

علمی پژوهشی

اثر حامل‌های مالتودکستروزین و صمغ عربی بر ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی هیدرولیز شده‌های کازئین خشک شده به روش پاششی

زهرا اکبربگلو^{۱*}، آسا کمالی شجاعی^۲، خشایار سرابندی^۳

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، موسسه آموزش عالی غیرانتفاعی آفاق ارومیه

۳- دانش‌آموخته دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۹/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۴/۲۳)

چکیده

در این مطالعه، هیدرولیز آنزیمی کازئین با استفاده از آنزیم‌های آلکالاز و پانکراتین در شرایط بهینه انجام گرفت. سپس، اثر نوع و ترکیب حامل‌های مالتودکستروزین و صمغ عربی بر ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی (مقدار رطوبت، فعالیت آبی، دانسیته توده، دانسیته ضربه، حلالیت، جاذب‌الرطوبه‌بودن)، حفظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی (مهار رادیکال آزاد ABTS، DPPH، مهار رادیکال هیدروکسیل، قدرت احیاءکنندگی، شلاته‌کنندگی یون آهن و مس)، مورفولوژی و میانگین اندازه ذرات هیدرولیز شده‌های کازئین خشک‌شده به روش پاششی ارزیابی شدند. نتایج نشان دادند که مقدار رطوبت، فعالیت آبی، دانسیته توده، دانسیته ضربه و حلالیت به شکل یکسانی تحت تاثیر نوع و ترکیب حامل قرار دارند ($P < 0.05$). مقدار جاذب‌الرطوبه‌بودن هیدرولیز شده‌های کازئین پس از فرآیند ریزپوشانی به شکل قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی هیدرولیز شده‌ها بسته به نوع آنزیم متفاوت بود. به طور مثال، مهار رادیکال‌های آزاد ABTS و هیدروکسیل در هیدرولیز شده‌های پانکراتین بیشتر از آلکالاز بودند ($P < 0.05$). ترکیب مالتودکستروزین و صمغ عربی بهترین اثر را در حفظ فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد ABTS (۹۴/۹۳٪-۹۲/۷۲٪)، DPPH (۹۸/۴۷-۹۸/۹۴٪)، مهار رادیکال هیدروکسیل (۸۸/۵۹-۹۴/۹۵٪)، قدرت احیاءکنندگی (۹۸/۹۴-۹۹/۶۵٪) و شلاته‌کنندگی یون‌های آهن (۹۸/۳۸-۹۸/۶۱٪) و مس (۹۷/۱۲-۸۲/۸۶٪) نشان داد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی نشان‌دهنده وجود ذراتی با اندازه‌های مختلف و چروکیده بودند. نمونه‌های تولید شده با صمغ عربی، میانگین اندازه ذرات بزرگتری نسبت به مالتودکستروزین دارا بودند. در نهایت، نتایج حاصل از این مطالعه نشان‌دهنده کارایی فرآیند خشک‌کردن پاششی بر تولید هیدرولیز شده‌های ریزپوشانی شده با ویژگی‌های فیزیکی، پایداری و آنتی‌اکسیدانی مناسب بود.

کلید واژگان: خشک کردن پاششی، ریزپوشانی، هیدرولیز شده‌های کازئینی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

* مسئول مکاتبات: zahra.akbarbaglu@yahoo.com

۱- مقدمه

امروزه باتوجه به بروز بیماری‌های مختلف مانند اختلالات قلبی-عروقی، تحقیقات متعددی در خصوص استفاده و تولید ترکیبات سلامتی‌بخش از منابع طبیعی در حال انجام است. مواد زیست فعال به دو دسته مولکول‌ها (ویتامین‌ها، اسیدهای چرب، کاروتنوئیدها، استرول‌های گیاهی، پلی‌فنول‌ها، اسیدهای آمینه، پپتید و پروتئین‌ها) و سلول‌های زنده (پروبیوتیک‌ها) تقسیم می‌شوند [۱]. در بین انواع ترکیبات زیست‌فعال، مزایای بالای سلامتی بخش پروتئین‌های هیدرولیز شده موجب تا پژوهشگران این ترکیبات را به‌عنوان یک ماده غذا-دارو و به شکل یک افزودنی مفید در فرمولاسیون‌های مختلف غذایی در نظر گیرند [۲]. این ترکیبات غنی از پپتیدهای با وزن مولکولی پائین بوده که از هضم پذیری بالا و سمیت و آلرژی‌زایی اندکی برخوردارند. از سایر خواص بیولوژیکی آن‌ها می‌توان به عملکرد آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌بیوتیک، کاهش دهنده فشار خون، بی‌خطر بودن، ارزش تغذیه‌ای و عملکردی^۱ آن‌ها اشاره نمود [۳ و ۴].

پروتئین‌های شیر به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان منبع ترکیبات مغذی، عملگرا و غنی از پپتیدهای زیست فعال شناخته و استفاده می‌شوند. میسل کازئین متشکل از $as1$ ، $as2$ ، بتا و کاپا کازئین می‌باشند و نسبت این ۴ نوع در شیر پستانداران متفاوت است [۵]. تحقیقات متعدد انجام گرفته نشان‌دهنده اثر کیفی قابل توجه شرایط هضم پروتئین‌های اولیه شیر بر بازده فیزیولوژیکی پپتیدهای زیست فعال، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، کاهش فشارخون و فعالیت‌های ضد میکروبی آن‌ها است [۶]. اما معایبی مانند جاذب‌الرطوبه بودن بسیار زیاد (که منجر به ناپایداری فیزیکی در طول نگهداری، بروز واکنش‌های شیمیایی و فساد میکروبی و در نهایت از دست رفتن ویژگی‌های سلامتی‌بخش می‌شوند) و همچنین طعم تلخ این ترکیبات که غنی‌سازی محصولات غذایی را دشوار می‌سازد موجب شده که قابلیت استفاده از این ترکیبات در فرمولاسیون‌های غذایی مختلف به‌شکل قابل ملاحظه‌ای تحت تاثیر قرار گیرد [۷].

یکی از راه‌های کارآمد و اقتصادی برای کاهش این معایب، ریزپوشانی ترکیبات زیست‌فعال حاصل از هیدرولیز آنزیمی پروتئین‌هاست. این فرآیند همچنین، روشی مناسب برای رسانش پپتیدهای زیست‌فعال غذایی است. در سالیان اخیر،

جنبه‌های مختلفی از ریزپوشانی پپتیدهای زیست فعال غذایی مورد بررسی قرار گرفته است. بدین شکل که تحقیقات مختلفی، فرآیند ریزپوشانی پپتیدهای حاصل از هیدرولیز شده-های پروتئینی را در میکرو و نانوحامل‌ها مورد مطالعه قرار دادند [۸]. در بین روشهای مختلف ریزپوشانی، خشک کردن پاششی رایج‌ترین روش تولید ترکیبات مایع به شکل پودر است [۹]. پژوهشگران مختلفی، اثر فرآیند خشک کردن پاششی بر ویژگی‌های فیزیکی و پوشاندن تلخی هیدرولیز شده‌های پروتئین آب پنیر [۷ و ۱۰]، کازئین [۱۱ و ۱۲] و گوشت جوجه [۱۳] بررسی کردند. در یک پژوهش نیز اثر استفاده از مالتودکسترین بر ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و آنتی‌اکسیدانی کازئین هیدرولیز شده مورد بررسی قرار گرفته است [۱۴]. با این حال تاکنون هیچ تحقیقی در خصوص بررسی اثر و قابلیت استفاده از حامل‌های مختلف و ترکیب آن‌ها در فرآیند خشک کردن پاششی به‌ویژه بر حفظ شاخص‌های مختلف آنتی‌اکسیدانی انجام نشده است.

در بین حامل‌های مختلف، ویژگی‌هایی مانند قیمت مناسب، خوراکی بودن، حلالیت بالا، ویسکوزیته پائین، موجب شده است تا مالتودکسترین و صمغ عربی به شکل گسترده‌ای در خشک کردن پاششی انواع محصولات چسبنده و ترکیبات آنتی‌اکسیدان مورد استفاده قرار گیرند [۱۵ و ۱۶]. لذا با در نظر گرفتن موارد فوق، هدف از این مطالعه بررسی کارایی استفاده از مالتودکسترین، صمغ عربی و ترکیب این دو حامل بر ویژگی‌های فیزیکی، عملکردی، حفظ پایداری در طول نگهداری (جاذب‌الرطوبه بودن)، حفظ ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی در طول فرآیند خشک کردن پاششی و ریزساختار پودرهای تولید شده حاوی هیدرولیز شده‌های کازئینی با آلکالاز و پانکراتین بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

کازئین (۹۵٪ پروتئین)، پانکراتین ($4 \times USP$, P1750)، آلکالاز (2.4 L)، تری‌کلرواستیک اسید^۲ (TCA)، کوماسی بلو (G250)، DPPH^۳، ABTS^۴، پتاسیم پرسولفات،

2. Trichloroacetic acid

3. 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl

4. 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

1. Functional

۴-۲- فرآیند ریزپوشانی

در این تحقیق از یک خشک‌کن پاششی در مقیاس آزمایشگاهی (درسا، ایران) استفاده گردید. محفظه خشک‌کن به صورت استوانه‌ای با قسمت تحتانی مخروطی شکل با قطر قسمت استوانه‌ای ۲۸ سانتی‌متر و ارتفاع کل محفظه ۸۰ سانتی‌متر بود. دستگاه مجهز به یک پمپ تغذیه حجمی پرستالتیک با دبی تغذیه متغیر با فشار ۱ بار برای ارسال خوراک به نازل است. فرآیند پاشش توسط اتمایزر فشاری با قطر ۲ cm و قابلیت عمل توسط کمپرسور هوا، صورت گرفت. با استفاده از آزمون و خطاهای اولیه انجام شده، از هوای ورودی با دمای (۱۳۰ °C) و بصورت هم جهت با خوراک‌های از قبل تهیه شده برای خشک کردن استفاده شد. برای همه تیمارها، دبی خوراک ورودی ۳ میلی‌لیتر در دقیقه و دمای هوای خروجی در فرآیند ۷۵ °C ثابت نگه‌داشته شدند. پودرهای جمع شده در محفظه شیشه‌ای تا رسیدن به دمای ثابت و ممانعت از تغییرات رطوبت در دسیکاتور نگهداری شدند. سپس محصولات ریزپوشانی شده در شیشه‌های تیره و دور از نور تا زمان انجام آزمایشات نگهداری گردید [۱۴].

۴-۵- ارزیابی ویژگی‌های فیزیکی

۴-۵-۱- مقدار رطوبت و فعالیت آبی

ارزیابی ویژگی‌های فیزیکی به اختصار و به شکل زیر انجام گرفت. در این تحقیق، تعیین مقدار رطوبت پس از قرار دادن ۱ گرم پودر از هر نمونه در آون با دمای ۱۰۵ °C به مدت ۳ ساعت و محاسبه اختلاف وزن انجام شد [۱۶]. مقدار فعالیت آبی با استفاده از دستگاه تعیین فعالیت آبی (Decagon Devices, USA) و در دمای محیط تعیین شد.

۴-۵-۲- دانسیته توده و دانسیته ضربه

مقادیر دانسیته توده ذرات پس از ریختن ۱ گرم پودر در استوانه ۱۰ ml و محاسبه نسبت وزن به حجم اشغال شده در استوانه مدرج، به صورت (گرم بر میلی‌لیتر) محاسبه گردید و دانسیته ضربه پس از وارد کردن ضربات آهسته به جداره استوانه به مدت ۱ دقیقه و تعیین این نسبت به دست آمدند [۱۷].

۴-۵-۳- انحلال‌پذیری

جهت تعیین انحلال‌پذیری ۱ گرم پودر به دقت به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر تحت شرایط هم زدن با یک همزن مغناطیسی در

ترولوکس، پتاسیم فری‌سیانید، فریک کلراید، آلفا-داکسی ریبوز، دی‌کلرید آهن، فروزین، سولفات مس، پیریدین، پیروکاتکول و بولت، اسکوربیک اسید و تیوباربتوریک اسید^۱ (TBA) از سیگما خریداری شدند. مالتودکسترین (پوران پودر سپاهان، اصفهان)، آلفا داکسی ریبوز (فلوکا، سوئد) و صمغ عربی از (KBR، هند) تهیه شدند.

۲-۲- هیدرولیز آنزیمی کازئین

فرآیند هیدرولیز آنزیمی کازئین در شرایط بهینه عملکرد هر آنزیم (آلکالاز و پانکراتین) انجام گرفت [۱۴]. برای فرآیند هیدرولیز آنزیمی، کازئین (N= 95%) در نسبت (w/v) ۵٪ به ترتیب در بافر فسفات ۰/۲ مولار برای آلکالاز (pH= 8, 50 °C) و پانکراتین (pH= 7.4, 37 °C) حل شد. فرآیند هم‌زدن به مدت ۴۰ دقیقه برای هیدراته کردن کامل کازئین انجام شد. سپس آنزیم‌ها در نسبت (w/w) ۲/۵٪ سوسترا به محیط افزوده شدند. فرآیند هیدرولیز بر اساس تحقیقات پیشین برای هر آنزیم به مدت ۱۲۰ دقیقه انجام گرفت. پس از اتمام فرآیند هیدرولیز، برای غیرفعال کردن آنزیم، محیط واکنش در حمام آب ۹۵ °C به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. دیسپرسیون حاصل با استفاده از آب سرد (۴ °C) تا دمای محیط خنک گردید. سپس هیدرولیز شده کازئین در $7000 \times g$ به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط سانتریفیوژ شد. محلول رویی جدا و با خشک‌کن انجمادی (Christ، آلمان) در دمای ۲۰- °C و فشار ۰/۱ میلی‌بار، لیوفیلیزه و تا زمان استفاده در دمای ۱۸- °C نگهداری گردید [۱۴].

۲-۳- تهیه محلول خوراک

برای تهیه محلول خوراک، هر یک از هیدرولیز شده‌های آنزیمی در نسبت ۴۰ به ۶۰ با ماده دیواره (صمغ عربی، مالتودکسترین و یا مخلوط یکسانی از این دو) در آب مقطر حل شدند. بدین منظور ۱/۲ گرم از هیدرولیز شده با ۱/۸ گرم از هر یک یا ترکیب حامل‌ها در ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر و به مدت ۳۰ دقیقه به طور کامل حل شدند. محلول خوراک برای هیدراته شدن کامل ترکیبات هسته و دیواره به مدت ۳ ساعت در دمای محیط نگهداری شد [۱۴].

diammonium salt
1. Thiobarbituric acid

۲۵۰، ۱۰۰، ۵۰) با ۴ ml محلول رقیق شده $ABTS^+$ تهیه شد. درصد مهار رادیکال $ABTS^+$ نمونه‌ها بر اساس معادله زیر محاسبه گردید. همچنین، فعالیت مهار رادیکال $ABTS^+$ بر اساس منحنی استاندارد ترولوکس به شکل ظرفیت ضد اکسایشی معادل ترولوکس (TEAC, mM) بیان گردید.

$$AA (\%) = \left[\frac{A_{blank} - A_{sample}}{A_{blank}} \right] \times 100 \quad (1)$$

در اینجا، A_{blank} (جذب نمونه شاهد) و A_{sample} (جذب نمونه هیدرولیز شده) هستند.

۲-۶-۲-۲- مهار رادیکال آنیونی DPPH

درصد مهار رادیکال آزاد DPPH با استفاده از روش وو و همکاران [۲۱] با کمی اصلاحات تعیین گردید. ابتدا، ۱/۵ ml از هر نمونه با ۱/۵ ml از محلول اتانولی DPPH (۰/۱۵ mM) مخلوط و بمدت ۲۰ ثانیه ورتکس شد. سپس، مخلوط حاصل در ۲۵۰۰ rpm به مدت ۱۰ min سانتریفوژ و بمدت ۲۰ min در تاریکی نگهداری شد. جذب محلول سوپرناتانت در طول موج ۵۱۷ nm خوانده شد. درصد مهار رادیکال DPPH مشابه معادله ۱ تعیین شد.

۲-۶-۲-۳- مهار رادیکال هیدروکسیل

فعالیت مهار رادیکال هیدروکسیل با استفاده از اکسیداسیون ۲-داکسی ریبوز بر طبق روش کیم و مینامیکاوا [۲۲] تعیین شد. برای این آزمون، ۰/۲ ml از مخلوط $FeSO_4$ (۱۰ mM EDTA)، ۰/۵ ml (۱۰ mM) آلفاداکسی ریبوز، ۰/۲ ml نمونه هیدرولیز شده، ۰/۹ ml سدیم فسفات بافر (pH 7.4) و ۰/۲ ml پراکسید هیدروژن (۱۰ mM) با هم مخلوط شدند. مخلوط در $37^\circ C$ برای ۱ h انکوبه شد. سپس، ۱ ml تری کلرواستیک اسید (TCA) ۲/۸ درصد و ۱ ml تیوباربتوریک ۱ درصد برای توقف واکنش به مخلوط افزوده شد. مخلوط برای ۱۵ min در حمام آب جوش قرار، در یخ سرد شده، سپس جذب آن در ۵۳۲ nm با اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. حجم یکسانی آب مقطر به جای نمونه برای تهیه شاهد استفاده گردید.

۲-۶-۲-۴- قدرت احیاءکنندگی

برای تعیین قدرت احیاءکنندگی نمونه‌های هیدرولیز شده، ۰/۵ ml نمونه حل شده با ۰/۵ ml بافر فسفات ۰/۲ M (pH 6.6) و ۰/۵ ml پتاسیم فری-سیانید (۱ W/V) مخلوط شد. مخلوط در دمای $50^\circ C$ برای ۲۰ min دقیقه

۷۰۰ rpm به مدت ۴ دقیقه در دمای محیط اضافه گردید. محلول حاصل در $3000 \times g$ برای ۴ دقیقه سانتریفوژ شد. حجم ۲۵ میلی لیتر از محلول فوقانی جدا و به یک پتری دیش که از قبل وزن گردیده منتقل و در $105^\circ C$ به مدت ۵ ساعت خشک گردید. وزن ماده جامد خشک شده نسبت به پودر اولیه بر حسب درصد جهت تعیین مقدار انحلال‌پذیری در آب به کار رفت [۱۸].

۲-۵-۴- جاذب‌الرطوبه بودن

ارزیابی جاذب‌الرطوبه بودن پس از قرار دادن ۱ گرم از هر نمونه در دسیکاتور حاوی محلول اشباع کلرید سدیم ($RH = 75\%$) به مدت ۷ روز و محاسبه نسبت افزایش وزن نمونه بر حسب درصد (گرم آب جذب شده توسط ۱۰۰ گرم پودر) انجام گرفت [۱۹].

۲-۶-۲- ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی

برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی هیدرولیز شده‌های آزاد و ریزپوشانی شده به ترتیب مقدار ۰/۲ و ۰/۵ گرم از هر نمونه را در ۵ میلی لیتر آب مقطر حل نموده به شکلی که غلظت هیدرولیز شده در محلول ۴۰ mg/ml بدست آمد. تنها برای آزمون ABTS از غلظت ۴ mg/ml پروتئین استفاده شد. سپس از محلول‌های فوق برای تعیین هر یک از ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی استفاده گردید [۱۴].

۲-۶-۲-۱- مهار رادیکال کاتیونی $ABTS^+$

فعالیت مهار رادیکال $ABTS$ پودرهای کازئین هیدرولیز شده با استفاده از روش تشریح شده توسط یو و همکاران [۲۰] با کمی اصلاحات تعیین گردید. محلول رادیکال $ABTS^+$ با ترکیب نسبت حجمی یکسانی از $ABTS$ در غلظت ۷ mM و ۲/۴۵ mM پتاسیم پرسولفات تهیه گردید. مخلوط در تاریکی و در دمای محیط به مدت ۱۶-۱۲ h قبل از مصرف قرار داده شد. در این مدت، اکسیداسیون و تولید رادیکال $ABTS^+$ به وسیله پتاسیم پرسولفات انجام گرفت. قبل از آزمون، محلول $ABTS^+$ با استفاده از (۰/۲ M, pH 7.4) PBS تا جذب 0.02 ± 0.07 در 734 nm رقیق شد. سپس ۴۰ μl از هر نمونه (با غلظت $\mu\text{g/ml}$) به ۴ ml محلول رقیق شده $ABTS^+$ افزوده شد. مخلوط برای ۳۰ ثانیه به شدت ورتکس و به مدت ۶ min در تاریکی قرار داده شد. جذب محلول نهایی در 734 nm اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد با واکنش ۴۰ μl ترولوکس ($0.000, 0.005, 0.010, 0.020, 0.040, 0.075, 0.150, 0.300 \mu\text{M}$)

۲-۷- ارزیابی ریزساختار

ساختار ذرات پودرها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (هیتاچی، مدل PS-230، ژاپن) مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه‌ها به طور مجزا با استفاده از نوار چسب‌های دوسویه بر صفحه‌های آلومینیومی قرار گرفتند. سپس عمل روکش‌دهی ذرات با استفاده از لایه نازکی از طلا انجام شد. در نهایت هر نمونه پوشش‌دهی شده به میکروسکوپ منتقل و مشاهده ساختار سطحی ذرات در ولتاژ ۱۵ kV صورت گرفت. همچنین میانگین اندازه ذرات (میانگین ۲۰۰ ذره) با تصاویر میکروسکوپ الکترونی و با استفاده از نرم افزار Image J تعیین گردید.

۲-۸- تجزیه و تحلیل آماری

اثر هر یک از تیمارهای مورد مطالعه با کاربرد آنالیز واریانس یک طرفه و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ مورد ارزیابی قرار گرفت تا فاکتورهای مؤثر از لحاظ آماری شناسایی شوند. کلیه آزمون‌ها در ۳ تکرار و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن جهت بررسی معنی‌دار بودن اثر متغیرها در ($P < 0/05$) انجام گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مقدار رطوبت و فعالیت آبی

جدول ۱، اثر نوع و ترکیب حامل‌های مالتودکسترین بر مقدار رطوبت و فعالیت آبی هیدرولیزشده‌های کازئینی ریزپوشانی شده را نشان می‌دهد. مقدار رطوبت پودرهای خشک شده به روش پاششی بین ۳/۱۹-۴/۲۷ درصد متغیر بود. بدین شکل که پودرهای تولید شده با مالتودکسترین کم‌ترین مقدار رطوبت را داشتند. اما مقدار این شاخص با جایگزینی نیمی از مالتودکسترین با صمغ عربی افزایش یافت ($P < 0/05$). همچنین تفاوتی بین مقدار رطوبت پودرهای حاصل از هیدرولیزشده کازئین با آلکالاز و پانکراتین وجود نداشت. مشابه نتایج حاصل از ارزیابی مقدار رطوبت، فعالیت آبی پودرها نیز تحت تاثیر نوع و ترکیب حامل مورد استفاده قرار

انکوبه شد. سپس، ۰/۵ml محلول تری کلرو استیک اسید ۱۰ درصد به مخلوط اضافه و به مدت ۱۰min در ۲۵۰۰rpm سانتریفوژ شد. در نهایت، ۱ml سوپرناتانت با ۱ml آب مقطر و ۰/۲ml فریک کلراید (W/V) ۰/۱٪ مخلوط گردید. جذب نمونه در ۷۰۰nm پس از ۱۰min نگهداری مخلوط در دمای محیط، خوانده شد. حجم یکسانی آب مقطر به جای نمونه برای تهیه نمونه کنترل استفاده شد. افزایش جذب مخلوط واکنش (عدد جذب نمونه در طول موج ۷۰۰nm که توسط اسپکتروفتومتر قرائت می‌گردد) نشان دهنده افزایش قدرت احیاءکنندگی است [۲۳].

۲-۶-۵- شلاته‌کنندگی یون آهن

فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن بر طبق روش جامدار و همکاران [۲۴] اندازه‌گیری شد. ابتدا، ۱ml نمونه حل شده در آب مقطر با ۰/۵ml محلول دی کلراید آهن (۲mM) و ۱/۸۵ml آب دوبار تقطیر مخلوط شد. سپس، ۰/۱ml محلول فروزین (۵mM) افزوده و مخلوط به شدت هم‌زده شد. جذب پس از ۱۰min نگهداری مخلوط در دمای محیط در ۵۶۲nm خوانده شد. آب دوبار تقطیر به عنوان نمونه شاهد مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت شلاته‌کنندگی نمونه‌ها با استفاده از معادله ۱ محاسبه شد.

۲-۶-۶- شلاته‌کنندگی یون مس

فعالیت شلاته‌کنندگی یون مس پروتئین‌های هیدرولیز شده با استفاده از روش کانگ و ژیانگ [۲۵] اندازه‌گیری شد. در ابتدا، ۱ml محلول ۰/۲mM سولفات مس با ۱ml کازئین هیدرولیز شده در فالتون ۱۵ml مخلوط و برای ۵min در دمای اتاق انکوبه شد. سپس، ۱ml محلول تری کلرواستیک اسید ۱۱/۳ درصد افزوده و نمونه‌ها در ۲۵۰۰rpm برای ۱۰min سانتریفوژ شدند. پس از آن، ۲ml از سوپرناتانت به ۱ml محلول ۱۰٪ پیریدین و ۲۰μl پیروکاتکول ویولت افزوده و مخلوط ورتکس و برای ۵min در دمای اتاق انکوبه شد. جذب نمونه‌ها در ۶۳۲nm خوانده و فعالیت شلاته‌کنندگی یون مس با استفاده از معادله تشریح شده برای ABTS به‌دست آمد.

به‌طورمثال، فاوارو-ترینداد و همکاران [۱۱] گزارش کردند که مقدار رطوبت کازئین هیدرولیز شده تحت تاثیر نوع و ترکیب ماده دیواره قرار گرفت و از ۴/۷۳٪ در نمونه ریزپوشانی نشده تا ۶/۸۵٪ در نوع ریزپوشانی شده متغیر بود. اما فرآیند ریزپوشانی اثری بر فعالیت آبی پودرها نشان نداد و مقدار این شاخص بین ۰/۲۵ تا ۰/۲۷ متغیر بود. اگرچه در تحقیق دیگری، بین مقدار رطوبت انواع هیدرولیزشده‌های کازئینی ریزپوشانی شده با مالتودکسترین تفاوتی گزارش نشد [۱۴]. در تحقیق دیگری، اثر نوع حامل (مالتودکسترین و صمغ عربی به عنوان حامل در ۳ غلظت) بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی هیدرولیزشده گوشت جوجه خشک شده به روش پاششی بررسی گردید. نتایج نشان دادند که افزایش غلظت حامل موجب کاهش مقدار رطوبت پودرها می‌گردد [۲۸].

گرفت. مقدار این شاخص در پودرهای خشک شده به روش پاششی بین ۰/۲۶-۰/۳۱ متغیر بود. اما با توجه به این نکته که پودرهایی با فعالیت آبی کم‌تر از ۰/۶ از پایداری میکروبی بالایی برخوردارند [۲۶]. بنابراین مقدار رطوبت و فعالیت آبی پودرهای حاوی هیدرولیزشده‌های کازئینی از پایداری میکروبی مناسبی برخوردارند.

مشابه نتایج حاصل از این تحقیق، اثر حامل‌های مختلف بر مقدار رطوبت عصاره چای کوهی خشک شده به روش پاششی بررسی شد. در بین حامل‌ها، صمغ عربی بالاترین و مالتودکسترین کمترین مقدار رطوبت را از خود نشان دادند. علت آن نیز ظرفیت حفظ آب بالاتر هیدروکلوئیدها نسبت به مشتقات نشاسته بیان شد [۲۷]. این یافته‌ها حاکی از اهمیت و اثر نوع، ترکیب و غلظت حامل بر مقدار این شاخص‌ها دارد.

Table 1 Effect of carrier type and combination on the physical properties of spray-dried casein hydrolysates

Enzymatic hydrolyzed	Carrier type	Moisture content (%)	Water activity	Bulk density (g/mL)	Tapped density (g/mL)
Casein	-	2.22±0.11d	0.319±0.01a	0.717±0.01a	0.868±0.02a
Pancreatin 120	MD	3.23±0.19c	0.264±0.01d	0.250±0.01c	0.329±0.02cd
	MD-GA	3.71±0.17b	0.289±0.01c	0.222±0.01d	0.299±0.01e
	GA	4.26±0.08a	0.307±0.01b	0.216±0.02d	0.268±0.01f
Alcalase 120	MD	3.19±0.21c	0.273±0.01d	0.273±0.01b	0.358±0.01b
	MD-GA	3.82±0.09b	0.291±0.01c	0.251±0.01c	0.333±0.01c
	GA	4.27±0.14a	0.305±0.01b	0.232±0.01cd	0.311±0.01de

Different letters in the same column indicate statistical significant differences ($P < 0.05$).

شده توسط نازل به‌درون محفظه خشک‌کن و در نهایت تشکیل ذرات درشت‌تر می‌شود. همچنین، قابلیت بالاتر صمغ عربی در تشکیل فیلم در اطراف ذرات و محبوس سازی حجم بیشتری هوا به درون ذرات یکی دیگر از عوامل موثر بر تغییر دانسیته است [۲۹].

به‌طورکلی، دانسیته توده به اندازه، شکل و توزیع اندازه ذرات، رطوبت، ترکیب شیمیایی، میزان هوای محبوس شده در داخل ذره بستگی دارد، که این عوامل به ویژگی‌های خوراک، میزان هوای ورودی، درجه حرارت و زمان خشک کردن، عملیات فرآوری و حمل و نقل بستگی دارد [۳۰]. علاوه بر نوع حامل موثر بر دانسیته توده ذرات، افزایش غلظت حامل نیز موجب کاهش دانسیته توده پودرهای کنسانتره آب پرتقال [۱۷] گردید که علت آن را کاهش تولید ذرات ترموپلاستیک و افزایش

۳-۲- دانسیته توده و دانسیته ضربه

دلایل اقتصادی و عملگرایی مانند شرایط بسته‌بندی، حمل و نقل، نگهداری، کاربرد در فرمولاسیون‌ها، موجب افزایش اهمیت دانسیته به‌عنوان یک ویژگی فیزیکی مهم می‌گردند [۱۶]. مقدار این دو شاخص در کلیه پودرهای هیدرولیزشده خشک شده به روش پاششی به‌ترتیب بین ۰/۲۷۳-۰/۲۱۶ g/mL و ۰/۳۵۸-۰/۲۶۸ g/mL بسته به نوع حامل مورد استفاده متغیر بود (جدول ۱). نتایج نشان دادند که پودرهای تولید شده با صمغ عربی از دانسیته کم‌تری نسبت به ذرات تولید شده با مالتودکسترین برخوردارند. علت این یافته‌ها را می‌توان به افزایش بیشتر ویسکوزیته خوراک در صورت استفاده از صمغ عربی نسبت به مالتودکسترین نسبت داد. افزایش ویسکوزیته منجر به تولید قطرات درشت‌تر پاشیده

۳-۴- جاذب الرطوبه بودن

یکی از اصلی ترین مشکلات هیدرولیز شده های پروتئینی، جاذب الرطوبه بودن بالای این ترکیبات است. در این تحقیق، مقدار جاذب الرطوبگی هیدرولیز شده های حاصل از فعالیت آنزیم آلکالاز و پانکراتین به ترتیب حدود ۳۴٪ و ۳۹٪ بود (جدول ۲). این اختلاف در مقدار این شاخص احتمالا می تواند به دلیل تفاوت در ساختار، ترکیب پپتیدها و آزادسازی بیشتر آمینواسیدهای هیدروفیل [۲۰] و هیدروفوب [۲۲] پس از هیدرولیز آنزیمی با پانکراتین و آلکالاز باشد. اما مقدار جاذب الرطوبه بودن هیدرولیز شده ها پس از ریزپوشانی به مقدار قابل توجهی کاهش یافت. در بین حامل های مختلف نیز، استفاده از صمغ عربی منجر به کاهش بیشتر مقدار این شاخص در پودر گردید ($P < 0.05$). علت را می توان به قابلیت تشکیل فیلم با جاذب الرطوبگی پائین از صمغ عربی در اطراف ذرات و همچنین دمای انتقال شیشه ای بالاتر صمغ نسبت به مالتودکسترین نسبت داد [۳۵].

جاذب الرطوبگی یکی از مهم ترین شاخص های تعیین کننده قابلیت حفظ، پایداری و زمان نگهداری پودرهای خشک شده به روش پاششی در شرایط نامطلوب بسته بندی و نگهداری است. رطوبت تأثیر بسیار منفی بر خواص فیزیکی شیمیایی، جریان پذیری و پایداری پودرهای غذایی دارد. به طور مثال، جذب آب در پودرهای حاوی روغن های فرار، اسانس ها و ترکیبات حساس کپسوله شده، موجب افزایش شدت و سرعت اکسیداسیون و در نتیجه کاهش عمر ماندگاری این ترکیبات را به همراه خواهد داشت [۱۵]. حامل های مختلف از طریق تغییر در ترکیب ذرات، تشکیل یک لایه فیلم یا پوسته با جاذب الرطوبه بودن پائین در اطراف ذرات و افزایش دمای انتقال شیشه ای موجب کاهش قابلیت جذب رطوبت و تغییرات ثانویه ناشی از آن می شوند [۱۶].

یانگ و همکاران [۷] اثر فرآیند ریزپوشانی پروتئین های هیدرولیز شده آب پنیر بر ویژگی های حسی و کاهش تلخی، همچنین پایداری و جاذب الرطوبگی پودرها را بررسی کردند. در آن تحقیق، مقدار جاذب الرطوبگی پودرهای آب پنیر هیدرولیز شده آزاد پس از ریزپوشانی با مالتودکسترین و ترکیب

هوای به دام افتاده درون ذرات در طول اتمیزاسیون تا فرآیند خشک شدن بیان کردند. همچنین، در تحقیق انجام شده توسط کوروزاوا و همکاران [۲۸]، ریزپوشانی هیدرولیز شده گوشت جوجه با ۳ غلظت مالتودکسترین و صمغ عربی انجام شد. آن ها گزارش کردند که دانسیته توده ذرات ریزپوشانی شده با نسبت ۳۰٪ مالتودکسترین و صمغ عربی از 0.38 g/mL (ذرات بدون حامل) به 0.25 g/mL کاهش یافت.

۳-۳- انحلال پذیری

در این تحقیق، اثر حامل های مختلف بر حلالیت پودرهای خشک شده به روش پاششی به عنوان یکی از اصلی ترین شاخص های عملکردی آن ها بررسی شد [۳۱]. مقدار این شاخص برای نمونه ها بین $97/28-90/52$ درصد متغیر بود (جدول ۲). نتایج نشان دادند که نوع هیدرولیز شده تأثیری بر حلالیت پودرها ندارد اما نوع حامل به کار رفته به طور قابل ملاحظه ای مقدار حلالیت را تحت تأثیر قرار می دهد. بدین شکل که در بین نمونه های تولید شده، تیمارهای حاصل از صمغ عربی کم ترین حلالیت را نسبت به مالتودکسترین از خود نشان دادند ($P < 0.05$). این یافته ها حاکی از اثر نوع حامل بر حلالیت محصول نهایی خشک شده است.

علاوه بر نوع حامل، عواملی نظیر اندازه، شکل، ترکیب، ویژگی های سطحی، ریزساختار ذره و حضور افزودنیها و ترکیبات نامحلول، نوع و ترکیب ماده اولیه، نوع خوراک (غلظت ماده جامد)، شرایط خشک کردن (دمای مورد استفاده، سرعت جریان هوای ورودی، فشار و دور اتمایزر)، می توانند در مقدار حلالیت پودرها بسیار موثر باشند [۳۲]. مشابه یافته های این تحقیق، حلالیت پودرهای عصاره آبی چای کوهی با مالتودکسترین بیشتر از نمونه های تولید شده با صمغ عربی گزارش شد [۳۳]. در تحقیق دیگری، وانگ و ژو [۳۴]، اثر سلولز، مالتودکسترین، نشاسته مومی و مخلوط آن ها را بر حلالیت پودرهای سس سویا خشک شده به روش پاششی بررسی کردند. نتایج حاکی از بیشترین میزان حلالیت (۹۷/۹ درصد) پودرهای تولید شده با مالتودکسترین بود که پس از افزودن نشاسته مومی و یا میکروکریستال های سلولز، حلالیت به حدود ۸۰٪ کاهش یافت.

مالتودکسترین و صمغ عربی به‌عنوان حامل در غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ گرم در ۱۰۰ گرم محلول خوراک استفاده شد. مقدار جاذب‌الرطوبتی پودرهای ریزپوشانی شده با مالتودکسترین و صمغ عربی به‌ترتیب از ۴۰/۹٪ به ۱۵/۹ و ۲۱/۲٪ کاهش یافت.

مالتودکسترین و بتاسیکلودکسترین به‌ترتیب از ۶۴/۳۱٪ به ۴۳/۰۹ و ۳۶/۹۲٪ کاهش یافت. نتایج مشابهی دیگری توسط کوروزاوا و همکاران [۲۸] پس از ارزیابی جاذب‌الرطوبتی پروتئین هیدرولیزشده گوشت جوجه پس از ریزپوشانی با خشک کردن پاششی گزارش شد. بدین شکل که از

Table 2 Effect of carrier type and combination on the solubility and hygroscopicity properties of spray-dried casein hydrolysates

Enzymatic hydrolyzed	Carrier type	Solubility (%)	Hygroscopicity (%)	
			Un-encapsulated	Spray-dried
Pancreatin 120	MD	97.28±1.07a		32.13±1.42a
	MD-GA	93.02±1.16bc	39.01±1.51a	27.09±1.24bc
	GA	89.86±1.54d		26.33±0.71c
Alcalase 120	MD	97.07±0.74a		29.45±1.79b
	MD-GA	93.73±0.41b	34.73±0.58b	26.37±0.88c
	GA	90.52±0.55cd		25.21±0.48c

Different lowercase in the same column indicate statistical significant differences ($P < 0.05$).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی هیدرولیزشده‌های کازئین در شرایط استفاده از مالتودکسترین حفظ شدند [۱۴]. نتایج حاصل از اثر فرآیند خشک کردن پاششی و نوع حامل‌های مورد استفاده بر فعالیت مهار رادیکال DPPH نیز حاکی از حفظ مقدار این شاخص در نمونه‌های ریزپوشانی‌شده با ترکیب مالتودکسترین و صمغ عربی بود (شکل ۱، b). در بین دو نوع هیدرولیزشده نیز، نمونه هیدرولیزشده با آلکالاز از فعالیت بالاتری نسبت به پانکراتین برخوردار بود ($P < 0.05$). علت را می‌توان به رهایش بیشتر پپتیدها و آمینواسیدهای هیدروفوب در اثر عمل آلکالاز نسبت به پانکراتین نسبت داد. از آنجائی‌که واکنش پپتیدها و آمینواسیدهای هیدروفوب با رادیکال لیپوفیل DPPH با سرعت بیشتری انجام می‌پذیرد، لذا این ترکیبات از قابلیت بالاتری در مهار این رادیکال در مقایسه با انواع هیدروفیل برخوردارند. با توجه به این‌که تفاوت کاملی از لحاظ نوع حلالیت بین رادیکال‌های DPPH (محلول در چربی) و ABTS (محلول در آب) وجود دارد؛ لذا نوع ترکیب اسیدآمینه‌ای بر مهار هر یک از این رادیکال‌ها موثر هستند. بنابراین علت این تغییرات را می‌توان به افزایش رهایش آمینواسیدهای هیدروفوب و کاهش دسترسی آنتی‌اکسیدان‌های هیدروفیل برای واکنش با رادیکال ABTS نسبت داد [۳۶].

۳-۵- مهار رادیکال آزاد ABTS و DPPH

فعالیت ضد‌اکسایشی و قابلیت مهار رادیکال کاتیونی و محلول در آب ABTS نیز مانند سایر شاخص‌ها به نوع آنزیم پروتئاز، درجه هیدرولیز و ترکیب اسیدآمینه‌ای پپتیدها وابسته است. شکل ۱ (a) اثر نوع و ترکیب حامل بر درصد مهار رادیکال آزاد ABTS در هیدرولیزشده‌های کازئینی حاصل از فعالیت آلکالاز و پانکراتین را نشان می‌دهد. پس از ریزپوشانی با مالتودکسترین، حدود ۸۵-۸۲٪ از فعالیت مهار رادیکال ABTS حفظ شد. اما استفاده ترکیبی از مالتودکسترین و صمغ عربی به‌عنوان حامل موجب حفظ ۹۴-۹۲٪ از این شاخص شد. درحالی‌که استفاده از صمغ عربی به تنهایی موجب کاهش این شاخص گردید. در بین هیدرولیزشده‌های کازئینی، نمونه‌های حاصل از هیدرولیز با پانکراتین از مهار رادیکال ABTS بالاتری نسبت به آلکالاز برخوردارند. علت این تفاوت نیز به اختلاف در مکانیسم عمل این دو آنزیم بر رهایش اسیدهای آمینه که در تحقیقات مختلفی گزارش شده، وابسته است. بدین شکل که هیدرولیز آنزیمی با پانکراتین نسبت به آلکالاز منجر به رهایش بیشتر اسیدهای آمینه هیدروفیل و واکنش بیشتر با رادیکال محلول در آب ABTS می‌گردد [۲۰]. در تحقیق مشابهی حدود ۹۱/۶۲-۷۷/۴۸٪

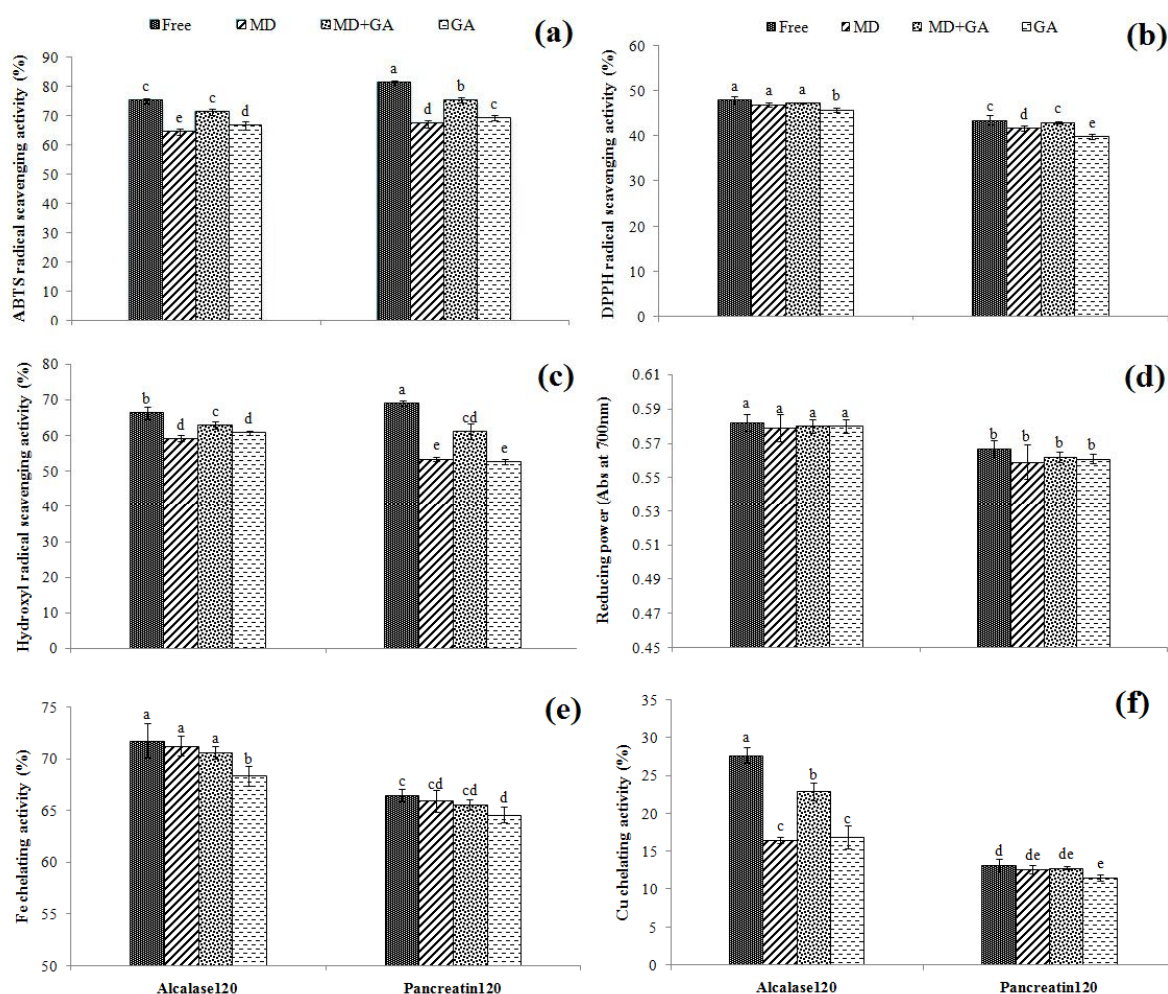


Fig 1 Effect of carrier type and combination on the (a) ABTS radical scavenging activity, (b) DPPH radical scavenging activity, (c) Hydroxyl radical scavenging activity, (d) Reducing power, (e) Fe⁺² chelating activity and (f) Cu⁺² chelating activity before and after the spray-drying process.

یافته را می‌توان به اثر صمغ عربی در ایجاد فیلم در اطراف ذرات و نقش مالتودکسترین در ایجاد ماتریس درونی ساختار ذرات نسبت داد که موجب بهبود عملکرد هر یک از این دو به تنهایی می‌شود. علت تفاوت فعالیت مهار رادیکال هیدروکسیل بین نمونه‌های حاصل از هیدرولیز با آلکالاز و پانکراتین را نیز می‌توان به تفاوت در توانایی پروتئین‌های هیدرولیز شده حاصل در جلوگیری از ایجاد تغییرات مخرب ناشی از اکسیداسیون لیپیدها بسته به ماهیت و ترکیب قسمت‌های مختلف پپتیدی، تحت تاثیر پروتئاز مورد استفاده نسبت داد [6].

از سوی دیگر، اثر فرآیند ریزپوشانی و حامل‌های مورد استفاده بر قدرت احیاءکنندگی هیدرولیز شده‌ها نیز مورد بررسی قرار گرفت. این شاخص یکی از مهمترین ویژگی‌های آنتی‌اکسیدان-

۳-۶- مهار رادیکال هیدروکسیل و قدرت

احیاءکنندگی

حذف رادیکال هیدروکسیل به دلیل قابلیت واکنش آن با مولکول‌های زیستی مانند آمینواسیدها، پروتئین‌ها و DNA موجب حفاظت بدن در برابر رادیکال هیدروکسیل می‌شود [37]. شکل ۱، نشان‌دهنده اثر فرآیند خشک کردن پاششی با حامل‌های مالتودکسترین، صمغ عربی و ترکیب این دو بر درصد فعالیت مهار رادیکال هیدروکسیل در هیدرولیز شده‌های کازئین با آلکالاز و پانکراتین است. در بین حامل‌های مختلف، استفاده ترکیبی از مالتودکسترین و صمغ عربی موجب بالاترین درصد حفظ این شاخص (۸۸-۹۵٪) در هیدرولیز شده‌های کازئینی پس از فرآیند ریزپوشانی شد ($P < 0.05$). علت این

به تنهایی (حدود ۶۰٪) در نمونه‌های هیدرولیزشده با آلکالاز بود. در بین نمونه‌های هیدرولیزشده مورد بررسی در این تحقیق، هیدرولیز شده‌های با آلکالاز (۲۷/۶۷٪) از شلاته‌کنندگی یون مس بسیار بالاتری نسبت به نمونه‌های حاصل از هیدرولیز پانکراتین (۱۳/۲۱) برخوردار بودند ($P < 0.05$). مکانیسم عمل هیدرولیزشده‌ها در رابطه با این شاخص را می‌توان به این شکل بیان کرد که پپتیدهای مشتق شده از کازئین شیر با دارا بودن بخش‌های قطبی فسفوریله شده می‌توانند یون‌های کلسیم، آهن و مس را شلاته کنند. همچنین، مکانیسم اثر پپتیدهای حاصل از هیدرولیز آنزیمی در شلاته‌کنندگی یون مس را می‌توان به افزایش گروه‌های آزاد کربوکسیل، آمینواسیدهای موثر مانند هیستیدین با دارا بودن حلقه ایمیدازول و واکنش‌های یونی نسبت داد [۴۱].

۳-۸- ریزساختار و میانگین اندازه ذرات

استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی یکی از راه‌های ارزیابی تغییرات ایجاد شده در ویژگی‌های ساختاری و سطحی ذرات قبل و پس از ریزپوشانی در شرایط و استفاده از حامل‌های مختلف است. شکل ۲ (a-c) اثر نوع و ترکیب حامل‌های مالتودکسترین و صمغ عربی بر ویژگی‌های ریزساختار و مورفولوژی سطحی ذرات حاوی هیدرولیز شده‌های کازئینی خشک شده به روش پاششی را نشان می‌دهند. تصاویر میکروسکوپ الکترونی نشان دهنده وجود ذراتی در اندازه‌های مختلف، سطوح صاف و چروکیده، کروی یا نامنظم در پودرهای ریزپوشانی شده بودند. تولید ذرات با سطوح چروکیده و نامنظم، یک پدیده معمول در خشک کردن پاششی محصولات مختلف است که عمدتاً به دلیل تشکیل سریع پوسته بر سطح قطرات در مراحل اولیه خشک کردن رخ می‌دهد [۴۲]. شکل ۲، d نیز مربوط به نمونه‌های اولیه از هیدرولیزشده‌های خالص خشک شده به روش انجمادی نیز ساختاری لایه‌ای یا ورقه‌ای و شکسته با منافذ سطحی زیاد داشتند که حاکی از اثر نوع فرآیند بر ساختار ذرات تولید شده است. همچنین میانگین اندازه ذرات پودرهای خشک شده به روش پاششی در محدوده ۶/۳۱-۵/۱۶ میکرون بسته به نوع و ترکیب حامل متغیر بود (شکل ۳). بدین شکل که ذرات تولید شده با صمغ عربی از میانگین اندازه ذرات درشت‌تری برخوردار بودند. علت این تفاوت را می‌توان به افزایش بیشتر ویسکوزیته در خوراک‌های تولید شده با صمغ عربی نسبت به

ها، احیاء کمپلکس فری‌سیانید (Fe^{3+}) به شکل فرس (Fe^{2+}) است [۳۸]. نتایج حاصل از این آزمون حاکی از این بودند که قدرت احیاء‌کنندگی هیدرولیزشده‌های کازئینی یکی از باثبات‌ترین شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی است [۱۴]. از این رو مقدار این شاخص تحت تاثیر فرآیند ریزپوشانی قرار نگرفت و همچنین تفاوتی هم بین حامل‌های مختلف مشاهده نشد (شکل ۱، d). علت اصلی قدرت احیاء‌کنندگی پروتئین‌های هیدرولیز شده را می‌توان به شکست زنجیره پپتیدی، افزایش رهایش آمینواسیدهای با فعالیت ضداکسایشی (مانند تریپتوفان، متیونین، لیزین، هیستیدین و تیروزین) و قابلیت مهاررادیکال‌های آزاد نسبت داد. علت تفاوت در قدرت احیاء‌کنندگی بین نمونه‌های حاصل از آلکالاز و پانکراتین نیز به تفاوت در ترکیب و محصولات حاصل از هیدرولیز وابسته است [۲۴].

۳-۷- شلاته‌کنندگی یون آهن و مس

آهن و دیگر فلزات به دلیل تسریع در روند شکست هیدروپروکسیدهای لیپیدی به رادیکال‌های آلکوکسیل بسیار واکنش‌پذیر به عنوان پروکسیدان در بسیاری از سیستم‌های غذایی عمل می‌کنند [۳۹]. شلاته‌کنندگی یون آهن نیز در این تحقیق تحت تاثیر فرآیند ریزپوشانی قرار نگرفت. تنها استفاده از حامل صمغ عربی موجب کاهش این قابلیت در نمونه‌های ریزپوشانی شده شد (شکل ۱، e). به‌عنوان یکی از دلایل و مکانیسم‌های عملکرد هیدرولیزشده‌ها در مهار و شلاته کردن یون‌های آهن می‌توان به نقش گروه‌های کربوکسیل و آمینو اشاره کرد که به ترتیب در آمینواسیدهای اسیدی و بازی می‌توانند در حذف یون‌های آهن از سیستم نقش ایفا کنند [۴۰]. همچنین، در بین تیمارهای هیدرولیز شده، نمونه‌های حاصل از هیدرولیز آنزیمی با آلکالاز از فعالیت و قابلیت شلاته‌کنندگی بیشتری برخوردار بودند ($P < 0.05$). نتایج حاصل از تفاوت فعالیت شلاته‌کنندگی هیدرولیزشده‌های حاصل از آلکالاز و پانکراتین حاکی از این می‌باشند که قابلیت پروتئین‌های هیدرولیز شده حاصل از منابع مختلف در شلاته‌کردن یون آهن به نوع آنزیم به‌کار رفته، ماهیت پروتئین اولیه و درجه هیدرولیز آن بستگی دارد [۶].

نتایج حاصل ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و شلاته‌کنندگی یون مس در هیدرولیزشده‌های کازئینی نیز نشان‌دهنده اثر مثبت ترکیب مالتودکسترین و صمغ عربی در حفظ حدود ۸۳٪ از این شاخص نسبت به استفاده از مالتودکسترین و صمغ عربی

مشابهی برخوردار بودند. همچنین، در تحقیق مشابه انجام گرفته توسط مولینا اورتیز و همکاران [۴۳] که ریزپوشانی کازئین هیدرولیزشده با استفاده از ایزوله پروتئین سویا به روش پاششی انجام دادند، میکروکپسول‌های با توزیع اندازه ذرات متفاوت، دیواره یکنواخت، وجود منافذ در جداره مشاهده شدند. همچنین میانگین اندازه ذرات در این کپسول‌ها بین ۹/۱۸ تا ۱۱/۳۲ میکرون متغیر بود.

مالتودکسترین و در نهایت تولید قطرات درشت‌تر و ذرات خشک شده بزرگ‌تر نسبت داد [۱۶].

در تحقیق انجام شده توسط یانگ و همکاران [۷] میانگین اندازه ذرات پودرهای آب پنیر ریزپوشانی شده و آزاد بین ۲/۴۷ تا ۳/۲۶ میکرون متغیر بود. از آنجائی‌که فرآیند تولید پودر از آب پنیر هیدرولیزشده بدون استفاده از حامل به روش پاششی انجام گرفته بود، لذا ذرات تولید شده از ساختار نسبتا

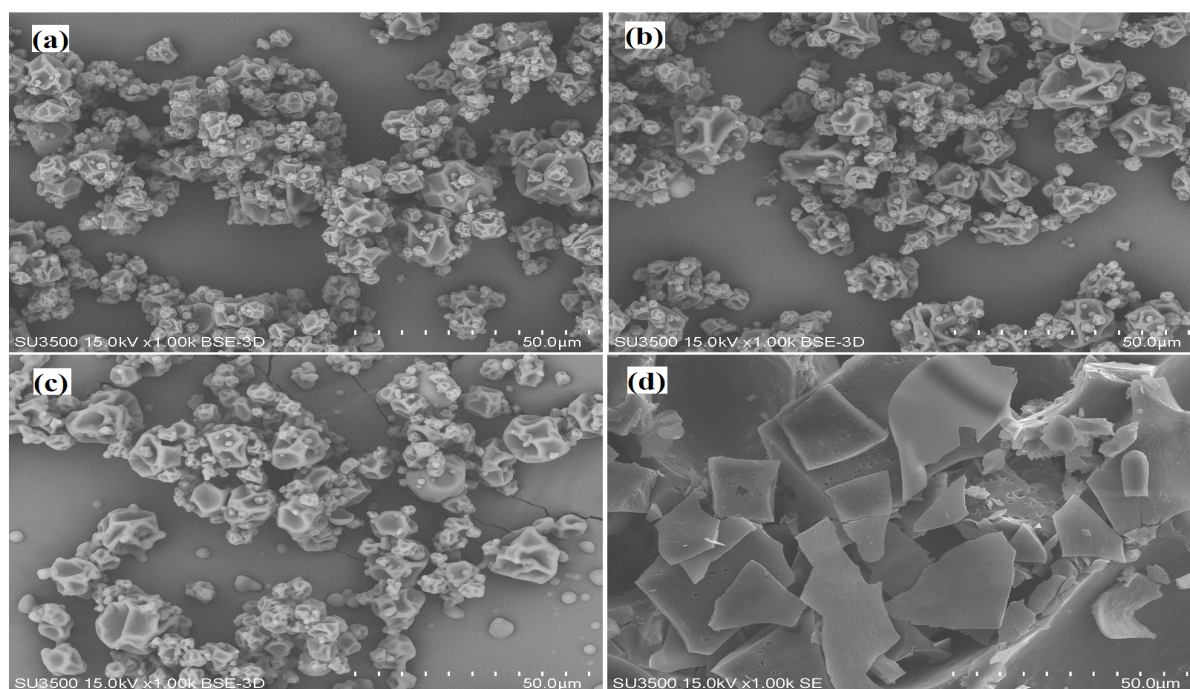


Fig 2 Effect of (a) Maltodextrin, (b) Maltodextrin +Gum Arabic, (c) Gum Arabic as carrier type, and (d) Freeze-drying process on the morphological properties of casein hydrolysates.

۴- نتیجه‌گیری کلی

با توجه به اهمیت و تاثیر ترکیبات دیواره و حامل‌های مورد استفاده بر ویژگی‌های اقتصادی مانند بازده تولید، شاخص‌های فیزیکی شیمیایی، عملکردی، ریزساختار و حفظ ویژگی‌های کیفی در انواع محصولات خشک شده به روش پاششی و ترکیبات زیست فعال ریزپوشانی شده، لذا در این مطالعه اثر مجزا و ترکیبی دو حامل پرکاربرد مالتودکسترین و صمغ عربی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از این پژوهش حاکی از اثربخشی هر یک از این حامل‌ها و همچنین استفاده ترکیبی از آنها بر ویژگی‌های فیزیکی به‌ویژه حلالیت و جذب-الطوبه بودن پودرهای حاوی هیدرولیزشده‌های کازئین بود. همچنین، اثر ترکیبی از این دو حامل تاثیر بهتری در حفظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی هیدرولیزشده در طول فرآیند خشک

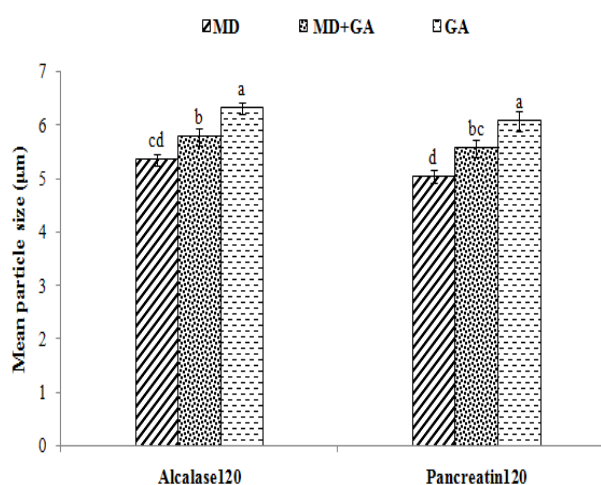


Fig 3 Effect of carrier type and combination on the mean particle size of the spray-dried casein hydrolysates.

- nanovesicles," *LWT-Food Sci. Technol.*, vol. 87, pp. 40–46, 2018.
- [9] S. M. Jafari, E. Assadpoor, Y. He, and B. Bhandari, "Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying," *Dry. Technol.*, vol. 26, no. 7, pp. 816–835, 2008.
- [10] J.-J. Ma, X.-Y. Mao, Q. Wang, S. Yang, D. Zhang, S.-W. Chen, and Y.-H. Li, "Effect of spray drying and freeze drying on the immunomodulatory activity, bitter taste and hygroscopicity of hydrolysate derived from whey protein concentrate," *LWT-Food Sci. Technol.*, vol. 56, no. 2, pp. 296–302, 2014.
- [11] C. S. Favaro-Trindade, A. S. Santana, E. S. Monterrey-Quintero, M. A. Trindade, and F. M. Netto, "The use of spray drying technology to reduce bitter taste of casein hydrolysate," *Food Hydrocoll.*, vol. 24, no. 4, pp. 336–340, 2010.
- [12] S. E. M. Ortiz, A. Mauri, E. S. Monterrey-Quintero, M. A. Trindade, A. S. Santana, and C. S. Favaro-Trindade, "Production and properties of casein hydrolysate microencapsulated by spray drying with soybean protein isolate," *LWT-Food Sci. Technol.*, vol. 42, no. 5, pp. 919–923, 2009.
- [13] L. E. Kurozawa, K. J. Park, and M. D. Hubinger, "Effect of maltodextrin and gum arabic on water sorption and glass transition temperature of spray dried chicken meat hydrolysate protein," *J. Food Eng.*, vol. 91, no. 2, pp. 287–296, 2009.
- [14] K. Sarabandi, A. Sadeghi Mahoonak, H. Hamishekar, M. Ghorbani, and M. Jafari, "Microencapsulation of casein hydrolysates: Physicochemical, antioxidant and microstructure properties," *J. Food Eng.*, vol. 237, pp. 86–95, 2018.
- [15] D. A. Botrel, R. V. de Barros Fernandes, S. V. Borges, and M. I. Yoshida, "Influence of wall matrix systems on the properties of spray-dried microparticles containing fish oil," *Food Res. Int.*, vol. 62, pp. 344–352, 2014.
- [16] K. Sarabandi, S. H. Peighambaroust, A. S. Mahoonak, and S. P. Samaei, "Effect of carrier types and compositions on the production yield, microstructure and physical characteristics of spray dried sour cherry juice concentrate," *J. Food Meas. Charact.*, pp. 1–11, 2017.
- [17] A. M. Goula and K. G. Adamopoulos, "A new technique for spray drying orange juice concentrate," *Innov. Food Sci. Emerg.*
- کردن پاششی نشان داد. ارزیابی تصاویر میکروسکوپ الکترونی نشان داد که ریزساختار و میانگین اندازه ذرات نمونه‌ها نیز تحت تاثیر نوع و ترکیب حامل‌های مورد استفاده قرار گرفتند. در نهایت با در نظر گرفتن نتایج این پژوهش می‌توان ریزپوشانی هیدرولیزشده‌های کازئین به روش خشک کردن پاششی با ترکیبی از مالتودکسترین و صمغ عربی را روشی مناسب و کارآمد در حفظ ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی، پایداری در طول نگهداری و فعالیت آنتی‌اکسیدانی دانست.

۵- منابع

- [1] E. A. M. Deckere and P. M. Verschuren, "Functional fats and spreads," *Funct. Foods. Concept to Prod. Ed. GR Gibson C. Williams (eds.). Woodhead Publ. Limited. Cambridge, Engl.*, pp. 233–251, 2000.
- [2] L. Chen, G. E. Remondetto, and M. Subirade, "Food protein-based materials as nutraceutical delivery systems," *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 17, no. 5, pp. 272–283, 2006.
- [3] B. H. Sarmadi and A. Ismail, "Antioxidative peptides from food proteins: a review," *Peptides*, vol. 31, no. 10, pp. 1949–1956, 2010.
- [4] Z. Xie, J. Huang, X. Xu, and Z. Jin, "Antioxidant activity of peptides isolated from alfalfa leaf protein hydrolysate," *Food Chem.*, vol. 111, no. 2, pp. 370–376, 2008.
- [5] R. López-Fandiño, J. Otte, and J. Van Camp, "Physiological, chemical and technological aspects of milk-protein-derived peptides with antihypertensive and ACE-inhibitory activity," *Int. Dairy J.*, vol. 16, no. 11, pp. 1277–1293, 2006.
- [6] A. Pihlanto, "Antioxidative peptides derived from milk proteins," *Int. Dairy J.*, vol. 16, no. 11, pp. 1306–1314, 2006.
- [7] S. Yang, X.-Y. Mao, F.-F. Li, D. Zhang, X.-J. Leng, F.-Z. Ren, and G.-X. Teng, "The improving effect of spray-drying encapsulation process on the bitter taste and stability of whey protein hydrolysate," *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 235, no. 1, pp. 91–97, 2012.
- [8] A. Mohan, S. R. C. K. Rajendran, J. Thibodeau, L. Bazinet, and C. C. Udenigwe, "Liposome encapsulation of anionic and cationic whey peptides: Influence of peptide net charge on properties of the

- Food Sci. Technol.*, vol. 52, no. 1, pp. 31–38, 2013.
- [28] L. E. Kurozawa, K. J. Park, and M. D. Hubinger, “Effect of carrier agents on the physicochemical properties of a spray dried chicken meat protein hydrolysate,” *J. Food Eng.*, vol. 94, no. 3–4, pp. 326–333, 2009.
- [29] B. Bazarria and P. Kumar, “Effect of whey protein concentrate as drying aid and drying parameters on physicochemical and functional properties of spray dried beetroot juice concentrate,” *Food Biosci.*, vol. 14, pp. 21–27, 2016.
- [30] V. Truong, B. R. Bhandari, and T. Howes, “Optimization of co-current spray drying process of sugar-rich foods. Part I—Moisture and glass transition temperature profile during drying,” *J. Food Eng.*, vol. 71, no. 1, pp. 55–65, 2005.
- [31] M. Jayasundera, B. Adhikari, T. Howes, and P. Aldred, “Surface protein coverage and its implications on spray-drying of model sugar-rich foods: solubility, powder production and characterisation,” *Food Chem.*, vol. 128, no. 4, pp. 1003–1016, 2011.
- [32] B. R. Bhandari, K. C. Patel, and X. D. Chen, “Spray drying of food materials—process and product characteristics,” *Dry. Technol. food Process.*, vol. 4, pp. 113–157, 2008.
- [33] H. Ş. Nadeem, M. Torun, and F. Özdemir, “Spray drying of the mountain tea (*Sideritis stricta*) water extract by using different hydrocolloid carriers,” *LWT-Food Sci. Technol.*, vol. 44, no. 7, pp. 1626–1635, 2011.
- [34] W. Wang and W. Zhou, “Characterisation of spray dried soy sauce powders made by adding crystalline carbohydrates to drying carrier,” *Food Chem.*, vol. 168, pp. 417–422, 2015.
- [35] K. Sarabandi, S. H. Peighambaridoust, A. R. Sadeghi Mahoonak, and S. P. Samaei, “Effect of different carriers on microstructure and physical characteristics of spray dried apple juice concentrate,” *J. Food Sci. Technol.*, 2018.
- [36] L. You, M. Zhao, C. Cui, H. Zhao, and B. Yang, “Effect of degree of hydrolysis on the antioxidant activity of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysates,” *Innov. food Sci. Emerg. Technol.*, vol. 10, no. 2, pp. 235–240, 2009.
- [37] F. Shahidi and Y. Zhong, “Measurement of antioxidant activity,” *J. Funct. Foods*, vol. *Technol.*, vol. 11, no. 2, pp. 342–351, 2010.
- [18] M. Cano-Chauca, P. C. Stringheta, A. M. Ramos, and J. Cal-Vidal, “Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization,” *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, vol. 6, no. 4, pp. 420–428, 2005.
- [19] Y. Z. Cai and H. Corke, “Production and Properties of Spray dried Amaranthus Betacyanin Pigments,” *J. Food Sci.*, vol. 65, no. 7, pp. 1248–1252, 2000.
- [20] L. You, M. Zhao, J. M. Regenstien, and J. Ren, “Changes in the antioxidant activity of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysates during a simulated gastrointestinal digestion,” *Food Chem.*, vol. 120, no. 3, pp. 810–816, 2010.
- [21] H.-C. Wu, H.-M. Chen, and C.-Y. Shiau, “Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*),” *Food Res. Int.*, vol. 36, no. 9, pp. 949–957, 2003.
- [22] J. W. Kim and T. Minamikawa, “Hydroxyl radical-scavenging effects of spices and scavengers from brown mustard (*Brassica nigra*),” *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, vol. 61, no. 1, pp. 118–123, 1997.
- [23] F. Ahmadi, M. Kadivar, and M. Shahedi, “Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaff. in model and food systems,” *Food Chem.*, vol. 105, no. 1, pp. 57–64, 2007.
- [24] S. N. Jamdar, V. Rajalakshmi, M. D. Pednekar, F. Juan, V. Yardi, and A. Sharma, “Influence of degree of hydrolysis on functional properties, antioxidant activity and ACE inhibitory activity of peanut protein hydrolysate,” *Food Chem.*, vol. 121, no. 1, pp. 178–184, 2010.
- [25] B. Kong and Y. L. Xiong, “Antioxidant activity of zein hydrolysates in a liposome system and the possible mode of action,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 54, no. 16, pp. 6059–6068, 2006.
- [26] S. Y. Quek, N. K. Chok, and P. Swedlund, “The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders,” *Chem. Eng. Process. Process Intensif.*, vol. 46, no. 5, pp. 386–392, 2007.
- [27] H. Şahin-Nadeem, C. Dinçer, M. Torun, A. Topuz, and F. Özdemir, “Influence of inlet air temperature and carrier material on the production of instant soluble sage (*Salvia fruticosa* Miller) by spray drying,” *LWT-*

- [41] L. Zhu, J. Chen, X. Tang, and Y. L. Xiong, "Reducing, radical scavenging, and chelation properties of in vitro digests of alcalase-treated zein hydrolysate," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 56, no. 8, pp. 2714–2721, 2008.
- [42] W. Wang, Y. Jiang, and W. Zhou, "Characteristics of soy sauce powders spray-dried using dairy whey proteins and maltodextrins as drying aids," *J. Food Eng.*, vol. 119, no. 4, pp. 724–730, 2013.
- [43] D. V. Mendanha, S. E. M. Ortiz, C. S. Favaro-Trindade, A. Mauri, E. S. Monterrey-Quintero, and M. Thomazini, "Microencapsulation of casein hydrolysate by complex coacervation with SPI/pectin," *Food Res. Int.*, vol. 42, no. 8, pp. 1099–1104, 2009.
- [38] H. J. D. Dorman, A. Peltoketo, R. Hiltunen, and M. J. Tikkanen, "Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs," *Food Chem.*, vol. 83, no. 2, pp. 255–262, 2003.
- [39] D. J. McClements and E. A. Decker, "Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems," *J. Food Sci.*, vol. 65, no. 8, pp. 1270–1282, 2000.
- [40] Q. Liu, B. Kong, Y. L. Xiong, and X. Xia, "Antioxidant activity and functional properties of porcine plasma protein hydrolysate as influenced by the degree of hydrolysis," *Food Chem.*, vol. 118, no. 2, pp. 403–410, 2010.

Effect of maltodextrin and gum Arabic carriers on the physicochemical properties and antioxidant activity of spray-dried casein hydrolysates

Akbarbaglu, Z. ^{1*}, Kamali Shojaei, A. ², Sarabandi, Kh. ³

1. M.Sc. Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
2. M.Sc. Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Afagh Higher Education Institute, Urmia, Iran .
3. Ph.D, Faculty of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

(Received: 2019/07/28 Accepted: 2020/08/01)

In this research, enzymatic hydrolysis of casein was performed using alcalase and pancreatin enzymes under optimal conditions. Then, the effect of type and combination of maltodextrin and gum Arabic carriers on physicochemical properties (moisture content, water activity, bulk density, tapped density, solubility, hygroscopicity), maintaining antioxidant activity (ABTS, DPPH and hydroxyl radical scavenging activities, reducing power, Fe²⁺ and Cu²⁺ chelating activity), morphology and mean particle size of spray-dried casein hydrolysates was evaluated. The results showed that moisture content, water activity, bulk density, tapped density and solubility as equally were affected by type and combination of carrier ($P < 0.05$). The hygroscopicity value of casein hydrolysates decreased significantly after the microencapsulation process. The antioxidant activity of the hydrolysates varies depending on type of enzyme. For example, ABTS and hydroxyl radical scavenging activities of pancreatin hydrolysates were higher than alcalase types ($P < 0.05$). The combination of maltodextrin and gum Arabic showed the best effect in maintaining of ABTS radical scavenging activity (92.72-94.93%), DPPH (98.47-98.94%), hydroxyl radical scavenging activity (88.59-94.95%), reducing power (98.94-99.65%), Fe²⁺ chelating activity (98.38-98.61%) and Cu²⁺ chelating activity (82.86-98.12%). The images of the electron microscope showed the presence of particles with different size distribution and wrinkles. In addition, the samples produced with gum Arabic had a larger particle size than maltodextrin. Finally, the results of this study showed the effectiveness of spray-drying process on the production of microencapsulated hydrolysates with desired physical, stability and antioxidant properties.

Keywords: Spray-drying, Microencapsulation, Casein hydrolysates, Antioxidant activity.

* Corresponding Author E-Mail Address: zahra.akbarbaglu@yahoo.com