بهینه‌سازی تولید نانو کمپلکس کنسانتره پروتئین آب پنیر – صمغ عربی حامل آستاگزانتین با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM)

نفیسه شرافت[۱]، حبیب الله میرزایی[۲*]، سید مهدی جعفری[۳]، رضا صفری[۴]، مهدی کاشانی نژاد[۵]

۱- دانشجوی دکترای مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

۲- دکترای علوم و صنایع غذایی، دانشیار گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

۳- دکترای علوم و صنایع غذایی، استاد گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

۴- دکترای تکنولوژی صنایع غذایی، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، ساری.

۵- دکترای علوم و صنایع غذایی، استاد گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

(تاریخ دریافت: ۹۷ /۱۰/۰۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۷/۲۳)

چکیده

آستاگزانتین رنگدانه کارتنوییدی است که به‌عنوان دفع‌کننده رادیکال‌های آزاد و اکسیژن‌های فعال، مکمل غذایی و رنگ‌دهنده طبیعی می‌باشد و همچنین به مصارف درمانی آن توجه فراوانی شده است و آنرا سوپرآنتی‌اکسیدان طبیعی نامیدند. از طرفی آستاگزانتین به دلیل غیراشباعیت بالا، حساس به عوامل محیطی بوده که با ریزپوشانی می‌توان آن را در پوشش‌های مناسب قرار داد و به فراورده غذایی اضافه کرد تا به‌صورت کنترل شده و تحت شرایط خاص آزاد شود. در این پژوهش، ریزپوشانی آستاگزانتین در پوشش ترکیبی صمغ عربی و کنسانتره پروتئین آب پنیر انجام شد. در این مرحله، متغیرهای مستقل نسبت هر کدام از دیواره‌ها، صمغ عربی (۰/۵، ۱، ۱/۵ درصد)، کنسانتره پروتئین آب پنیر (۲، ٤ و ٦ درصد) و همچنین متغیر pH (٤/۵، ٦/۵، ۸/۵) در نظر گرفته شد و تاثیر آن‌ها روی کدورت، ویسکوزیته، اندازه قطرات، پتانسیل زتا و پایداری نانو کمپلکس بررسی گردید. به‌منظور یافتن pH بهینه تشکیل کمپلکس، میزان جذب در محدوده وسیعی از pH (۹-۳) بررسی شده و pH=٤/۵ برای تشکیل کمپلکس کنسانتره پروتئین آب پنیر- صمغ عربی تعیین شد. همچنین براساس نتایج بدست آمده از روش سطح پاسخ، تیمار شماره-١٦ (GA ٪۱/۵ , WPC ٦٪ و pH=٤/۵) با پایداری مناسب، بیشترین ویسکوزیته، بیش‌ترین کدورت، کمترین اندازه قطرات و بیشترین پتانسیل زتا به‌عنوان نمونه بهینه تعیین شد. در پایان، نسبت ۱/۵ به ٦ بین WPC/GA بهترین نسبت برای تشکیل بالاترین کمپلکس مطرح شد.

کلید واژگان: صمغ عربی، کنسانتره پروتئین آب پنیر، نانو-کمپلکس، بهینه‌سازی، روش سطح پاسخ.

* مسئول مکاتبات: mirzaeihabib1@gmail.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]

۱- مقدمه

برخی مواد غذایی در نتیجه حضور برخی از ترکیبات بیوشیمیایی خاص، تأثیر مثبتی روی سلامت فردی، وضعیت جسمانی و روحی افراد دارند. همچنین به‌دلیل اثرات جانبی نامطلوب برخی از ترکیبات دارویی- شیمیایی و نیاز مصرف کنندگان برای استفاده از محصولات طبیعی و بدون افزودنی، تلاش برای یافتن چنین منابعی در حال افزایش است.

آستاگزانتین عضوی از خانواده کاروتنوئیدها است که در حالت آزاد به رنگ‌های صورتی تا قرمز دیده شده که در جانوران دریایی مانند جلبک‌ها، سالمون، ماهی قزل‌آلا، خرچنگ، میگو فراوان بوده و ارزش اقتصادی فراوانی دارد [۱]. آستاگزانتین، به‌عنوان یک رنگ دهنده قوی، مکمل غذایی، آنتی اکسیدان و عامل ضدسرطان استفاده می‌شود، مانع از ابتلا به دیابت، بیماری‌های قلبی-عروقی و بیماری گوارشی می‌شود. یک پیگمان محلول در چربی است. بیش‌ترین فعالیت بیولوژیکی را در بین سایر کاروتنوئیدها دارد. آستاگزانتین مانند سایر کاروتنوئیدها بواسطه داشتن پیوندهای دوگانه مزدوج متعدد و ساختمانی غیراشباع به عوامل محیطی حساس بوده و به‌راحتی تغییر ساختار فضایی داده و یا اکسید می‌شود که در نهایت رنگ و ویژگی‌های تغذیه‌ای و بیولوژیکی خود را از دست می‌دهد [۱]. ریزپوشانی منجر به حفظ آستاگزانتین در طول مدت تولید و نگهداری می‌شود. پوشش دادن ترکیبات فعال زیستی با کاربردهای زیادی از جمله: کنترل واکنش‌های اکسیداسیون، پنهان کردن طعم، رنگ، بو، افزایش زمان نگهداری و رهایش کنترل شده در صنایع غذایی می‌توانند استفاده شوند [۲]. نانوکپسول‌ها به‌تنهایی از طریق تجمع و به‌هم پیوستگی زنجیرهای یک نوع بسپارزیستی (پروتئین یا پلی‌ساکارید) یا از طریق کنترل اتصال و کمپلکس شدن مولکول‌های پروتئین و پلی‌ساکارید می‌توانند تولید شوند. نانوذرات پروتئین - پلی‌ساکارید، به‌علت حفاظت شیمیایی و کلوئیدی بالاتر، نسبت به نانوذرات بیوپلیمری خالص، بیش‌تر مورد توجه قرار گرفته‌اند. زیرا حضور پلی‌ساکاریدهای آنیونی در لایه بیرونی، موجب می‌شود که به علت تولید نیروی دافعه منفی بالاتر در pHهای مختلف، پایداری سیستم بیشتر شده و از لخته شدن و بزرگ شدن اندازه ذرات و در نتیجه رسوب جلوگیری شود و همچنین ماده فعال درونی (هسته) بهتر حفاظت گردد [۳]. پروتئین‌ها به‌علت داشتن هر دو نواحی آب گریز وآب دوست می‌توانند حامل خوبی برای انواع مختلف ترکیبات زیست فعال در محیط‌های آبی باشند. پروتئین‌های شیر، به‌ویژه پروتئین آب پنیر، به‌طور گسترده در مطالعات مربوط به سامانه‌های کمپلکسی پروتئین و پلی‌ساکارید مورد استفاده قرار گرفته است [٤]. کنسانتره پروتئین آب پنیر ترکیبی از پروتئین‌های کروی به‌طور عمده شامل بتالاکتوگلوبولین و آلفالاکتالبومین می‌باشد و نیز دارای زنجیرهای آب‌دوست و آب‌گریز و نیز اسیدهای آمینه باردار وغیر باردار می‌باشد [۵]. این پروتئین به‌علت دارا بودن ارزش تغذیه‌ای بالا و توانایی در تشکیل ژل‌ها، امولسیون‌ها و کف‌ها به‌طور گسترده‌ای در فرآورده‌های غذایی کاربرد دارد [٦].

صمغ عربی را از شیره خشک شده ساقه و شاخه درخت آکاسیا سنگال در اثر شکاف دادن به پوست ساقه بدست می‌آورند. رنگ سفید یا سفید مایل به زرد نوع مرغوب آن است. صمغ عربی یک هترو پلی ساکارید پیچیده و پلی‌الکترولیت ضعیف است که حامل گروه‌های کربوکسیل است که در pHهای بالا ۲/۲ دارای بار منفی و در pH کمتر از ۲/۲ جداسازی گروه‌های کربوکسیل متوقف می‌شود [۷]. صمغ عربی به‌دلیل حلالیت مطلوب، گرانروی پایین، خصوصیات امولسیون‌کنندگی و ظرفیت نگهداری بالای ترکیبات فرار، در بسیاری از فرایندهای ریزپوشانی مورد توجه قرار می‌گیرد [۸]. همچنین یک پلی‌ساکارید ارزان، غیرسمی و تجزیه‌پذیر می‌باشد که در بسیاری از پژوهش‌های دارویی و صنایع غذایی کاربرد دارد [۹].

طی سال‌های اخیر تحقیقات زیادی روی رفتار عملکردی سیستم‌های مخلوط پروتئین- پلی‌ساکارید به‌منظور شناخت نحوه برهمکنش بین این اجزا و تأثیر آنها روی تشکیل ساختار مواد غذایی انجام شده است. برهمکنش‌های بین پروتئین و پلی‌ساکارید در پایداری و ساختار بسیاری از غذاهای عمل‌آوری شده نقش مهمی دارند به‌طوری که کنترل آنها یک فاکتور کلیدی در پیشرفت فرآیندهای مواد غذایی به‌حساب می‌آید، همچنین عامل تولید مواد غذایی نوین می‌باشد. پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها می‌توانند با ایجاد برهمکنش‌های جذبی، تشکیل کمپلکس‌های محلول یا نامحلول دهند یا در اثر

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]

ایجاد برهمکنش‌های دفعی و عدم سازگاری در سیستم به‌صورت مجزا قرار گیرند. مهمترین نوع برهمکنش‌های جذبی، برهمکنش الکتروستاتیکی است که بین پروتئین و پلی‌ساکارید با بارهای مخالف رخ می‌دهد. به‌طور کلی برهمکنش‌های جذبی بین بیوپلیمرها یا بین پروتئین‌های با بار مثبت در زیر نقطه ایزوالکتریک (PI>pH) و پلی‌ساکاریدهای آنیونیک در pH بالای pK_a و یا پروتئین با بار منفی (pH>PI) و پلی‌ساکاریدهای کاتیونیک (مانند کیتوزان) اتفاق می‌افتد [۱۰]. کمپلکس محلول زمانی ایجاد می‌شود که بارهای مخالف دو ماکرویون موجود در کمپلکس، از نظر تعداد با هم برابر نباشند. در نتیجه شبکه باردار، اجازه حلالیت به کمپلکس را می‌دهد. اما زمانی که بارهای مخالف دو بیوپلیمر همدیگر را خنثی کنند، کمپلکس نامحلول ایجاد شده و در نتیجه تجمع و هم رسوبی اتفاق خواهد افتاد زیرا در این حالت بین ذرات کمپلکس هیچ گونه نیروی دافعه‌ای وجود ندارد و ذرات یکدیگر را نمی‌رانند. نوع کمپلکس‌هایی که تشکیل می‌شود به ویژگی‌های ساختاری پلی‌ساکاریدها مانند وزن مولکولی و سفتی اسکلت، pH، نسبت مولاریته بین دو بیوپلیمر و قدرت یونی (در سطح پایین معمولاً < ۰/۳) بستگی دارد [٤]. در سال‌های اخیر مطالعات گسترده‌ای برای تولید و به‌کارگیری کمپلکس (نانو و میکرو) پروتئین‌های مختلف (مانند کازئینات، بتالاکتوگلوبولین، زئین، ژلاتین و غیره) با پلی‌ساکاریدهای آنیونی (پکتین، صمغ عربی، کاراگینان و آلژینات) انجام گردیده است [۱۱ ، ۱۲]. جون-اکسیا و همکاران (۲۰۱۱)، به بررسی ریزپوشانی روغن پرتقال شیرین با استفاده از کمپلکس صمغ عربی- ایزوله پروتئین سویا پرداختند. آنها pH بهینه برای تشکیل کمپلکس بین صمغ عربی-ایزوله پرتئین سویا را ٤ بدست آوردند [۱۳].

جئین و همکاران(۲۰۱۵)، به بررسی میکروکپسوله کردن بتا-کاروتن با استفاده از کمپلکس ایزوله پروتئین آب پنیر-صمغ عربی پرداختند. نتایج نشان داده که اپتیمم pH برای تشکیل کمپلکس ٤/۲ بدست آمد [۹].

شئین و کوئیک (۲۰۱٤)، به میکروکپسوله کردن آستاگزانتین با پوشش ترکیبی فیبر ذرت محلول و ایزوله پروتئین آب پنیر پرداختند و به مناسب بودن مواد دیواره برای ریزپوشانی آستاگزانتین با پایداری مناسب دست یافتند [۱٤].

بهینه‌سازی به‌دست آوردن بهترین موقعیت از بین موقعیت‌های مختلف و همچنین امکان به‌دست آوردن مطلوب‌ترین حالت از بین حالت‌های ممکن را فراهم می‌نماید. بهینه‌سازی عبارت است از بهبود عملکرد یک سامانه، فرآیند یا روش تولید به‌منظور دستیابی به حداکثر سود آنها. روش سطح پاسخ مجموعه‌ای از شگردهای ریاضی و آماری است که جهت توصیف و بهینه‌یابی فرایندها به‌کار می‌رود که پاسخ مورد نظر توسط تعدادی از متغیرها تحت تأثیر قرار می‌گیرد که مکانیسم‌های دخیل در آن‌ها به خوبی مشخص نشده‌اند و اطلاعات موجود در سیستم بسیار کم می‌باشد یا میان متغیرها بر هم‌کنش‌هایی موجود می‌باشد و پاسخ غیرخطی است و هدف، توصیف رابطه بین پاسخ و متغیرهای مستقل توسط مدل‌های ریاضی و بهینه‌سازی این پاسخ‌ها می‌باشد. این فن، اثر متغیرهای مستقل بر فرایندها را به‌تنهایی یا در تلفیق با سایر متغیرها مشخص می‌نماید و هدف اصلی از روش سطح پاسخ، سوق یافتن به شرایط بهینه است که توسط حداکثر سطح پاسخ حاصل می‌شود. به‌کارگیری نتایج آزمایش برای برازش مدل سطح پاسخ چند جمله‌ای و در نتیجه تصمیم‌گیری در مورد سطوح عوامل در آزمایش‌های مورد نظر می‌باشد. معادلات به‌دست آمده تأثیر متغیرهای آزمایشی روی سطح پاسخ را توضیح داده و رابطه متقابل بین متغیرهای آزمایش را مشخص می‌کند [۱۵].

با توجه به موارد بیان شده، هدف پژوهش حاضر یافتن pH مناسب ایجاد کمپلکس بین صمغ عربی و کنسانتره پروتئین آب‌پنیر با توجه به تعیین میزان کدورت مخلوط بیوپلیمرها به‌صورت تابعی از pH (محدوده ۳-۹) بود. همچنین، تولید نانو کمپلکس بهینه بر اساس پایداری، کدورت، ویسکوزیته، اندازه قطرات و پتانسیل زتا با استفاده از روش سطح پاسخ، از اهداف این تحقیق به‌شمار می‌آید.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱-مواد

آستاگزانتین از شرکت سیگما آلدریچ امریکا، کنسانتره پروتئین آب‌پنیر (WPC) از لاکتوپروت آلمان و صمغ عربی (GA) مورد استفاده نیز از شرکت مرک آلمان خریداری شد. سایر

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]

مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق شامل اسیدکلریدریک و توئین ۸۰ از شرکت مرک آلمان، هیدروکسید سدیم و دی‌متیل‌سولفوکساید از شرکت شیمی پژوهش آسیا تهیه گردیدند.

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- آماده سازی محلول صمغ عربی و کنسانتره پروتئین آب پنیر

محلول‌های آبی کنسانتره پروتئین آب پنیر از طریق پراکنده نمودن مقدار پودر در ۳ سطح (۲، ٤ و ٦ ٪وزنی/وزنی) در آب دیونیزه برای به دست آوردن ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول اضافه می‌شود و به‌منظور جذب آب و به‌وجود آمدن بافت یکنواخت به مدت ۱۲۰ دقیقه همزده می‌شود. همچنین، محلول‌های آبی صمغ عربی با پراکنده کردن مقدار پودر در ۳ سطح (۰/۵، ۱ و ۱/۵ ٪ وزنی/وزنی) به آب دیونیزه برای تهیه ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول اضافه شد و به‌مدت ۱۲۰ دقیقه در یک همزن مغناطیسی همزده شدند. سپس محلول‌ها برای هیدراتاسیون کامل به‌مدت ۱۲ ساعت در دمای ٤°C باقی مانده تا محلول شفاف بدست آید [٥، ١٦].

۲-۲-۱-۱- سنجش کدورت

اندازه‌گیری کدورت نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (T80+ UV/VIS، انگلستان) در طول موج ۶۰۰ نانومتر به‌عنوان تابعی از pH در محدوده ۹-۳ انجام شد [۱۷]. نمونه‌ها قبل از اندازه‌گیری سرو ته شدند تا اختلاط صورت گرفته و نمونه‌ها تک فاز باشند. همچنین از آب مقطر به عنوان نمونه شاهد استفاده شد.

۲-۲-۲- تهیه محلول کمپلکس صمغ عربی/کنسانتره پروتئین آب پنیر حاوی آستاگزانتین

محلول‌های صمغ عربی، کنسانتره آب‌پنیر در غلظت‌های تعیین شده، تهیه شد و حجم یکسانی از هر محلول با یک‌دیگر مخلوط می‌شوند و توسط همزن مغناطیسی به‌مدت ٦٠ دقیقه با سرعت ۵۰۰ دور در دقیقه همزده شد. سپس ۱۰٪ از کل مواد جامد، توئین ۸۰ به‌عنوان پایدار کننده اضافه شده و توسط هموژنایزر اولتراتوراکس (IKA- T25، آلمان) با سرعت ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق هموژن شد و سپس پودر آستاگزانتین به میزان ۱۰ میلی‌گرم در ۱میلی‌لیتر دی‌متیل سولفوکساید حل شده به محلول دیواره اضافه می‌شود و توسط اولتراسونیک (hielscher، آلمان) با قدرت ۲۰ کیلوهرتز، به‌مدت ۱۰ دقیقه سونیکه می‌شود. در نهایت برای تشکیل کمپلکس، تنظیم pH با محلول سود و اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال در ۳ سطح (٤/۵، ٦/۵، ۸/۵) صورت گرفت [١٦].

۲-۲-۲-۱- پایداری محلول‌های کمپلکس:

در حدود ۲۵ میلی‌لیتر از محلول کمپلکس، با دور ۱۲۰۰۰rpm به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شده سپس حجم کمپلکس باقی‌مانده توسط استوانه مدرج تخمین زده شد و درصد پایداری محلول کمپلکس با معادله زیر محاسبه گردید [٤]:

$$\text{درصد پایداری} = \frac{\text{حجم ثابت کمپلکس باقی مانده}}{\text{حجم کمپلکس اولیه}} \times 100 \quad (۱)$$

۲-۲-۲-۲- سنجش کدورت نانو کمپلکس حاوی آستاگزانتین

اختلاط کامل محلول با استفاده از همزن سرعت بالا قبل از اندازه‌گیری صورت گرفت و با استفاده از دستگاه طیف‌سنج مرئی- فرابنفش در طول موج ٤٦۰ نانومتر به‌عنوان تابعی از pH درمحدوده (٤/۵، ٦/۵ و ۸/۵) انجام شد.

۲-۲-۲-۳- اندازه‌گیری ویسکوزیته محلول نانو-کمپلکس حاوی آستاگزانتین

برای اندازه‌گیری ویسکوزیته محلول نانو-کمپلکس حاوی آستاگزانتین، ۲۵ میلی‌لیتر از هر نمونه به سیلندر منتقل شد. سپس ویسکوزیته با استفاده از دستگاه ویسکومتر اسپیندل-میر (Myr) در سرعت برشی ثابت ۵۰ s^{-1}، دمای ثابت ۲۵ ^{o}C و اسپیندل- L 3 اندازه‌گیری شد.

۲-۲-۲-٤- سنجش اندازه قطرات و پتانسل زتا

توزیع اندازه قطرات، قطر متوسط آن‌ها و نیز پتانسل زتا توسط دستگاه زتا سایزر (Malvern ZENa3600، انگلستان) در دمای محیط اندازه گیری شد. برای این منظور ۱ میلی‌لیتر از نمونه با ۹ میلی‌لیتر آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۰ رقیق‌سازی شده و به دستگاه تزریق شد [۱۸].

۲-۲-۳- تجزیه و تحلیل آماری

تیمارها در جدول ۱ توسط روش سطح پاسخ[1] (RSM) با نرم‌افزار دیزاین اکسپرت-۱۰ طراحی و آنالیز شدند. تاثیر

1. Response Surface Methodology

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]

متغیرهای مستقل کنسانتره پروتئین آب پنیر(۲، ٤ و ٦٪)، صمغ عربی(۰/۵، ۱ و ۱/۵٪) و pH (٤/۵، ٦/۵ و ۸/۵) بر پایداری، کدورت، ویسکوزیته ظاهری، اندازه ذرات و پتانسیل زتا محلول‌های نانو کمپلکس صورت گرفت تا نمونه بهینه تعیین گردد.

۳- یافته‌ها

۳-۱-اندازه‌گیری کدورت کمپلکس صمغ عربی- کنسانتره پروتئین آب‌پنیر

اندازه‌گیری کدورت جهت بررسی تاثیر تغییر نسبت پروتئین- پلی‌ساکارید بر تشکیل کمپلکس و یافتن pH بهینه صورت پذیرفت. نتایج حاصل در شکل ۱ نشان می‌دهد که در یک نسبت ثابت پروتئین- پلی‌ساکارید با کاهش pH از ۹ به ۳، میزان کدورت افزایش یافته و پس از رسیدن به یک میزان حداکثری مجدداً کاهش داشت. میزان pH_C (pH که کمپلکس محلول تشکیل می‌شود) به چندین پارامتر از جمله: نقطه ایزوالکتریک پروتئین، قدرت یونی و غلظت بیوپلیمرها بستگی دارد [۷]. با توجه به پدیده‌هایی که در حضور پروتئین و پلی‌ساکارید در محلول آبی رخ می‌دهد می‌توان افزایش کدورت را بدین صورت توصیف نمود: در pHهای پائین‌تر از نقطه ایزوالکتریک به علت وجود بارهای خالص الکتریکی دو بیوپلیمر، مخالف یکدیگر بوده و جاذبه بین بارهای مخالف، سبب تشکیل کمپلکس می‌شود و مجموع بارهای کمپلکس تشکیل شده خنثی نباشد. همانطور که در شکل-۱ مشاهده می‌شود در تمامی نسبت‌های کنسانتره پروتئین آب‌پنیر- صمغ عربی بیشترین جذب در pH ٤/۵ می‌باشد که نشان دهنده کمپلکس قوی بین این دو بیوپلیمر است. در pHهای بالاتر، از میزان جذب کاسته می‌شود، محلول کاملا شفاف بوده و کمپلکس ضعیف‌تری تشکیل شد. با کاهش بیش‌تر pH زیر نقطه ایزوالکتریک پروتئین‌ها، مجدداً میزان جذب کاهش می‌یابد که می‌تواند نشان دهنده ناپایدار بودن کمپلکس‌های تشکیل یافته و تخریب آن‌ها باشد. نتایج بدست آمده با نتایج وینبرگ و همکاران (۲۰۰۳) مطابقت دارد. آنها نیز بیشترین میزان کدورت بین کمپلکس محلول پروتئین آب‌پنیر- صمغ عربی را در pH=٤/۷ بدست آوردند. همچنین گزارش کردند که با کاهش pH و افزایش بار مثبت پروتئین، برهم‌کنش بین دو بیوپلیمر به‌واسطه وجود جاذبه الکترواستاتیکی صورت گرفته و سبب تشکیل کمپلکس محلول می‌گردد که با افزایش مقدار کمپلکس تشکیل شده میزان کدورت افزایش می‌یابد [۷].

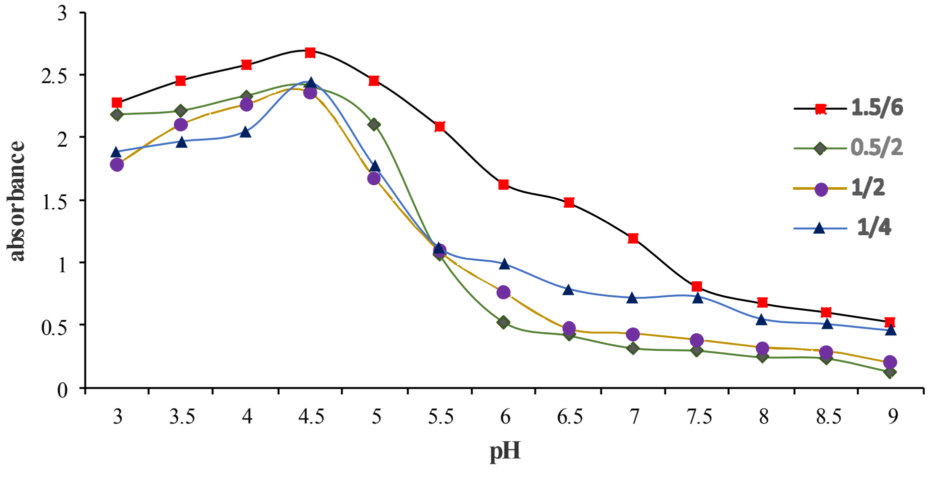


Fig 1 showing the influence of WPC-Arabic gum content in variables pH on the turbidity of WPC-GA complex solutions.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]

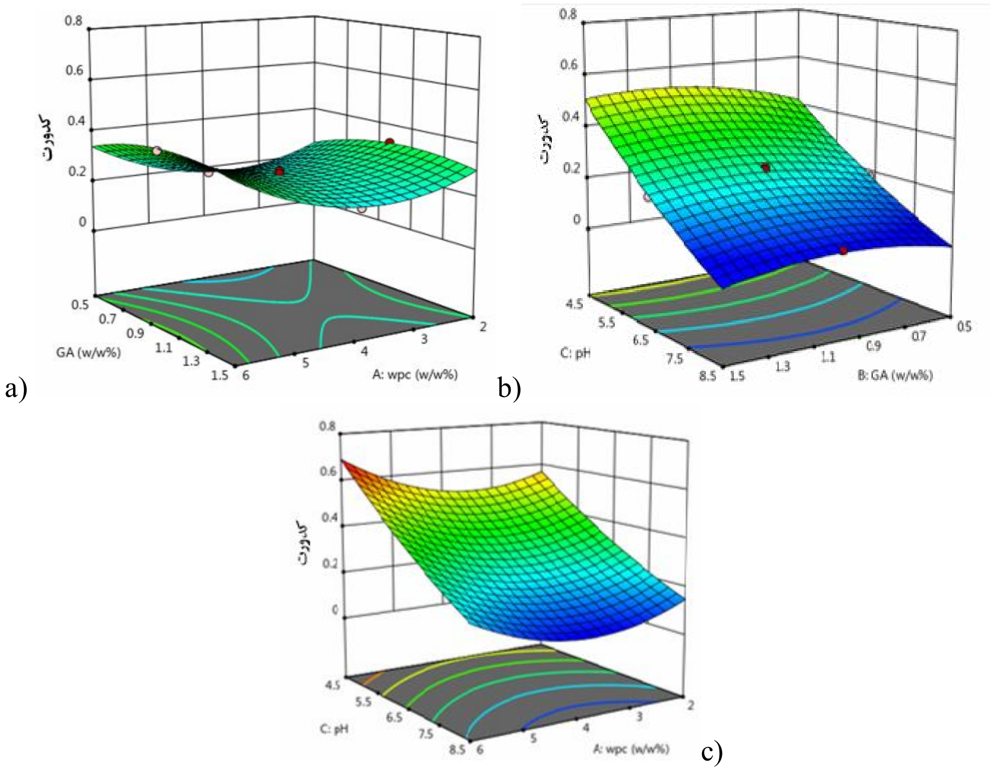
۳-۲- ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی محلول‌های نانوکمپلکس حاوی آستاگزانتین

Table 1 RSM designed treatments for preparation of WPC-Arabic gum nanocomplexes as carriers of Astaxanthin.

Treatment	WPC(%)	GA(%)	pH
1	6		6.5
2	4		6.5
3	4		6.5
4	4		6.5
5	6		8.5
6	4		6.5
7	2		4.5
8	4		8.5
9	2		4.5
10	4		6.5
11	2		6.5
12	4		6.5
13	4		4.5
14	6		4.5
15	6		8.5
16	6		4.5
17	2		8.5
18	4		6.5
19	4		6.5
20	2		8.5

۳-۲-۱- اندازه‌گیری کدورت کمپلکس صمغ عربی- کنسانتره پروتئین آب پنیرحاوی آستاگزانتین

براساس نتایج بدست آمده با روش سطح پاسخ بهترین مدل، مدل درجه دوم بدست آمده و براساس آنالیز واریانس بین تمام تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود دارد (p<۰/۰۵). نمودارهای سه‌بعدی در شکل-۲، تغییرات کدورت را در برابر متغیرهای مستقل نشان می‌دهند. این نمودارها میزان پاسخ یا کدورت نهایی را در برابر تغییر متغیرها به‌صورت سه بعدی ارائه می- دهند. در این نمودارها متغیر سوم ثابت و در سطح متوسط خود در نظر گرفته شده است. شیب کم منحنی در شکل ۲-a در پی تغییرات میزان غلظت دو بیوپلیمر حاکی از تاثیر یکسان برهمکنش این متغیرها با یکدیگر در نقطه متوسط یعنی pH=٦/٥ بر میزان کدورت است. همانطور که در شکل۲- b و c نشان داده شد، شیب زیادی در منحنی‌ها دیده می‌شود که این موضوع حاکی از اثر معنی‌دار متغیر pH و غلظت هر یک از بیوپلیمرها بر میزان کدورت است. بنابراین در نسبت‌های مختلف پروتئین- پلی‌ساکارید و در سه pH ٤/٥، ٦/٥ و ٨/٥ میزان کدورت درpH=٤/٥ نسبت به سایر pHها و در غلظت بالای مواد جامد، بیشتر می‌باشد.



a) b) c)

Fig. 2 RSM plots showing the influence of WPC, Arabic gum content and pH variables on the turbidity of WPC-GA nanocomplex solutions containing Astaxanthin.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]

طبق تحقیقات انجام شده توسط جیراد و همکاران (۲۰۱٤) بر روی برهم‌کنش پکتین-بتالاکتوگلوبولین طی تشکیل نانو کمپلکس نشان داد که پیوند هیدروژنی، یونی و الکترواستاتیک، اساس این برهم‌کنش‌ها را تشکیل می‌دهند و در محدوده‌های زیر نقطه ایزوالکتریک پروتئین و افزودن مقادیر اضافی پکتین، نانوکمپلکس‌های محلول با دافعه الکترواستاتیک قوی ایجاد می‌شود که در نهایت پایداری سیستم کلوئیدی را افزایش می-دهد [۱۹]. در پژوهشی دیگر که توسط کونگ و همکاران، (۲۰۱۷) صورت گرفت آنها نیز به بررسی کمپلکس بین صمغ عربی- ایزوله پروتئین سویا در pH مختلف ٤-۷ پرداختند و کمپلکس محلول بین دو بیوپلیمر را در pH=٤/۳٥ گزارش کردند. از آنجایی‌که در pHهایی که حداکثر کدورت مشاهده شده تجمع و ناپایداری رخ داده است؛ لذا، بالاترین pH مشترکی که کدورت (بدون دوفاز شدن) در آن‌ها مشاهده شد به‌عنوان pH بهینه برای بررسی‌های بعدی انتخاب گردید. بر این اساس،در تحقیق حاضر pH ٤/٥ به‌عنوان pH مناسب جهت تشکیل کمپلکس که به دوفاز شدن سامانه منجر نمی‌شود و برای بررسی‌های بیش‌تر و تعیین تیمار بهینه انتخاب شد.

۳-۲-۲- تاثیر محتوی WPC-GA و pH بر پایداری محلول‌های نانوکمپلکس:

نمودارهای سه‌بعدی شکل-۳، تغییرات پایداری را در برابر متغیرهای مستقل نشان می‌دهند. در این نمودارها متغیر سوم ثابت و در سطح متوسط خود در نظر گرفته شده است. همانطور که در شکل۳- b و c نشان داده شد شیب زیادی در منحنی دیده می‌شود که این موضوع حاکی از اثر معنی‌دار متغیر pH بر میزان پایداری است و شیب کم منحنی در شکل ۳-a در پی تغییرات میزان غلظت دو بیوپلیمر حاکی از تأثیر برابر این دو متغیر بر میزان پایداری است که در این نمودار تاثیر غلظت صمغ عربی در ایجاد پایداری موثرتر بوده است.در نمونه شماره-۱٦،نمونه بهینه با (۱/٥٪ GA , ٦٪ WPC و pH=٤/٥) پایداری ۹۰٪ ایجاد شده که نشان دهنده تشکیل کمپلکس قوی با پایداری مناسب می‌باشد. اختلاط محلول‌های بیوپلیمری می‌تواند به دو صورت پایدار یا ناپایدار وجود داشته باشد. پایداری در اثر برهمکنش‌های دفعی اتفاق می‌افتد که شامل دافعه الکتروستاتیک و دافعه ناشی از ممانعت فضایی می‌باشد که دافعه الکتروستاتیک، دافعه ناشی از بارهای هم نام موجود در سطح ترکیبات می‌باشد که یکی از عوامل مؤثر در آن pH محلول است و همچنین در دافعه ناشی از ممانعت فضایی، ماکرومولکول‌ها با جذب شدن در سطح ذرات، فضای اطراف ذره را اشغال می‌کنند و مانع از نزدیک شدن دو ذره مجاور به یکدیگر می‌شوند [۲۱]. افزایش pH بالاتر از نقطه ایزوالکتریک پروتئین‌ها، میزان گروه‌های OH در سطح اسیدهای آمینه نسبت به گروه‌های H افزایش می‌یابد، بنابراین بارهای منفی روی پروتئین تخمین زده خواهد شد، صمغ عربی بخاطر گروه‌های کربوکسیل روی سطح آن، به‌طور منفی باردار شده است. در نتیجه، در pH بالاتر نیروهای دافعه بین صمغ عربی و کنسانتره پروتئین آب‌پنیر قویتر از واکنش‌های الکترواستاتیک بین گروه‌های کربوکسیل آنیونی صمغ عربی و بار مثبت کنسانتره پروتئین آب‌پنیر می‌باشد [۷]. همانطور که در شکل-۳ نشان داده شد، تشکیل کمپلکس ضعیف‌تر بین صمغ عربی-کنسانتره پروتئین آب‌پنیر با بالاترین پایداری در pH (٦/٥ و ۸/٥) مشاهده می‌شود اما کمپلکس قویتر با پایداری مناسب در pH ٤/٥ بدست آمد. با در نظر گرفتن پتانسیل زتا در pHهای ٤/٥ ، ٦/٥ و ۸/٥ به این نتیجه دست می‌یابیم که در pHهای بالا میزان پتانسیل زتا به‌دلیل افزایش سطح بار منفی، افزایش یافته و نانوکمپلکس تشکیل نشده یا نانوکمپلکس‌های ضعیف و پایدار تشکیل می‌شود. از طرفی هدف ما، داشتن کمپلکس قوی در pH ٤/٥ می‌باشد که پایدار هم باشد در نتیجه کمپلکس قوی و پایدار در این pH تشکیل شده است.

علاوه بر اثر pH در پایداری، یک شاخص مهم در تشکیل کمپلکس نسبت دو بیوپلیمر کاربردی است که باید میزان تغییرات سطحی آنها در نظر گرفته شود، بنابراین افزایش محتوی کنسانتره پروتئین آب‌پنیر، صمغ عربی بیشتری نیاز دارد تا کمپلکس به‌وجود آید زیرا ممکن است محتوی صمغ عربی کمتر، شکل گیری کمپلکس قوی‌تر را مهار کند. تحقیق حاضر مطابق پژوهش اکرمی و همکاران (۲۰۱٦) می‌باشد که به بررسی کپسوله کردن بتاکاروتن با تشکیل کمپلکس محلول

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]

صمغ عربی -کازئینات سدیم پرداختند وبه‌منظور دستیابی به فرمولاسیون مناسب، تاثیر pH، غلظت بیوپلیمرها و نسبت بین آنها بر خواص نانو کمپلکس حاصله را بررسی کردند و نتایج نشان داد که پایدارترین نانوکمپلکس را در غلظت ۰/۵٪صمغ عربی -۰/۱٪ کازئینات در pH ۴/۸ بدست آوردند [۳]. در تحقیقی دیگر توسط بدی و همکاران (۲۰۱۳)، اثر عوامل مختلف از جمله نسبت اختلاط دو بیوپلیمر، pH محیط و همچنین روش و زمان اسیدی کردن، قبل و بعد از اختلاط بیوپلیمرها را در تشکیل کمپلکس‌های پکتین-پروتئین ایزوله آب‌پنیر حاوی تیامین مورد مطالعه قرار دادند و نشان دادند که این عوامل بر پایداری، اندازه ذرات و کاهش تخریب تیامین موثرند [۲۲].

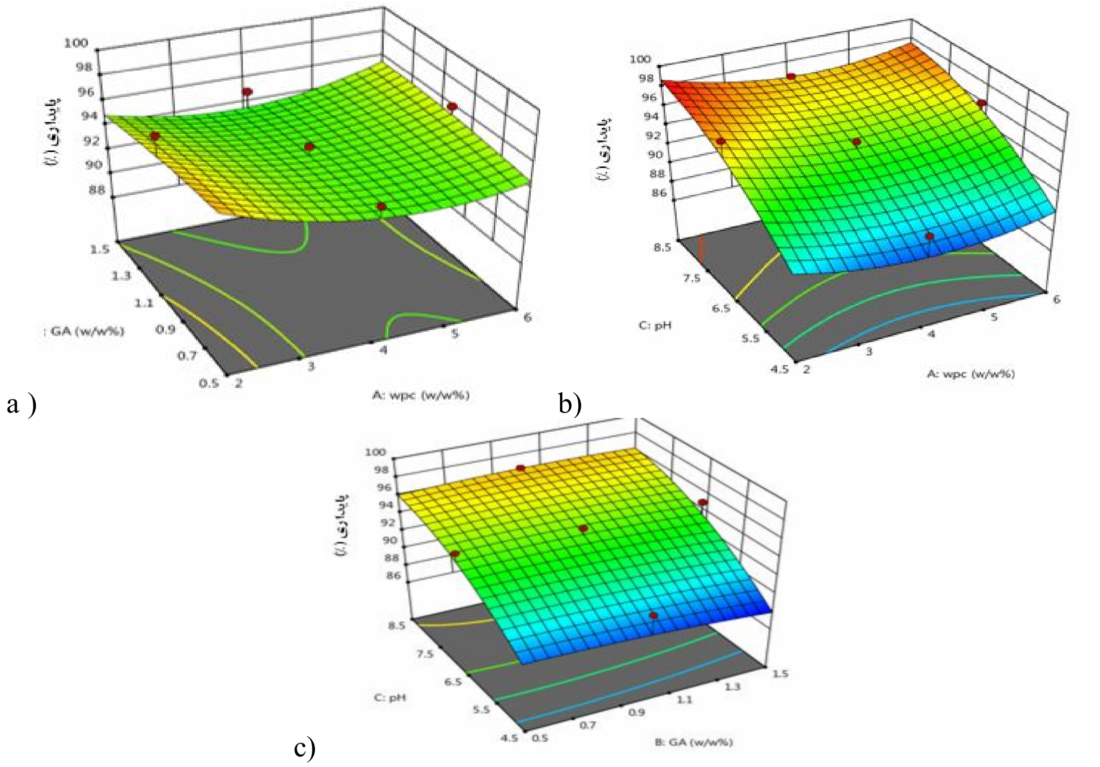


Fig 3 RSM plots showing the influence of WPC, Arabic gum content and pH variables on the stability of WPC-GA nanocomplex solutions containing Astaxanthin.

۳-۲-۳- تعیین ویسکوزیته محلول‌های نانو-کمپلکس حاوی آستاگزانتین

با توجه به روش سطح پاسخ (RSM) و براساس مدل درجه دوم اختلاف معنی داری بین تیمارها وجود دارد (p<۰/۰۵). در pHهای اسیدی کمترین ویسکوزیته مشاهده می‌شود اما در نمونه بهینه (GA ۱٪/۵ ، WPC ٦٪ و pH=٤/٥) بالاترین ویسکوزیته را نشان می‌دهد که می‌تواند به دلیل برهمکنش بین دو بیوپلیمر و قدرت الکترواستاتیکی بالای بین آنها باشد. از طرفی با تشکیل نانو-کمپلکس، آب بیشتری حبس شده در نتیجه ویسکوزیته افزایش می‌یابد. نمودارهای سه‌بعدی در شکل-۵، تغییرات ویسکوزیته را در برابر متغیرهای مستقل نشان می‌دهند. در این نمودارها متغیر سوم ثابت و در سطح متوسط خود در نظر گرفته شده است. همانطور که در شکل‌٤-a نشان داده شد شیب زیادی در منحنی دیده می‌شود که این موضوع حاکی از اثر معنی‌دار متغیر صمغ عربی و کنسانتره پروتئین آب‌پنیر بر میزان ویسکوزیته است و شیب ملایم منحنی در شکل ٤-b در پی تغییرات میزان غلظت کنسانتره پروتئین آب‌پنیر و pH حاکی تاثیر یکسان این متغیر بر میزان ویسکوزیته است. در شکل-٤- c نشان داده شد شیب زیادی در منحنی دیده می‌شود که این موضوع حاکی از اثر معنی‌دار متغیر صمغ عربی و pH بر میزان ویسکوزیته است.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]

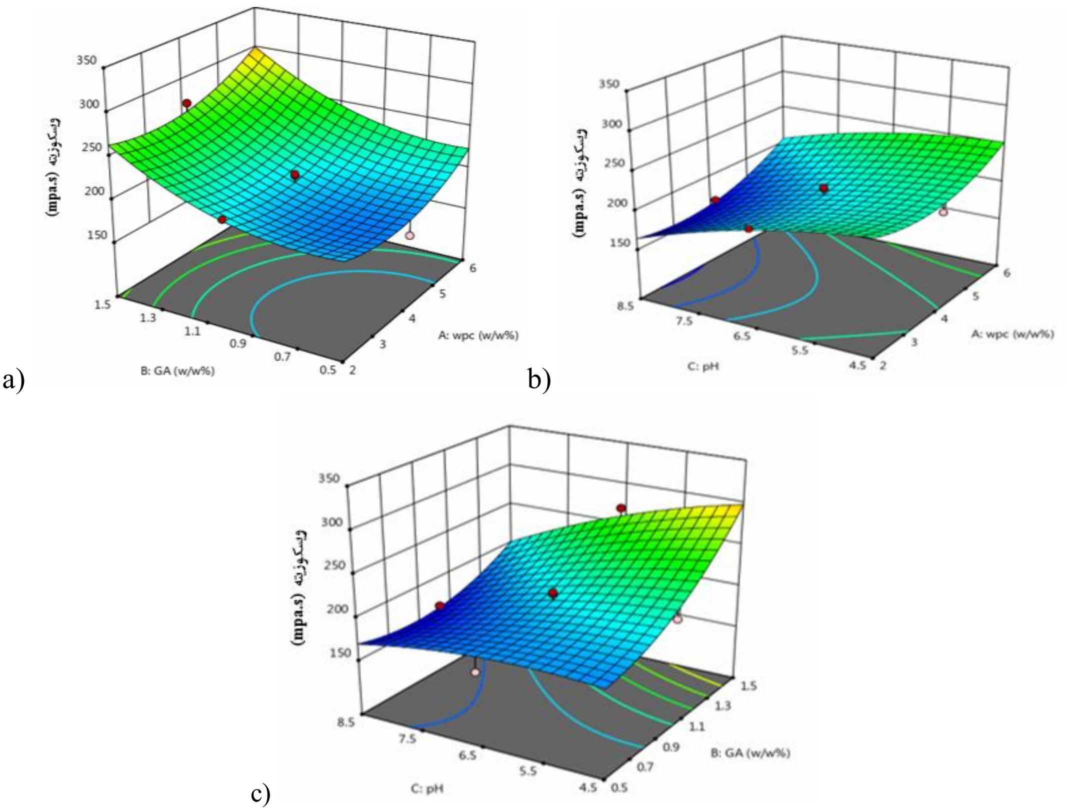


Fig 4 RSM plots showing the influence of WPC, Arabic gum content and pH variables on the viscosity of WPC-GA nanocomplex solutions containing Astaxanthin.

برای بررسی ویسکوزیته دو عامل نقش مهمی دارد ۱- نسبت دو بیوپلیمری که در دیواره نانوکمپلکس به‌کار می‌رود ۲-نقش pH در تشکیل کمپلکس می‌باشد. همانطور که در شکل ٤-a مشاهده می‌شود با افزایش صمغ عربی و کنسانتره پروتئین آب‌پنیر میزان ویسکوزیته افزایش یافته که نشان دهنده متعادل بودن نسبت بین دو بیوپلیمر است و شیب منحنی به سمت افزایش غلظت هر دو بیوپلیمر، افزایش یافته است. زمانی که نسبت بین دو بیوپلیمر مناسب نباشد pH عامل مهم و موثر در ویسکوزیته است. میزان pH شامل بارهای سطحی روی بیوپلیمرهای کنسانتره پروتئین آب‌پنیر و صمغ عربی می‌باشد. همانطور که گفته شد، زمانی که نسبت بین دو بیوپلیمر مناسب نباشد و pH کاهش یابد باعث کاهش بار منفی صمغ عربی می‌شود و تشکیل کمپلکس بین دو بیوپلیمر را کاهش می‌دهد و کنسانتره پروتئین آب‌پنیر باقی مانده به‌صورت پروتئین تک لایه رسوب می‌کند زیرا صمغ عربی با تعداد بار مناسب برای واکنش الکترواستاتیکی بین آنها کافی نمی‌باشد در نتیجه کمپلکس تشکیل نشده و ویسکوزیته کاهش می‌یابد. نتیجه بدست آمده با نتایج قاسمی و همکاران، (۲۰۱۸) مطابقت دارد آنها نیز بیشترین ویسکوزیته را در نسبت ۱:٤ کنسانتره پروتئین آب‌پنیر: پکتین و pH ۳ بدست آوردند. در pHهای بالاتر عدم تشکیل کمپلکس و ریزپوشانی ضعیف، ویسکوزیته کمتر می‌باشد.

۳-۲-٤- اندازه قطرات

نتایج حاصل از سنجش اندازه قطرات بر اساس دو شاخص Z-average و بس‌پاشندگی PDI[2] در شکل ۵ نشان داده شده است. براساس مدل درجه دوم، بین تیمارها تاثیر معنی‌داری وجود دارد (p<۰/۰۵). در شکل ۵- این نمودارها میزان پاسخ یا اندازه قطرات نهایی را در برابر تغییر متغیرها به‌صورت سه بعدی ارائه می‌دهند. در این نمودارها متغیر سوم ثابت و در سطح متوسط خود در نظر گرفته شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، شیب ملایم منحنی در شکل ۵- a در پی تغییرات میزان غلظت کنسانتره پروتئین آب‌پنیر و صمغ عربی حاکی ازاثر کم این متغیر بر میزان اندازه قطرات است. در شکل۵- b و c نشان داده شد شیب زیادی در منحنی دیده می‌شود که این موضوع حاکی از اثر معنی‌دار متغیر pH و غلظت هر یک از بیوپلیمرها بر میزان اندازه قطرات است. اندازه قطرات محلول‌های نانو کمپلکس در pHهای ٤/۵، ٦/۵ و ۸/۵ به ترتیب ۳۳٤، ۱٤٦ و ۱۳۸/٤ نانومتر بدست آمد. در pH٤/۵ به دلیل برابری بارهای مثبت پروتئین آب پنیر و بار

2. Particle dispersibility index

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]

منفی صمغ عربی که منجر به تشکیل کمپلکس می‌شود اندازه قطرات بزرگتری بدست می‌آید. همچنین مطابق شکل ۵-a با تغییر نسبت پروتئین- پلی‌ساکارید ممکن است کاهش یا افزایش در اندازه قطرات مشاهده گردد. با توجه به برهم‌کنش-هایی که بین پروتئین و پلی‌ساکارید رخ می‌دهد، می‌توان افزایش اندازه قطرات در غلظت کم صمغ عربی را به ناکافی بودن مقدار آن جهت پوشش سطح پروتئین نسبت داد که به‌علت ایجاد پلی شدن تجمعی و اتصال یک مولکول صمغ عربی با چند مولکول پروتئین سبب افزایش اندازه قطرات گشته است. به‌نظر می‌رسد که افزایش مقدار صمغ عربی سبب فراهم گشتن مقدار کافی صمغ جهت پوشاندن کامل سطح پروتئین شده و با ایجاد نیروهای دافعه الکترواستاتیک و دافعه فضایی مانع از تجمع و به هم چسبیدن ذرات و در نهایت تولید قطرات با اندازه کوچک‌تر گشته است [۲۳]. همانگونه که در شکل ۵ مشاهده می‌شود در pH ۴/۵، افزایش میزان صمغ عربی از ۰/۵ به ۱/۵ درصد و افزایش کنسانتره پروتئین آب پنیر از ۲ تا ٦ درصد روند متغیری از اندازه قطرات منتهی شده است که احتمالاً، افزایش میزان این دو بیوپلیمر سبب شده که مولکول‌های بیش‌تری از طریق جاذبه الکترواستاتیک به هم متصل شده و کمپلکس تشکیل شده اندازه بزرگ‌تری ایجاد کند. این امر با نتایج یی و همکاران (۲۰۰٦) مطابقت داشت. در نتایج آنها حداقل اندازهٔ ذرات در حداقل مقدار کازئینات سدیم یعنی ۰/۱ ٪ بدست می‌آید و با افزایش غلظت به ۰/۵ ٪، اندازهٔ ذرات افزایش می یابد. همچنین با افزایش غلظت صمغ عربی از ۰/۱ به ۰/۵ درصد، اندازهٔ ذرات از ۱۳۹/٦۷ به ۹۵/٤۵ نانومتر کاهش و با افزایش دوبارهٔ صمغ از ۰/۵ به ۱ ٪، اندازهٔ ذرات به صورت غیر معنی‌دار از ۹۵/٤۵ به ۱۱۵/۳۳ نانومتر افزایش یافت [٢٤].

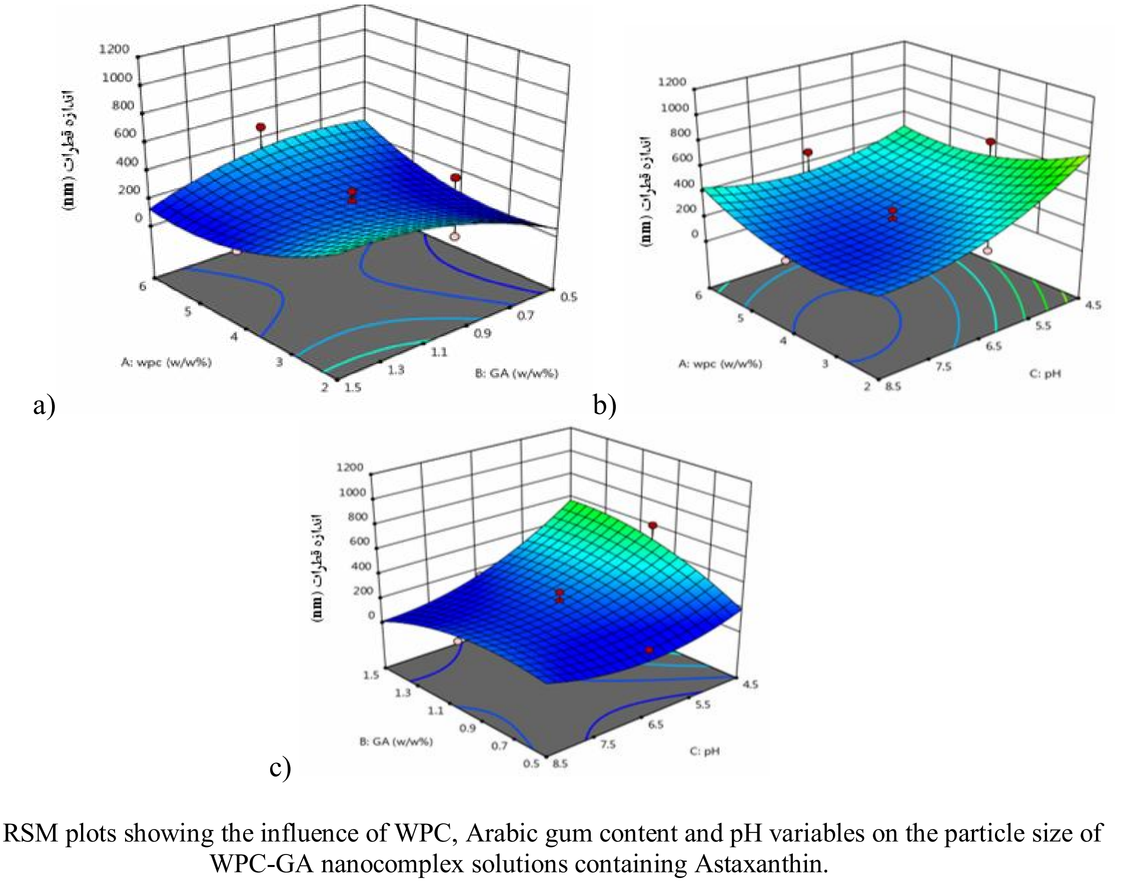


Fig 5 RSM plots showing the influence of WPC, Arabic gum content and pH variables on the particle size of WPC-GA nanocomplex solutions containing Astaxanthin.

۳-۲-۵- پتانسیل زتا

در این پژوهش برای مشخص شدن نحوه عمل نیروهای دافعه الکترواستاتیک در کمپلکس صمغ عربی-کنسانتره پروتئین آب پنیر و میزان پایداری کمپلکس حاصل، از نتایج پتانسیل زتا استفاده گردید. پتانسیل زتا یا الکتروسیتیک، اختلاف بین لایه یونی متحرک و لایه غیر متحرک می‌باشد و بهترین شاخص برای تعیین وضعیت الکتریکی سطحی دیسپرسیون‌ها است، زیرا نشان دهنده میزان تجمع بار در لایه غیر متحرک و شدت جذب یون‌های مخالف به سطح ذره است [۳].

با استفاده از روش سطح پاسخ و براساس آنالیز واریانس، اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود دارد (p>۰/۰۵). شکل ٦ نمودارهای سه‌بعدی، تغییرات پتانسیل زتا را در برابر متغیرهای

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]

مستقل نشان می‌دهند. در این نمودارها متغیر سوم ثابت و در سطح متوسط خود در نظر گرفته شده است. همانطور که شیب ملایم و افزایشی منحنی در شکل ٦- a در پی تغییرات میزان غلظت کنسانتره پروتئین آب‌پنیر و صمغ عربی حاکی از تاثیر بیشتر غلظت کنسانتره پروتئین آب‌پنیر بر میزان پتانسیل زتا است. در شکل٦- b و c نشان داده شد شیب زیادی در منحنی دیده می‌شود که این موضوع حاکی از اثر معنی‌دار متغیر pH و غلظت هر یک از بیوپلیمرها بر میزان پتانسیل زتا است. با کاهش pH، بار الکتریکی منفی سطح پروتئین کاهش یافته و در pH اسیدی بار مثبت حاکم می‌باشد. با کاهش pH از ۸/۵ تا ٤/۵ میزان پتانسیل زتا از ۲۰- به ۵/٤- رسیده بطوریکه در pH=٤/۵ نشان از تشکیل نانو کمپلکس صمغ عربی و کنسانتره پروتئین آب پنیر حاوی آستاگزانتین می‌باشد. نتایج این پژوهش با نتایج یی و همکاران (۲۰۰٦) مطابقت داشته است،آنها پتانسیل زتای نانوکمپلکس کازئینات سدیم و صمغ عربی بدون هسته را در pHهای مختلف مورد ارزیابی قرار دادند و نشان دادند که افزایش نسبت صمغ عربی به کازئینات، موجب کاهش pH و خنثی شدن کمپلکس (نقطه ایزو الکتریک) می‌شود همچنین مشاهدات نشان داد که با گذشت زمان، مقادیر منفی پتانسیل زتا کاهش یافت (به سمت صفر حرکت کرد) که می‌تواند ناشی از توده‌ای شدن باشد [٢٤]. همچنین با نتایج اکرمی و همکاران (۲۰۱٦) نیز مطابقت دارد و میزان پتانسیل زتا تا pH ٤/۵ در مقادیر منفی کاهش یافته است [۳].

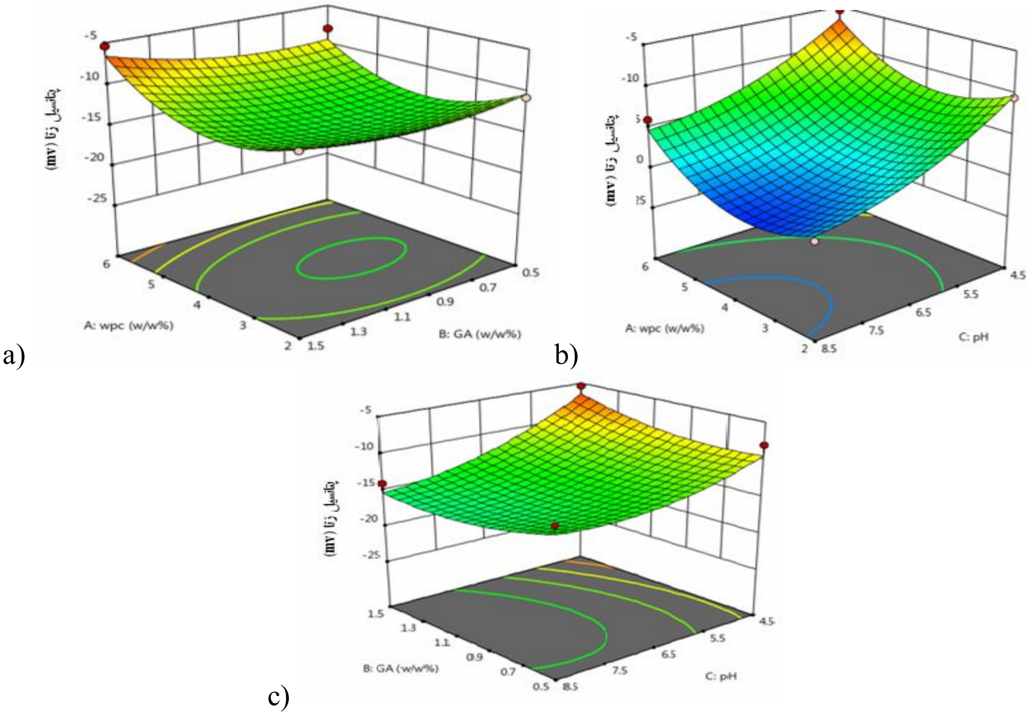


Fig 6 RSM plots showing the influence of WPC, Arabic gum content and pH variables on the zeta potential of WPC-GA nanocomplex solutions containing Astaxanthin.

۳-۲-٦- بهینه‌سازی نانو-کمپلکس حاوی آستاگزانتین

تعیین غلظت بهینه صمغ عربی، کنسانتره پروتئین آب پنیر و pH مناسب برای شکل‌گیری کمپلکس با استفاده از روش پاسخ سطح مطابق جدول-۲ بکار رفته است. شرایط بهینه برای تشکیل کمپلکس براساس کدورت، پایداری، ویسکوزیته، اندازه ذرات و پتانسیل زتا که در جدول ۲ نشان داده شده، تعیین گردید. نتایج نشان می‌دهد که نمونه GA ۱/۵٪ , WPC ٦٪ و pH=٤/۵ نانو-کمپلکس حاوی آستاگزانتین به عنوان نمونه بهینه انتخاب شده است. برای تایید انتخاب تیمار بهینه، بار دیگر نانو کمپلکس حاوی آستاگزانتین که به صورت تجربی آماده شده را با شرایط بهینه که توسط RSM پیشنهاد شده، از نظر میزان پایداری، کدورت، ویسکوزیته، اندازه قطرات و پتانسیل زتا در جدول ۳ مقایسه شدند. اختلاف معنی داری بین آنها وجود ندارد و در نتیجه مدل قابل قبول است.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]

Table 2 Optimization procedure and results for optimum formulation to produce WPC- GA nanocomplexes containing Astaxanthin.

Name	Goal	Lower Limit	Upper Limit	Lower Weight	Upper Weight	Importance
A:WPC	is in range	2	6	1	1	3
B:GA	is in range	0.5	1.5	1	1	3
C:pH	is in range	4.5	8.5	1	1	5
Stability	Minimize	88	98.5	1	1	3
Turbidity	Maximize	0.06	0.68	1	1	3
Viscosity	Maximize	165	330	1	1	3
Particle Size	Maximize	138.4	1057	1	1	3
Zeta Potential	Maximize	-22.2	-5.4	1	1	3

Table 3 Comparison of predicted and actual values of different responses

Responses	Predicted Value	Actual Value
Stability	90.07	90
Turbidity	0.681	0.68
Viscosity	333.73	330.0
Particle Size	428.9	334
Zeta Potential	-6.54	-5.4

٤- نتیجه گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان داد که تشکیل نانو کمپلکس بین صمغ عربی-کنسانتره پروتئین آب پنیر منجر به ریزپوشانی مقدار قابل توجه‌ای از آستاگزانتین شده است. تهیه نانو کمپلکس با محتوی کنسانتره پروتئین آب پنیر در ۳ مقدار (۲، ٤ و ٦ درصد)، محتوی صمغ عربی(۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد) و میزان pH در ۳ سطح (٤/۵، ٦/۵ و ۸/۵) بر پایداری، کدورت، ویسکوزیته، اندازه قطرات و پتانسیل زتا محلول‌های نانو کمپلکس صورت گرفت تا نمونه بهینه تعیین گردد. نسبت بین صمغ عربی و کنسانتره پروتئین آب پنیر مهمترین اولویت بوده و به دنبال آن فاکتور pH در شکل‌گیری کمپلکس قوی و منسجم موثر است. با استفاده از روش سطح پاسخ، بهترین غلظت دو بیوپلیمر و pH مناسب برای تشکیل نانو کمپلکس حاوی آستاگزانتین، نمونه‌ای با غلظت ۱/۵ ٪ GA , ٦٪ WPC در pH=٤/۵ به‌عنوان نمونه بهینه بدست آمده است. در نتیجه با کاهش pH و تشکیل کمپلکس، میزان کدورت افزایش (۰/٦۸) و پایداری مناسب (۹۰ درصد) بدست آمد. به‌علاوه، با افزایش میزان صمغ عربی و کنسانتره پروتئین آب پنیر در pH ٤/۵ و با شکل‌گیری کمپلکس آب بیشتری به همراه آستاگزانتین درگیر شده که منجر به افزایش گرانروی شده است. هم‌چنین، اندازه ذره ۳۳٤ nm و پتانسیل زتا با افزایش غلظت صمغ عربی در جهت منفی (-۵/٤ mv) افزایش یافت.

۵- سپاسگزاری

این پژوهش در آزمایشگاه مرکز رشد واحد فناوری طبرستان ساری انجام گرفته است .نویسندگان مقاله به‌دین وسیله از مدیریت و کارشناسان این مرکز قدردانی می‌نمایند.

٦- منابع

[1] Ranga Rao, A., Phang, S.M., Sarada, R., Aswathanarayana, R.G. (2014). Astaxanthin: Sources, Extraction, Stability, Biological Activities and Its Commercial Applications—A Review. 12, 128-152; doi:10.3390/md12010 128.

[2] Bustos, R., Romo L., Yanez. K., Diaz, G., Romo, C. (2003). Oxidative stability of carotenoid pigments and polyunsaturated fatty acids in microparticulate diets containing krill oil for nutrition of marine fish larvae. J Food Eng 56(2-3):289-293.

[3] Akrami, M., Ghanbarzadeh, B., Purzafar, F., Mortazavi, A., Dinarvand, R., Dehghannya, J.(2016). Gum arabic-caseinate nanocomplexes bearing β-carotene (2): Studying of particle size distribution, zeta potential, morphology and encapsulation efficiency. Journal of Food Industry Researches / Volume 26, Issue 4.(Persian)

[4] Ghasemi, S., Jafari, S. M., Assadpour, E. and Khomeiri, M. (2017). Nanoencapsulation of d-limonene within

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]

[15] Chen, X., Chen, R., Guo, Z., Li, C., Li, P., 2007. The preparation and stability of the inclusion complex of astaxanthin with [beta]-cyclodextrin. Food Chemistry 101, 1580–1584.
[16] Jafari, S.M., He, Y., Bhandari, B., (2007). Encapsulation of nanoparticles of d-limonene by spray drying: role of emulsifiers and emulsifying techniques. Drying Technology 25, 1069-1079.
[17] Azarikia, F. and Abbasi, S. (2015). Mechanism of soluble complex formation of milk proteins with nativegums (tragacanth and Persian gum). Food Hydrocolloids,59:35-44
[18] Dong, S., Huang, Y., Zhang, R., Wang, S., Liu, Y.(2014). Four Different Methods Comparison for Extraction of Astaxanthin from Green Alga Haematococcus pluvialis. Hindawi Publishing Corporation The Scientific World Journal . 2014, Article ID 694305, 7 pages
[19] Girard, M, Turgeon, S. L. and Gauthier, S. F. 2003. Thermodynamic parameters of betalactoglobulin –pectin complexes assessed by isothermal titration calorimetry. Journal of Agriculture Food Chemistry. 51: 4450-4455.
[20] Kong, X., Jia, C., Zhang, C., Huaa, Y., Chena, Y. (2017). Characteristics of soy protein isolate/gum arabic-stabilized oil-in-water emulsions: influence of different preparation routes and pH. RSC Adv., 2017, 7, 31875–31885.
[21]Ye, A. (2008). Complexation between milk proteins and polysaccharides via electrostatic interaction: Principles and applicationsea review. International Journal of Food Science & Technology, 43(3), 406e415.
[22] Bedie, G. K., Tu, Rgeon, S. L. and Makhlouf, J. 2008, Formation of native whey protein isolate-low methoxyl pectin complexes as a matrix for hydro-solublefood ingredient entrapment in acidic foods, Food Hydrocolloids, 22: 836-844.
[23] Combrinck, J., Otto, A. and du Plessis, J. (2014). Whey Protein/Polysaccharide-Stabilized Emulsions: Effect of Polymer Type and pH on Release and Topical Delivery of Salicylic Acid. American Association of Pharmaceutical Scientists, 15: 588-600.
[24] Ye, A., Flanagan, J., & Singh, H. (2006). Formation of stable nanoparticles via electrostatic complexation between sodium caseinate and gum Arabic. Biopolymers, 82(2), 121e133.
nanocarriers produced by pectin-whey protein complexes. Food Hydrocolloids, 77: 152-162.
[5] Assadpour, E., Maghsoudlou, Y., Jafari, S. M., Ghorbani, M. and Aalami, M. (2016). Optimization of folic acid nano-emulsification and encapsulation by maltodextrin-whey protein double emulsions. International journal of biological macromolecules, 86: 197-207.
[6] GBassi, g., Yolou, F., Sarr, S., Atheba, P., Amin, C. and Ake, m. (2012). Whey protein analysis in aqueous medium and in artificial gastric and intestinal fluids. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 6: 1828-1837.
[7] Weinbreck, F., de Vries, R., Schrooyen, P., & de Kruif, C. G. (2003).Complex coacervation of whey proteins and gum arabic. Biomacromolecules, 4(2), 293–303.
[8]Shiga, H., Yoshii, H., Nishiyama, T., Furuta, T., Forssele, P., Poutanen, K., & Linko, P. (2001). Flavor encapsulation and release characteristics of spray-dried powder by the blended encapsulant of cyclodextrin and gum Arabic. Drying Technology, 19: 1385–1395.
[9] Jain, A., Thakur, D., Ghoshal, G., Katare, O. P., Shivhare, U. S.(2015). Microencapsulation by Complex Coacervation Using Whey Protein Isolates and Gum Acacia: An Approach to Preserve the Functionality and Controlled Release of β-Carotene. Food Bioprocess Technol. DOI 10.1007/s11947-015-1521-0.
[10] Matalanis, A., Jones, O.G., & Clements, D.J. (2011). Structured biopolymer-based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds. Food Hydrocolloids, 25(8), 1865-1880.
[11] Peinado, I. Lesmes, U., Andres, A. and McClements, D. J. (2010). Fabrication and morphological characterization of biopolymer particles formed by electrostatic complexation of heat treated lactoferrin and anionic polysaccharides. Langmuir, 26: 27-34.
[13] Junxia, X., Hai-yan, Y., & Jian, Y. (2011). Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic. Food Chemistry, 125, 1267–1272.
[14] Shen, Q., Quek S,Y.(2014). Microencapsulation of astaxanthin with blends of milk protein and fiber by spray drying. Journal of Food Engineering 123 (2014) 165–171

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]

Optimization nano- complex production of whey protein concentrate- Arabic gum carrier Astaxanthin by using response surface methodology (RSM)

Sherafat, N. [1], Mirzaei , H. [2*], Jafari, S. M. [3], Safari, R. [4], Kashaninezhad, M. [5]

1. PhD Student, Department of Food Materials and Process Design Engineering, Faculty of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.
2. Associate professor, Department of Food Materials and Process Design Engineering, Faculty of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.
3. Professor, Department of Food Materials and Process Design Engineering, Faculty of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.
4. Assistant professor, Technology food science, Caspian Sea Ecology Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Sari.
5. Professor, Department of Food Materials and Process Design Engineering, Faculty of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.

(Received: 2018/12/22 Accepted:2019/10/16)

Astaxanthin is a carotenoid pigment that is used as a repellency for free radicals and active oxygenates, dietary supplements and natural colorants, as well as its therapeutic applications, and has been called natural super-antioxidants. Furthermore, astaxanthin due to its high unsaturate is susceptible to environmental factors, which can be applied encapsulation in suitable coatings and added to food products to be controlled and released under specific conditions. In this research, Astaxanthin encapsulation has been carried out in a combination of Arabic gum and whey protein concentrate. In this stage, the independent variables, the ratio of each of the walls, Arabic gum (0.5, 1, 1.5 %), whey protein concentrate (2, 4 and 6 %), as well as pH (4.5, 6.5, 8.5) were considered and their effects on turbidity, viscosity, drope size, zeta potential, and stability of nano-complex were investigated. In order to find the optimum pH of the complex formation, the adsorption rate was investigated in a wide range of pH (3-9) and pH 4.5 was determined to for a complex of whey protein concentrate –Arabic gum. Based on the results obtained from the response surface method, the treatment with number -16 (%1.5 GA, % 6 WPC in pH = 4.5) with the suitable stability, has the highest viscosity and maximum turbidity, the smallest drope size and the highest zeta potential was determined as the optimal sample. In the final, ratio of 6 to 1.5 between WPC and GA came up with the highest complex formation.

Keywords: Gum Arabic, Whey protein concentrate, Nano-complex, Optimazation, Response surface methodology.

*Corresponding Author E-Mail Address: mirzaeihabib1@gmail.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]