به صورتی که ۹۵ درصد آن از الک آزمایشگاهی با مش ۵۰ میکرومتر عبور داده شد [۵۲].

۲-۳- فرآیند استخراج مواد مؤثره زعفران

عصاره حاصل از یک گرم پودر زعفران در محلول هیدروالکلی (اتانول/ آب) به نسبت ۶۰ به ۴۰ (۳:۲) و به نسبت ۱۲ میلی‌لیتر برای هر گرم زعفران در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و زمان ۱۶ ساعت استخراج شد [۵۳]. یک میلی‌لیتر از عصاره حاصله پس از فیلتراسیون به حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد و جهت اندازه‌گیری مقادیر کروسین، سافرانال و پیکروکروسین به کار رفت. پس از فرآیند استخراج، مواد مؤثره زعفران موجود در عصاره آبی حاصله، پس از تغلیظ شدن مقدماتی، توسط خشک‌کن انجمادی (شرکت سازنده: OPERON CO، مدل: FDO-8606، ساخت کره)، خشک شده و در نهایت به صورت پودر تهیه شدند.

۲-۴- تهیه‌ی ریزکپسول

جهت ارزیابی میزان ماندگاری ترکیبات مؤثره در دیواره‌های پلیمری مختلف، ابتدا محلول‌های آبی ۲۵٪ وزنی- حجمی از مالتودکسترین، پروتئین آب پنیر و صمغ عربی تهیه شد. پس از افزودن ۱/۲۵ گرم از عصاره آبی خشک شده‌ی انجمادی به هر محلول (نسبت ۱:۴)، به مدت نیم ساعت با همزن مغناطیسی، هم‌زده شد. pH تمامی محلول‌ها، با هیدروکسیدسدیم ۰/۱ نرمال، حدود ۷ تنظیم شد تا اثر تغییرات pH روی کروسین نادیده گرفته شود. سپس محلول‌های تهیه شده با خشک‌کن پاششی (شرکت سازنده: Buchi، مدل: B-191، ساخت سوئیس) خشک شدند. خشک‌کن پاششی دارای دمای هوای ورودی ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد، دمای هوای خروجی ۷۱ درجه‌ی سانتی‌گراد، سرعت جریان هوا ۶۰۰ لیتر در ساعت و سرعت پمپ خوراک‌دهی ۱۰ میلی‌لیتر بر دقیقه بود [۵۴].

۲-۵- تعیین میزان رطوبت

مقدار رطوبت نمونه‌ها با استفاده از استاندارد ملی ایران به شماره ۲-۲۵۹ (۱۳۹۱) تعیین گردید (رابطه‌ی ۱) [۵۲].

$$H = \frac{(m_0 - m_1)}{m_0} \times 100$$

m_0 = جرم نمونه برحسب گرم قبل از آون گذاری، m_1 = جرم نمونه خشک شده برحسب گرم پس از آون گذاری و رسیدن به وزن ثابت و H = درصد رطوبت.

۲-۶- تعیین مقدار مواد مؤثره زعفران

مقدار کروسین، سافرانال و پیکروکروسین، مطابق روش استاندارد ملی ایران به شماره ۲-۲۵۹ (۱۳۹۱)، بر مبنای ثبت تغییرات حاصل از چگالی نوری در طول موج ۲۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر در دمای متوسط و با استفاده از رابطه‌ی ۲ تعیین شد [۵۲].

$$A_{1cm}^{1\%}(\lambda_{max}) = \frac{A \times 10000}{0.5 \times (100 - H)}$$

$A_{1cm}^{1\%}$ (۴۴۰ نانومتر)= جذب در حدود ۴۴۰ nm (λ_{max} کروسین)، $A_{1cm}^{1\%}$ (۳۳۰ نانومتر)= جذب در حدود ۳۳۰ nm (λ_{max} سافرانال)، $A_{1cm}^{1\%}$ (۲۵۷ نانومتر)= جذب در حدود ۲۵۷ nm (λ_{max} پیکروکروسین)، A= میزان جذب خوانده شده و H = میزان رطوبت نمونه.

۲-۷- تعیین اندازه ذرات پودر

برای سنجش اندازه و سطح مخصوص ذرات، ابتدا تعلیق پودرهای حاصل از خشک‌کن پاششی در اتانول تهیه شد و

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

سپس به کمک دستگاه انکسار نور لیزر مجهز به سل غیرمداوم (شرکت سازنده: Cilas، مدل: 1064، ساخت فرانسه) بر مبنای روابط زیر و توسط نرم‌افزار دستگاه محاسبه گردید [٥٥]:

$$D_{32} = \frac{\sum Z_i d_i^3}{\sum Z_i d_i^2}$$

$$SSA = \frac{6}{D_{32}}$$

D_{32} = نسبت حجم به سطح قطر متوسط ذره (μm)، Zi = تعداد ذرات با قطر di و SSA = سطح مخصوص ذرات ($m^2.cm^{-3}$)

٢-٨- راندمان ریزپوشانی

راندمان ریزپوشانی کروسین، از رابطه‌ی ٥ محاسبه شد. در مورد محاسبه راندمان ریزپوشانی سافرانال و پیکروکروسین نیز مقادیر طول موج جذب آنها در رابطه‌ی ٥ جایگزین شدند [٣٢].

$$\text{راندمان ریزپوشانی} = \frac{\text{مقدار جذب کروسین داخل کپسول + جذب حاصل از ترکیبات مؤثره}}{\text{مقدار جذب کروسین در عصاره آبی خشک شده انجمادی}} \times 100$$

٢-٩- میزان افت ترکیبات مؤثره زعفران از ریزکپسول‌ها در دما و رطوبت معین

ابتدا ریز کپسول‌های تهیه شده در فیلم‌های پلاستیکی از جنس پلی‌اتیلن با دانسیته‌ی پایین بسته‌بندی شدند. سپس به منظور بررسی اثر محافاظت‌کنندگی دیواره‌ها بر میزان کاهش کروسین، سافرانال و پیکروکروسین، نمونه‌ها به مدت ٤٥ روز در دو دمای ٢٥ و ٤٥ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت‌های نسبی ٢٣، ٥٧ و ٧٥ درصد نگهداری شدند. به منظور ایجاد رطوبت‌های نسبی مورد نظر، از محلول‌های اشباع نمک پتاسیم استات، نیترات منیزیم و کلرید سدیم استفاده شد. نمونه‌برداری هر ١٥ روز یکبار انجام و مقادیر ترکیبات مؤثر در رنگ، عطر و طعم (به ترتیب شامل کروسین، سافرانال و پیکروکروسین) اندازه‌گیری شدند [٥٦].

٢-١٠- نیمه عمر

پارامترهای سنیتیکی کاهش میزان ترکیبات رنگی بر طبق مکانیسم واکنش درجه اول (ثابت سرعت واکنش K و نیمه‌عمر کروسین، $t_{1/2}$) و بکارگیری رابطه‌ی ٦ محاسبه گردید. پارامتر K، شیب معادله خطی برازش یافته بر Ln ($E^{1\%}_{257,330,440}$) در برابر زمان و نیمه عمر($t_{1/2}$) است [٥٧].

$$t_{1/2} = \frac{Ln(0.5)}{K} = \frac{0.639}{K}$$

٢-١١- اندازه‌گیری دمای گذار شیشه‌ای

دمای گذار شیشه‌ای (T_g) با استفاده از دستگاه گرماسنج پویشی تفاضلی[1]، مجهز به سیستم خنک کننده نیتروژن مایع (شرکت سازنده: Perkin Elmer، مدل: Jade، ساخت آمریکا) تعیین گردید. ترکیبات ایندیوم و روی، برای کالیبراسیون دما و جریان گرما و از ظرف آلومینیومی میکرولیتری به عنوان مرجع و اندازه‌گیری دمای گذار شیشه‌ای نمونه‌ها استفاده شد. حدود ٥ میلی‌گرم از نمونه به داخل ظرف آلومینیومی منتقل شد. سرعت گرم و یا سرد کردن به میزان ٥ درجه سانتی‌گراد در دقیقه تنظیم گردید و دامنه دمای ارزیابی بین ٠ تا ٣٠٠ درجه سانتی‌گراد بود. دمای گذار شیشه‌ای از روی ترموگرام حاصله و با استفاده از نرم‌افزار محاسبه شد [٣٢].

٢-١٢- مشاهده ریزساختار ریزکپسول‌ها با میکروسکوپ الکترونی روبشی[2]

به منظور مشاهده‌ی ریزساختار ریزکپسول‌های تهیه شده، از میکروسکوپ الکترونی روبشی (شرکت سازنده: Oxford، مدل: S-360، ساخت انگلستان) استفاده شد. مقدار کمی از نمونه روی استاپ آلومینیومی پوشیده شده با لایه‌ای از کربن به قطر ١٢ میلی‌متر، پخش شد. در ادامه پس از پوشش‌دهی نمونه‌ها با لایه‌نازکی از طلا و برقراری خلأ در محفظه میکروسکوپ، شعاعی از الکترون‌های پرشتاب با ولتاژ حدود ١٠ کیلوولت بر نمونه‌ها اعمال (با توجه به شرایط فنی میکروسکوپ) و تصاویری در چندین بزرگنمایی‌تهیه شد [٥٧].

1. Differential Scanning Calorimetetry (DSC)
2. Scanning Electron Microscope (SEM)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

۲-۱۳- تعیین دانسیته توده[1]

۲۰ گرم از نمونه به داخل استوانه‌ی مدرج ریخته شد و سپس حجم نمونه از استوانه مدرج قرائت شد. سپس دانسیته توده با استفاده از رابطه‌ی ۷ محاسبه شد [٤١].

$$\rho_b = \frac{m}{V_b}$$

ρb= دانسیته‌ی توده (ظاهری) برحسب کیلوگرم بر مترمکعب، m = جرم توده برحسب کیلوگرم، V_b = حجم مربوط به توده‌ی جرم ماده غذایی برحسب مترمکعب.

۲-١٤- تجزیه و تحلیل آماری

فرایند تولید نمونه ها در ۲ تکرار و آزمون‌ها هر یک در ۳ تکرار انجام شدند. تأثیر نوع ماده‌ی دیواره (مالتودکسترین، صمغ عربی و پروتئین آب پنیر) بر پایداری ترکیبات مؤثره‌ی ریزپوشانی شده‌ی زعفران با روش خشک کن پاششی و همچنین بررسی پایداری مواد مؤثره‌ی ریزپوشانی شده‌ی زعفران طی ٤٥ روز نگهداری در دماهای ۲۵ و ٤٥ درجه سانتی‌گراد و رطوبت‌های نسبی مختلف (۲۳، ۵۷ و ۷۵ درصد) با استفاده از روش آنالیز واریانس[2] تعیین شد. مقایسه میانگین‌با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح آماری ۵ درصد و با بکارگیری نرم افزار Minitab 16 در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی پودر خشک شده عصاره آبی

ویژگی‌های فیزیکی وشیمیایی پودر عصاره آبی خشک شده‌ی توسط خشک‌کن انجمادی، در جدول ۱ نشان داده شده است. راندمان تولید عصاره آبی خشک شده‌زعفران، ۵۵/۳۳ درصد بود که نشان دهنده میزان مواد مؤثره‌محلول در آب می‌باشد. بادهیراجا (۱۹٤۲)، میزان مواد محلول در آب زعفران را ۵۵ تا ٦۵ درصد گزارش نمود. اکثر ترکیبات مؤثره‌ی زعفران، بویژه کروسین و پیکروکروسین در آب محلول می‌باشند [۵۸].

Table 1 Characteristics of freeze-dried saffron aqueous extract

Parameter	Value
Drying efficiency (%)	55.33
Moisture content (wet basis %)	6.45
Crocin *	255.27
Safranal *	45.46
Picrocrocin *	73.50

***** According to the Iranian National Standard No.259-2, the dimensionless indices of picrocrocin, safranal and crocin are calculated based on the direct reading of the absorbance for 1% aqueous solution of ground saffron stigmas at 257nm, 330nm and 440nm, respectively [51, 52, 59, 60].

۳-۲- تأثیر نوع ماده دیواره بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ریز کپسول‌های تولید شده

مطابق جدول ۲، تأثیر بیوپلیمرهای بکارگرفته شده به عنوان ماده پوشش‌دهنده (دیواره) روی همه‌ی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ریزکپسول‌های تولید شده معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). مقادیر رطوبت ریزکپسول‌های تهیه شده با مواد دیواره مالتودکسترین، پروتئین آب پنیر و صمغ عربی از ۳/۳۱ تا ۵/۷۲ درصد متغیر بود که به نظر می‌رسد، این تفاوت را می‌توان به اختلاف تعداد گروه‌های پیونددهنده با آب در مولکول‌های مالتودکسترین، پروتئین آب پنیر و صمغ عربی نسبت داد [٤٧]. نتایج نشان داد که راندمان ریزپوشانی پیکروکروسین و سافرانال ریزکپسول‌های تهیه شده با ماده دیواره پروتئین آب پنیر در مقایسه با مالتودکسترین و صمغ عربی تا حدودی بیشتر بود؛ حال آنکه در مورد کروسین، مالتودکسترین در مقایسه با مواد دیواره‌ای دیگر، تا حدودی باعث حفاظت بهتر گردید. همچنین اندازه ذرات در نمونه‌های ریزپوشانی شده با سه بیوپلیمر، اختلاف معنی‌داری نشان دادند (P <۰/۰۵). اندازه ذرات در نمونه‌های تهیه شده با صمغ عربی، کوچکترین و در نمونه‌های ریزپوشانی شده با پروتئین آب پنیر بزرگترین اندازه را نشان دادند.

1. Bulk Density
2. Analysis of Variance (ANOVA)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

Table 2 Effect of wall material on physicochemical properties of saffron extract microcapsules

Property	Wall material		
	Maltodextrin	**Whey Protein**	**Gum Arabic**
Moisture content (%)	3.31[c]	5.72[a]	5[b]
EE% of crocin	85.69[a]	48.43[c]	50.63[b]
EE% of safranal	87.54[b]	90.21[a]	75.21[c]
EE% of picrocrocin	75.22[b]	90.52[a]	66.22[c]
Spray drying efficiency (%)	70.65[a]	37.38[c]	47.52[b]
Density (kg/m^3)	400[a]	260[c]	310[b]
Particle size (µm)	15.55[b]	18.13[a]	12.60[c]

Averages with the same letters are not significantly different in each row (P<0.05)

٣-٣- بررسی نیمه عمر

پارامترهای سنیتیکی کاهش میزان ترکیبات در جدول ٣ نشان داده شده است. میزان از دست رفتن ترکیبات مؤثره زعفران به طور قابل ملاحظه‌ای به نوع و ترکیبات مواد دیواره بستگی دارد، به طوریکه دیواره تهیه شده از مالتودکسترین در حفظ ویژگی‌های ساختاری و کاهش میزان ترکیبات مؤثره زعفران (کروسین، پیکروکروسین و سافرانال) از ممانعت کنندگی بالاتری نسبت به پروتئین آب پنیر و صمغ عربی برخوردار بود. نتایج حاصله با مطالعه کمالی و همکاران (١٣٩١) در زمینه پایداری ترکیبات مؤثره ریزپوشانی شده زعفران با روش خشک‌کن پاششی مطابقت داشت [٢٩].

Table 3 Regression equations, determination coefficients and halflives of crocin, safranal and picrocrocin loss

Wall material	Regression equation	Determination coefficient (R^2)	Half-Life (Day)
Crocin (colour)			
Maltodextrin	Y=- 0.0022x+4.46	0.96	198[a]
Whey Protein	Y=- 0.007x+4.62	0.96	98[c]
Gum Arabic	Y= -0.0067x+4.50	0.99	102[b]
Safranal (aroma)			
Maltodextrin	Y=-0.0046x+4.4	0.98	150[a]
Whey Protein	Y=-0.0056x+4.5	0.95	123[b]
Gum Arabic	Y=-0.0077x+4.5	0.99	90[c]
Picrocrocin (taste)			
Maltodextrin	Y=-0.0038x+4.4	0.93	180[a]
Whey Protein	Y=-0.0062x+4.5	0.98	111[b]
Gum Arabic	Y=-0.0063x+4.5	0.99	110[b]

For each quality attribute the data with the same letters are not significantly different (P<0.05).

٣-٤- تأثیر رطوبت نسبی و دما بر میزان نگهداری ترکیبات مؤثره زعفران

میزان افت مواد مؤثره زعفران ریزپوشانی شده با مالتودکسترین، پروتئین آب پنیر و صمغ عربی در شکل‌نشان داده شده است. مطابق شکل ١، در تمامی‌دماهای مورد بررسی، با افزایش رطوبت نسبی، میزان افت کروسین، سافرانال و پیکروکروسین با گذشت زمان بیشتر شد و در رطوبت ٧٥٪ به بیشینه خود رسید. این نتایج حاکی از آن بود که حضور این سه ترکیب، به میزان زیادی به فعالیت آبی پودر بستگی دارد و به نظر می‌رسد که میزان رطوبت یا فعالیت آبی ریزکپسول‌ها، تعیین کننده نرخ انتشار است [٣٢]. مطالعات متعددی در زمینه ارتباط میزان

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

رطوبت نسبی و میزان رهایش یا پایداری ترکیبات ریزپوشانی شده انجام شده است [٦١-٦٣]. برای نمونه در تحقیقی مشابه، یوشی و همکاران (٢٠٠١) گزارش کردند که رهایش اتیل بوتیرات با زیاد شدن رطوبت نسبی افزایش یافت. همچنین آنها نشان دادند، سرعت رهایش علاوه بر رطوبت، به نوع ماده ریزپوشانی شده نیز بستگی دارد [٦٤]. لی و همکاران (٢٠١١) در تحقیقی دیگر، نرخ از دست رفتن کاروتنوئید و بروز تغییرات نامطلوب کیفی در زعفران را تحت شرایط مختلف فعالیت آبی (aw) و دما مورد مطالعه قرار دادند. آنها نشان دادند که میزان تخریب کاروتنوئید و دمای انتقال شیشه‌ای نمونه‌های ریزپوشانی شده، به شدت به میزان رطوبت و دما حساس بود و در رطوبت نسبی ٠/٤٣ تا ٠/٥٣، رهایش سافرانال توسعه پیدا یافته در حالی که میزان تخریب کاروتنوئید در حد پایینی باقی می‌ماند [٦٣].

در همین ارتباط، تحقیقی که روی میزان رهایش لیمونن از پودرهای دارای دیواره‌های مختلف در دمای ٥٠ درجه سانتی گراد انجام شد، مشخص نمود که سرعت خروج لیمونن از ریزکپسول‌ها بستگی به میزان رطوبت نسبی داشت و با افزایش آن تشدید می‌گردد [٦٥]. همچنین به نظر می‌رسد افزایش میزان انتشار مواد مؤثره زعفران بعد از حدود ٣٠ روز، به دلیل کاهش پایداری و انسجام بیوپلیمرهای بکار رفته به عنوان ماده پوشش‌دهنده (دیواره) و افزایش نرخ انتشار تحت تنش‌های محیطی دما و رطوبت باشد. جذب رطوبت از محیط باعث تورم دیواره بیوپلیمری گشته و همزمان دمای انتقال شیشه‌ای آن نیز کاهش یابد[1]. در نتیجه از انسجام و در هم‌تنیدگی زنجیره‌های پلیمری کاسته شده و میزان جنبش مولکولی ذرات ریزپوشانی شده افزایش می‌یابد. در این شرایط بر اثر فروپاشی بافت مواد اولیه و همچنین افزایش ناگهانی ضریب مولکولی ترکیبات مؤثره، ضریب انتشار این ترکیبات از داخل ریزکپسول‌ها افزایش یافته و میزان افت آنها در طول زمان تشدید می‌شود [٥٤]. البته بررسی این متغیرها و توضیح دقیق مکانیسم اثر هر یک از آنها به سادگی امکان پذیر نیست و نیاز به تحقیقات گسترده‌تری دارد.

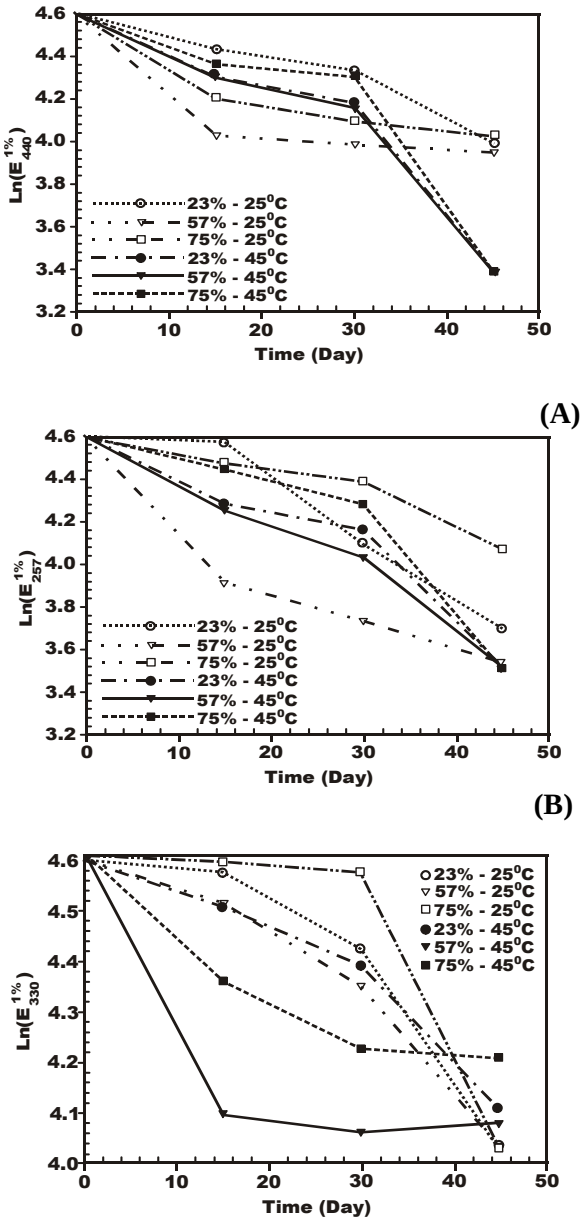

Fig 1 The loss rate of saffron bioactive compounds during 45 days storage of microcapsules at different temperatures and relative humidities : **A)** crocin , **B)** picrocrocin and **C)** safranal

٣-٥- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی

شکل‌های ٢ و ٣، تعدادی از تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی ویژگی‌های مرفولوژی (ریخت شناسی) نظیر اندازه و شکل ریزکپسول‌های تهیه شده با مواد دیواره‌ای، دما و رطوبت‌های نسبی مختلف را نشان می‌دهند. مطابق شکل‌ها،

١. درجه پلاستیکی شدن ماده دیواره کاهش و پلیمر رفتار لاستیکی (Rubbery) از خود نشان می‌دهد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

پروتئین آب پنیر، مالتودکسترین و صمغ عربی ساختمان فضایی بسیار متفاوتی دارند. مالتودکسترین ساختمانی کاملاً کروی با سطحی بسیار مضرسی (درهم- دانه قندی) دارد (در دمای محیط و رطوبت‌های نسبی پایین)، در حالیکه صمغ عربی و به ویژه پروتئین آب پنیر، ساختمان کروی تحلیل یافته با تعداد حفرات[1] بیشتری را دارا می‌باشد؛ به طوری که در پروتئین آب پنیر، بر تعداد و عمق حفرات افزوده شده و شکل چروکیده‌تری می‌یابند. بسیاری از خصوصیات پودرهای ریزپوشانی شده به درجه و تعداد حفرات روی سطح بستگی دارد. گزارش شده، حضور این حفرات روی سطح، اثر منفی بر جریان پذیری پودرهای ریزپوشانی شده دارد [٦٦]. کمالی و همکاران (١٣٩١) نشان دادند که ریزکپسول‌های حاصل از مالتودکسترین، کروی‌تر با سطح صاف‌تر و دارای چین و چروک‌های کمتری نسبت به ریزکپسول‌های تهیه شده با پلی وینیل پیرولیدون بودند. آنها اعلام نمودند که نوع ماده دیواره روی ساختار فیزیکی ریزکپسول‌ها مؤثر است [٢٩]. در این مطالعه نیز نتایج نشان دادند با افزایش مقادیر دما و رطوبت، به ویژه در دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ٧٥٪، شکل ریزکپسول‌ها از حالت کروی تغییر پیدا نموده، تعداد حفرات و دندانه‌ها به طور گسترده‌ای افزایش می‌یابد؛ به صورتی که متراکم شدن ساختار ریزکپسول‌ها و عمق حفرات به طور مشهودی قابل مشاهده بود. همچنین ریزکپسول‌های تهیه شده با دیواره مالتودکسترین در دمای ٢٥ درجه سانتی‌گراد و رطوبت‌های نسبی ٢٣ و ٥٧ درصد، ساختمان تقریباً کروی داشته و دارای دندانه‌های بسیاری روی سطح خود بودند، در حالیکه ریزکپسول‌های تهیه شده با صمغ عربی و پروتئین آب پنیر و همچنین ریزکپسول‌های تهیه شده با ماده دیواره مالتودکسترین در دمای ٤٥ درجه سانتی گراد و رطوبت‌های نسبی بالا (٥٧ و ٧٥ درصد) تا حد بسیار زیادی تخریب شده بودند. به نظر می‌رسد، این اختلافات مشهود در شکل ظاهری و کیفیت سطحی ریزکپسول‌ها، می‌تواند ناشی از تفاوت بین قدرت پوشانندگی و ساختار فضایی مالتودکسترین با صمغ عربی و پروتئین آب پنیر باشد. وجود فرورفتگی و ایجاد حفرات عمیق در سطح ریز کپسول‌های دارای صمغ عربی و به ویژه پروتئین آب پنیر (شکل)، احتمالاً مربوط به پایین‌تر بودن خاصیت ویسکوالاستیک این ترکیب در مقایسه با مالتودکسترین است که قادر به تحمل تنش‌های ناشی از خروج سریع آب در مراحل اولیه ی خشک کردن نبوده و باعث ایجاد حفره می‌شود. همچنین این احتمال نیز وجود دارد که ایجاد چین و چروک‌های سطحی و حفرات در سطح ریزکپسول در اثر تنش‌های مکانیکی ناشی از شرایط خشک کردن بر مواد دیواره باشد. از طرف دیگر، به نظر می‌رسد حضور لاکتوز در پروتئین آب پنیر، دمای لازم برای گذار از حالت شیشه‌ای و رسیدن به ساختار نرم و لاستیکی را کاهش می‌دهد. در این شرایط، ضریب انتشار و نفوذ مولکول‌های کوچک اندازه به داخل شبکه پروتئینی افزایش می‌یابد و از همین رو سرعت خروج و رهایش از ریزکپسول‌های تهیه شده با پروتئین آب پنیر نسبت به مالتو دکسترین بیشتر خواهد بود. به نظر می‌رسد، ساختمان کروی و مسطح مالتودکسترین در دمای محیطی و همچنین راندمان بالای تولید (٦٠ تا ٧٠ درصدی) برای تهیه ریزکپسول‌های زعفران مناسب می‌باشد که قبلاً با انجام آزمون‌های پایداری تأیید شده است.

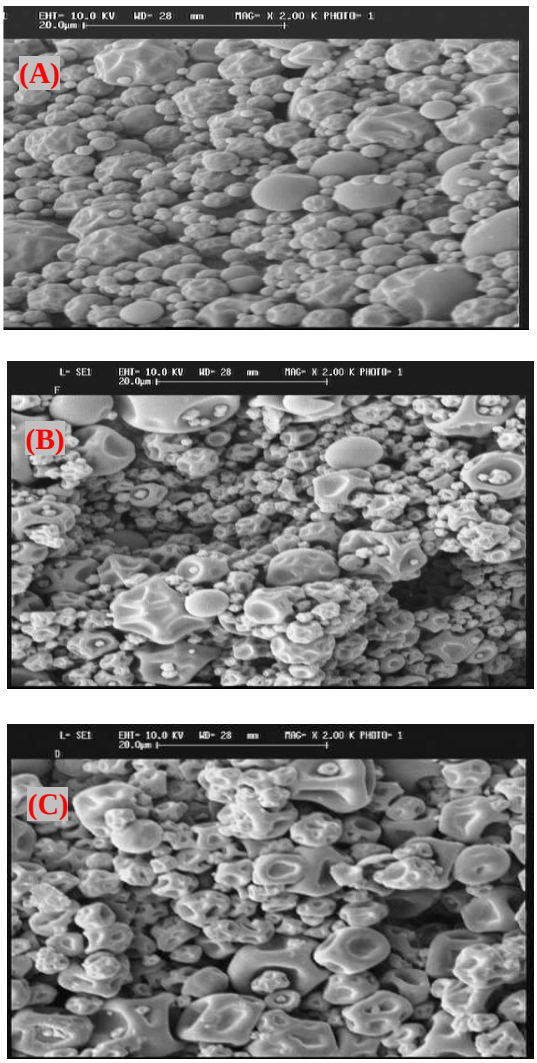

Fig 2. SEM micrographs of saffron extract microcapsules immediately after preparation: **A)** maltodextrin (Mag.2000X), **B)** gum arabic (Mag.2000X) and **C)** whey protein (Mag.2000X).

1. Dent

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

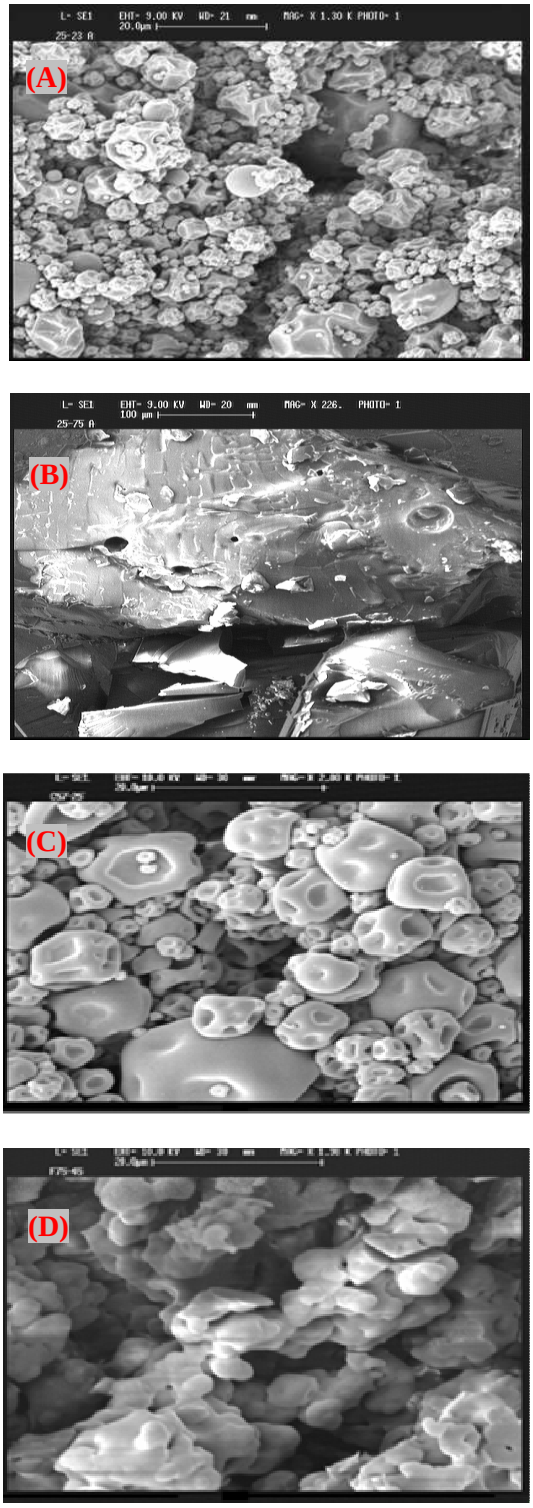

Fig 3. SEM micrographs of saffron extract microcapsules stored at different temperatures and relative humidities for 45 days:**A)** maltodextrin : 25ºC, RH:23%, Mag.1300X , **B)** maltodextrin : 45ºC, RH:75%, Mag.226X , **C)** whey protein : 25ºC, RH.57% ,Mag.1200X and **D)** gum arabic: 45ºC, RH.75%, Mag.1300X

۳-٦- آزمون حرارتی افتراقی

در دمای بالاتر از دمای انتقال، امکان رهایش و انتقال مواد هسته به خارج از مواد دیواره وجود دارد. همچنین هر شرایطی که باعث ایجاد شکل بلوری در ساختار پلیمرها شود، موجب تسریع رهایش و از دست رفتن ماده‌ی ریزپوشانی شده می‌گردد. در برخی از پلیمرها، در بالای دمای انتقال شیشه‌ای، احتمال قرارگیری مولکول‌ها در کنار یکدیگر و ایجاد نواحی کریستالی موضعی زیاد می‌شود. در این شرایط مولکول‌ها ماده ریزپوشانی شده به قسمت‌های بی‌شکل و در نهایت به سطح پلیمر رانده شده و نتیجه آن خروج و از دست رفتن ماده هسته از ریز کپسول‌ها می‌باشد [٦٧]. ترموگرام مالتودکسترین و مقادیر دمای شیشه‌ای ریز کپسول‌های تهیه شده از مالتودکسترین در شکل ٤ نشان داده شده است.

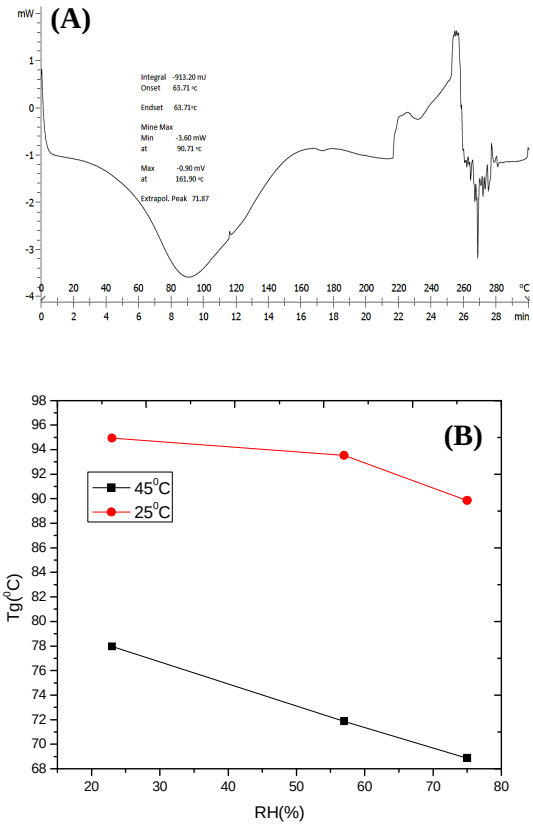

Fig 4. A) DSC thermogram of maltodextrin, **B)** effect of moisture content on the glass transition temperature of saffron extract microcapsules prepared with maltodextrin

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

با مشاهده ترموگرام مالتودکسترین، می‌توان پیک مشخصی را در دمای ۸۷/۷۱ درجه سانتی‌گراد مشاهده نمود. لازم به ذکر است، پیک‌های دیگری در هنگام افزایش حرارت پس از دمای حدود ۲٦۰ درجه سانتی‌گراد مشاهده شدند که با توجه به نتایج بدست آمده در قسمت تعیین ساختار، می‌توان پیک بدست آمده را به دلیل تغییر فاز مولکولی مالتودکسترین تفسیر نمود که در طی گرم کردن حاصل شده است.

تأثیر رطوبت نسبی بر دمای انتقال شیشه‌ای ریز کپسول‌های تهیه شده با مالتودکسترین نیز در شکل ٤ (ب) نشان داده شده است. مطابق شکل، با افزایش فعالیت آبی، دمای گذار شیشه‌ای کاهش یافت؛ به طوری که در رطوبت بالا (۵۷٪ به بالا)، به کمتر از دمای محیط رسید. افت شدید و قابل ملاحظه دمای گذار شیشه‌ای با افزایش رطوبت را می‌توان به ویژگی آبدوستی هیدروکلوئیدها مرتبط دانست. هیدروکلوئیدها با ایجاد اتصالات آبی در فرآوردهای غذایی بر میزان محتوی رطوبت و فعالیت آبی آنها تأثیر گذار می‌باشد [۳۲]. به نظر می‌رسد در رطوبت نسبی بالا، بخار آب می‌تواند به عنوان یک عامل پلاستایزر روی حالت آمورف مواد عمل نموده و سبب کاهش دمای انتقال شیشه‌ای گردد [٦۸]. همچنین گزارش شده است که با افزایش محتوای رطوبتی، دمای انتقال شیشه‌ای سیستم ماتریکس- کاروتنوئید (ریزکپسول) کاهش می‌یابد که در نتیجه آن، از درهم تنیدگی زنجیره‌های پلیمری کاسته شده و جنبش مولکولی زیاد می‌گردد. در این شرایط فضای خالی زیادی در داخل شبکه پلیمری بوجود می‌آید و باعث فرو پاشی بافت اولیه و افزایش ناگهانی ضریب مولکولی می‌شود [۳۱]. این توضیحات علت تشدید شدن سرعت رهایش ترکیبات مؤثره از ریز کپسول‌ها در رطوبت‌های بالا را به روشنی بیان می‌کند. مطابق شکل ٤ (ب)، دمای انتقال شیشه ای در نمونه‌های ۲۵ درجه سانتی‌گراد بیشتر از نمونه‌های ٤۵ درجه سانتی‌گراد بود که حاکی از حفاظت کنندگی بیشتر نمونه‌های ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. در این بین، رطوبت ۲۳٪ درصد و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بیشترین دمای انتقال شیشه ای را داشت. همان گونه که قبلاً اشاره شد، با افزایش دما و رطوبت، آهنگ خروج ترکیبات مؤثره زعفران از هر سه نوع ریز کپسول‌های تهیه شده با دیواره‌های مختلف، سرعت گرفت. به طوری که در رطوبت ۷۵ درصد و دمای ٤۵ درجه سانتی‌گراد زمان ماندگاری آنها در کپسول به کمتر از چند روز رسید. این رویداد با در نظر گرفتن منحنی شکل ٤ برای دیواره مالتودکسترینی کاملاً قابل توجیه بود.

٤- نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که نوع دیواره پلیمری بر میزان راندمان و میزان ترکیبات رنگی (کروسین)، عطر (سافرانال) و طعم (پیکروکروسین) در ریزکپسول‌ها در مرحله خشک کردن و همچنین طی مدت نگهداری مؤثر بود. مقایسه میزان افت ترکیبات مؤثره زعفران از ریز کپسول‌هایی که در دماهای مختلف و رطوبت‌های مختلف به روش خشک کردن پاششی تهیه شده بودند، نشان داد که با افزایش دما و رطوبت نسبی، میزان خروج ترکیبات موثره شدت می‌یابد. به طوری که با افزایش محتوای رطوبتی، دمای گذار شیشه‌ای سیستم ماتریکس- کاروتنوئید (ریزکپسول) کاهش یافت. همچنین مشخص گردید که مقادیر پیکروکروسین و سافرانال ریزکپسول‌های تهیه شده با ماده دیواره پروتئین آب پنیر در مقایسه با ماده دیواره مالتودکسترین و صمغ عربی تا حدودی بیشتر بود؛ حال آنکه در مورد کروسین (قدرت رنگی)، مالتودکسترین در مقایسه با ماده دیواره‌های دیگر تا حدودی باعث حفاظت بهتر گردید. در نهایت، با استفاده از یافته‌های این تحقیق می‌توان پیشنهاد داد که مالتودکسترین از نظر تولید و حفاظت کنندگی ترکیبات مؤثره زعفران نسبت به پروتئین آب پنیر و صمغ عربی از کیفیت بهتری برخوردار می‌باشد.

۵- سپاسگزاری

این مطالعه، بخشی از طرح پژوهشی سفارش شده توسط شرکت بازرگانی زعفران اسفدان بوده و از حمایت مالی آن شرکت برخوردار بوده است. همچنین، از مساعدت و همکاری کارکنان آزمایشگاه مؤسسه علوم و صنایع غذایی مشهد، صمیمانه تشکر می‌گردد.

٦- منابع

[1] Raina, B.L., Agarwal, S.G., Bhatia, A.K., and Gaur, G.S. 1996. Changes in Pigments and Volatiles of Saffron (Crocus sativusL) During Processing and Storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 71(1): 27-32.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[2] Alonso, G., Varon, R., Salinas, M., and Navarro, F. 1993. Auto-oxidation of crocin and picrocrocin in saffron under different storage conditions. *Bollettino chimico-farmaceutico*, 132(4): 116-120.

[3] Morimoto, S., Umezaki, Y., Shoyama, Y., Saito, H., Nishi, K., and Irino, N. 1994. Post-harvest degradation of carotenoid glucose esters in saffron. *Planta medica*, 60(5): 438-440.

[4] Razaghi, R. and Norbakhsh, R. 2002. Evaluation of the effects of antimicrobial compounds saffron. *The third National Conference of Iranian Saffron, Mashhad*: 224-239. (In Persian).

[5] Alijanianzadeh, M. and Zarei Jaliani, H. 2009. Saffron carotenoid effects on the polymerization of microtubules and Hela cell growth. (In Persian).

[6] Yeganeh, M., Khanafari, A., Fallahian, M., and Sharifan, A. 2010. Evaluation of biological effect of saffron extract on stimulation of enterococcus hirae antimicrobial activity. *Journal of Innovation in Food Science and Technology*, 2(2). (In Persian).

[7] Akhoundzadeh, S., Mohammadi, M., Khani, M., Jamshidi, A., Daliri, A., and BASTANI, S. 2003. Comparison of dried ethanolic extract of croucus sativus l. and imipramine in the treatment of mild to moderate depression: a double-blind, randomised trial. (In Persian).

[8] Sadegheian, A. 2013. Evaluation of the effect of whey protein-conjugation of modified starch functional properties of essential oil of cardamom oil in water emulsion and micro-capsules. *Doctoral thesis. Department of Food Science. Ferdowsi University of Mashhad*. (In Persian).

[9] López-Rubio, A., Sanchez, E., Wilkanowicz, S., Sanz, Y., and Lagaron, J.M. 2012. Electrospinning as a useful technique for the encapsulation of living bifidobacteria in food hydrocolloids. *Food Hydrocolloids*, 28: 159-167.

[10] Kwak, H.-S. 2014. Nano-and Microencapsulation for Foods. 39.

[11] Ezhilarasi, P.N., Karthik, P., Chhanwal, N., and Anandharamakrishnan, C. 2012. Nanoencapsulation Techniques for Food Bioactive Components: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 6: 628-647.

[12] López-Rubio, A. and Lagaron, J.M. 2012. Whey protein capsules obtained through electrospraying for the encapsulation of bioactives. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 13: 200-206.

[13] 2010. Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing.

[14] Calame, W., Weseler, A.R., Viebke, C., Flynn, C., and Siemensma, A.D. 2008. Gum arabic establishes prebiotic functionality in healthy human volunteers in a dose-dependent manner. *The British journal of nutrition*, 100: 1269-75.

[15] Montenegro, M.A., Borsarelli, C.D., Valle, L., and Boiero, M.L. 2012. Gum Arabic: more than an edible emulsifier.

[16] Heidebach, T., Först, P., and Kulozik, U. 2012. Microencapsulation of probiotic cells for food applications. *Critical reviews in food science and nutrition*, 52: 291-311.

[17] Riveros, B., Ferrer, J., and Bórquez, R. 2009. Spray Drying of a Vaginal Probiotic Strain of Lactobacillus acidophilus. *Drying Technology*, 27: 123-132.

[18] Karlton-Senaye, B.D., Tahergorabi, R., Giddings, V.L., and Ibrahim, S.A. 2015. Effect of gums on viability and β - galactosidase activity of Lactobacillus spp. in milk drink during refrigerated storage. *International Journal of Food Science & Technology*, 50: 32-40.

[19] Mosilhey, S.H. 2003. Influence of different capsule materials on the physiological properties of microencapsulated Lactobacillus acidophilus. *Abstract Dissertation. Institut für Lebensmitteltechn. Bonn*.

[20] Gouin, S. 2004. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science & Technology*, 15: 330-347.

[21] Dianawati, D., Mishra, V., and Shah, N.P. 2013. Survival of Bifidobacterium longum 1941 microencapsulated with proteins and sugars after freezing and freeze drying. *Food Research International*, 51: 503-509.

[22] Kaushik, V. and Roos, Y.H. 2007. Limonene encapsulation in freeze-drying of gum Arabic–sucrose–gelatin systems. LWT-

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

[31] Selim, K., Tsimidou, M., and Biliaderis, C. 2000. Kinetic studies of degradation of saffron carotenoids encapsulated in amorphous polymer matrices. *Food Chemistry*, 71(2): 199-206.

[32] Najafi, M. 2010. The use of ultrasound in the production of cardamom oil emulsion and microencapsulated active components. Doctoral thesis. Department of Food Science. Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian).

[33] Wagner, L.A. and Warthesen, J.J. 1995. Stability of Spray‐Dried Encapsulated Carrot Carotenes. Journal o*f food Science*, 60(5): 1048-1053.

[34] Bozorgmehr, R. 2005. Liquified Saffron. (U.S. Pat.0226977).

[35] Hosseiny nejad, M., Shahidi, F., and Maleksadeh, R. 2002. Evaluation of quality characteristics and microbial contamination of saffron samples dried by microwave. (In Persian).

[36] Bolandi, M. and Ghoddusi, H. 2006. Flavour and colour changes during processing and storage of saffron (Crocus sativus L.). *Developments in Food Science*, 43: 323-326.

[37] Shahidi, F., Sedaghat, N., Farhoush, R., and Mousavi-nik, H. 2008. Shelf-life determination of saffron stigma: Water activity and temperature studies.

[38] Tsimidou, M. and Tsatsaroni, E. 1993. Stability of saffron pigments in aqueous extracts. *Journal of Food Science*, 58(5): 1073-1075.

[39] Heydari , S. 2012. Determination of different methods for the extraction of active compounds from samples of saffron. First National Conference on the latest research results Iranian saffron, Torbate Haydarieh. (In Persian).

[40] Alonso, G., Varon, R., Gomez, R., Navarro, F., and Salinas, M. 1990. Auto‐oxidation in Saffron at 40° C and 75% Relative Humidity. Journal of food science, 55(2): 595-596.

[41] Razavi, M. and Akbari, A. 2006. Biophysical Properties of Agricultural Products and Foods. *Ferdowsi University of Mashhad Press*. (In Persian).

[42] Agarwal, S.G., Thappa, R.K., Agnihotri, V.K., Suri, O.P., and Qazi, G.N. 2006. Herbs Food Science and Technology, 40(8): 1381-1391.

[23] Apintanapong, M. and Noomhorm, A. 2003. The use of spray drying to microencapsulate 2acetyl 1pyrroline, a major flavour component of aromatic rice. International journal of food science & technology, 38(2): 95-102.

[24] Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., and Saurel, R. 2007. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40(9): 1107-1121.

[25] F. Gibbs, S.K., Inteaz Alli, Catherine N. Mulligan, Bernard. 1999. Encapsulation in the food industry: a review. *International journal of food sciences and nutrition*, 50(3): 213-224.

[26] Lim, H.-K., Tan, C.-P., Bakar, J., and Ng, S.-P. 2012. Effects of different wall materials on the physicochemical properties and oxidative stability of spray-dried microencapsulated red-fleshed pitaya (Hylocereus polyrhizus) seed oil. *Food and Bioprocess Technology*, 5(4): 1220-1227.

[27] Khazaei, K.M., Jafari, S., Ghorbani, M., and Kakhki, A.H. 2014. Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. *Carbohydrate polymers*, 105: 57-62.

[28] Sharaiee, P. 2012. Microencapsulated active ingredients of saffron. *First National Conference on the latest research results Iranian saffron. Torbate Haydarieh*. (In Persian).

[29] Kamali, A., Sharayei, P., Niazmand, R., and Eynafshar, S. 2012. Effect of different concentration of maltodextrin and polyvinylpyrrolidone on stability of saffron's effective compounds microencapsulated by spray drying. *Journal of research and innovation in food science technology*, 1(4): 241-254. (In Persian).

[30] Cormier, F., Dufresne, C., and Dorion, S. 1995. Enhanced crocetin glucosylation by means of maltosyl-β-cyclodextrin encapsulation. *Biotechnology techniques*, 9(8): 553-556.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

for pigments and flavors with solvents, centrifuging and mixing to form solutions. (U.S. Pat.7, 070,823).

[43] Fernandez, E.G. 2002. Process for obtaining an extract of saffron. (U.S. Pat.6, 458,399).

[44] Hadizadeh, F., Mohajeri, S., and Seifi, M. 2010. Extraction and purification of crocin from saffron stigmas employing a simple and efficient crystallization method. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 13(14): 691-698.

[45] Hariri, A.T., Moallem, S.A., Mahmoudi, M., Memar, B., and Hosseinzadeh, H. 2010. Sub-acute effects of diazinon on biochemical indices and specific biomarkers in rats: protective effects of crocin and safranal. *Food and chemical toxicology*, 48(10): 2803-2808.

[46] Hemmati kakhki, A. 2001. Optimization of effective parameters on production of food color from saffron petals. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 15(2): 13-20. (In Persian).

[47] Kanakdande, D., Bhosale, R., and Singhal, R.S. 2007. Stability of cumin oleoresin microencapsulated in different combination of gum arabic, maltodextrin and modified starch. *Carbohydrate Polymers*, 67(4): 536-541.

[48] Mahdavi, K. 2012. Effect of different drying methods on anthocyanin remaining saffron flower petals Dried petals. *First National Conference on the latest research results Iranian saffron. Torbate Haydarieh*. (In Persian).

[49] Rajabzadeh, G., Malakzadeh, G., and Sharif, A. 2007. Comparative extraction of saffron oleoresin in different extraction methods and solvents. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 3(1): 57-64. (In Persian).

[50] Tabeshpor, j. 2010. The effect of saffron on the neurotoxicity of acrylamide. *MS Thesis, School of Pharmacy*, (University of Mashhad). (In Persian).

[51] Iranian National Standardization Organization. 2013. Saffron - Specification, *Iranian National Standardization*, No.259-1, 5th. Revision. (In Persian).

[52] Iranian National Standardization Organization. 2013. Saffron - Test methods, *Iranian National Standardization*, No.259-2, 5th. Revision. (In Persian).

[53] Ghorani, B., Kadkhodaee, R., and Emadzadeh, B. Optimization and evaluation of the saffron extraction condition in the binary and ternary solvent systems. *Journal of Food Technology and Nutrtion*, (In Press).

[54] Najafi, M.N., Kadkhodaee, R., and Mortazavi, S.A. 2011. Effect of drying process and wall material on the properties of encapsulated cardamom oil. *Food biophysics*, 6(1): 68-76.

[55] Linares, E., Larre, C., and Popineau, Y. 2001. Freeze-or spray-dried gluten hydrolysates. 2.: Effect of emulsification process on droplet size and emulsion stability. *Journal of food engineering*, 48(2): 137-146.

[56] Greenspan, L. 1977. Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions. *Journal of Research of the National Bureau of Standards*, 81(1): 89-96.

[57] Sharayei, P., Eynafshar, S., Kamal, A., and Nyazmand, R. 2014. Effect of type and concentration of wall material on microencapsulated saffron color compounds by freeze drying. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 15(1): 25-38. (In Persian).

[58] Budhiraja, K. 1942. Kashmir saffron with methods for testing its purity. *J. Ind. Chem. Soc*, 25: 135.

[59] Thermo Scientific. 2012. Extinction Coefficients: A Guide to Understanding Extinction Coefficients, with Emphasis on Spectrophotometric Determination of Protein Concentration, *Thermo Scientific*, 6, TR0006.3.

[60] 2010. Spices - Saffron (Crocus sativus L.) Part 2: Test methods, *ISO*, 3632,

[61] Liang, R., Huang, Q., Ma, J., Shoemaker, C.F., and Zhong, F. 2013. Effect of relative humidity on the store stability of spray-dried beta-carotene nanoemulsions. *Food Hydrocolloids*, 33(2): 225-233.

[62] Tsimidou, M. and Biliaderis, C.G. 1997. Kinetic studies of saffron (Crocus sativus L.) quality deterioration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(8): 2890-2898.

[63] Li, N., Taylor, L.S., and Mauer, L.J. 2011. Degradation kinetics of catechins in green tea

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

powder: effects of temperature and relative humidity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(11): 6082-6090.

[64] Yoshii, H., Soottitantawat, A., Liu, X.-D., Atarashi, T., Furuta, T., Aishima, S., Ohgawara, M., and Linko, P. 2001. Flavor release from spray-dried maltodextrin/gum arabic or soy matrices as a function of storage relative humidity. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2(1): 55-61.

[65] Soottitantawat, A., Yoshii, H., Furuta, T., Ohgawara, M., Forssell, P., Partanen, R., Poutanen, K., and Linko, P. 2004. Effect of water activity on the release characteristics and oxidative stability of D-limonene encapsulated by spray drying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(5): 1269-1276.

[66] Rosenberg, M. and Sheu, T. 1996. Microencapsulation of volatiles by spray-drying in whey protein-based wall systems. *International Dairy Journal*, 6(3): 273-284.

[67] Biliaderis, C., Lazaridou, A., and Arvanitoyannis, I. 1999. Glass transition and physical properties of polyol-plasticised pullulan–starch blends at low moisture. *Carbohydrate Polymers*, 40(1): 29-47.

[68] Burnett, D., Thielmann, F., and Booth, J. 2004. Determining the critical relative humidity for moisture-induced phase transitions. *International journal of pharmaceutics*, 287(1): 123-133.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]

The Effect of Biopolymer Type, Temperature and Relative Humidity on the Physicochemical Characteristics and Stability of Microencapsulated Bioactive Compounds of Saffron

Ghorani, B. [1*], Kadkhodaee, R. [2], Alehosseini, A.[3]

1.Assitant Professor, Department of Food Nanotechnology ,Research Institute of Food Science & Technology (RIFST),Mashhad, Iran
2.Associate Professor, Department of Food Nanotechnology ,Research Institute of Food Science & Technology (RIFST),Mashhad, Iran
3.PhD Student , Department of Food Nanotechnology ,Research Institute of Food Science & Technology (RIFST),Mashhad, Iran
(**Received: 2015/11/30 Accepted: 2016/05/28**)

The purpose of this research was to encapsulate the bioactive compounds of saffron (colour, taste and aroma) in order to manufacture a high-economic-value product. For this purpose, the effect of different bio-polymers, Maltodextrin, Whey protein and Gum arabic on the stability of microencapsulated bioactive compounds of saffron with the spray dryer was evaluated. The result showed that the encapsulation efficiency and the amount of saffron compounds were highly affected by type of biopolymers, relative humidity and temperature during the drying process and storage. The picrocrocin and safranal content in microcapsules prepared with whey protein were at the highest compared to the other wall materials, whereas in the case of colour strength, maltodextrin showed better protection for the crocin .This research suggested that the microcapsules containing maltodextrin has a better quality in terms of both efficiency (mass production) and protection of bioactive compounds among other wall materials (whey protein and gum arabic) and can be recommended to the industry. At all the temperature examined, as the relative humidity increased, the loss rates of crocin, safranal and picrocrocin rose and reached its maximum at 75% relative humidity. The results showed that with increasing temperature and humidity, particularly at 45 ° C and 75% humidity, the spherical from (morphology) of micro-capsules has been changed and the number of cavities and dents widely increased. Also as the relative humidity increased, glass transition temperature of maltodextrin decreased.

Keywords: Microcapsules of saffron, Bioactive compounds, Maltodextrin, Gum arabic, Whey protein

* Corresponding Author E-Mail Address: b.ghorani@rifst.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-12]