



## مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: [www.fsct.modares.ac.ir](http://www.fsct.modares.ac.ir)

مقاله علمی-پژوهشی

تولید نوشیدنی عملگرا بر پایه ترکیبات زیست فعال چای سبز و قهوه سبز در هم تنیده در ساختار کیتوزوم

کریم مرادی کشک‌سرا<sup>۱</sup>، حمید توکلی‌پور<sup>۲\*</sup>، محسن مختاریان<sup>۳</sup>

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

۳- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران.

### چکیده

### اطلاعات مقاله

با هدف بهبود ارزش تغذیه‌ای (کاهش شکر)، پایداری ترکیبات زیست‌فعال، تولید فرآورده نوین و مبتنی بر دانش روز (بکارگیری فناوری ریزپوشانی) و کاهش ضایعات بالقوه بخش کشاورزی (نظیر چای سبز و قهوه سبز)، نوشیدنی عملگرا بر پایه شیرین‌کننده استویا با افزودن ۸۴ g/L ریزذرات کیتوزوم در هم تنیده شده با ترکیبات زیست‌فعال چای سبز و قهوه سبز، غنی‌سازی شد و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی (pH، اسیدیته، کدورت، ترکیبات فنولی کل و قدرت آنتی‌اکسیدانی) و حسی و چشایی (طعم‌ومزه، رنگ، رایحه، احساس دهانی و پذیرش کلی) فرآورده در طول دوره نگهداری (۱، ۹، ۱۸، ۲۷، ۳۶ و ۴۵ روز) و در ماه‌های (۵، ۲۵ و ۴۵°C) ارزیابی گردید. با وجود اینکه، پارامتر نرخ رهایش ترکیبات فنولی نوشیدنی در درجه حرارت ۴۵°C، بعد از ۲۷ روز نگهداری، به طور معنی‌دار ( $p < 0.05$ )، ۵۰٪ افزایش یافت، پارامتر یاد شده به ترتیب با نرخ‌های ۳۶٪ و ۴۶٪ در درجه حرارت‌های ۵ و ۲۵°C و در شرایط مشابه افزایش یافت. همچنین نتایج نشان داد که پارامتر نسبت بهره‌وری آنتی‌اکسیدان (TPC/EC<sub>50</sub>) نوشیدنی بعد از ۲۷ روز نگهداری (در درجه حرارت ۲۵°C)، در نمونه‌های کنترل و غنی شده با ریزذرات کیتوزوم به ترتیب ۰/۰۶ و ۵/۷۱ بود. به طور کلی، ساختار کیتوزومی به دلایل زیست‌تخریب‌پذیری، زیست‌سازگاری و عدم سمیت، به عنوان گزینه‌ای مناسب برای پایداری ترکیبات زیست‌فعال و طراحی سیستم‌های مؤثر تحویل دارو پیشنهاد می‌شود.

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۰۷

کلمات کلیدی:

نوشیدنی فراسودمند،

کیتوزوم،

رهایش ترکیبات زیست‌فعال،

ترکیبات فنولی،

خصوصیات فیزیکوشیمیایی و ارزیابی حسی.

DOI: 10.22034/FSCT.19.133.79

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.133.7.2

\* مسئول مکاتبات:

h.tavakolipour@gmail.com

## ۱- مقدمه

در سال‌های اخیر تغییرات چشمگیری در درک نقش غذا در بهبود کیفیت زندگی، افزایش طول عمر و پیشگیری از بیماری‌هایی همچون عفونت‌های گوارشی، تصلب شرایین، کلسترول، سرطان و التهاب مجرای گوارشی ایجاد شده است. در این راستا الگوی غذایی جوامع پیشرفته و در حال توسعه، به سمت تولید مواد غذایی فراسودمند (به‌ویژه نوشیدنی‌ها) گرایش داشته است. مواد غذایی فراسودمند افزون بر ارزش تغذیه‌ای، حداقل دارای یک ویژگی سلامتی‌بخش می‌باشند [۱]. این فرآورده‌ها به‌طور معمول با غنی‌سازی توسط ویتامین‌ها، مواد معدنی و آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از جمله پلی‌فنول‌ها تولید می‌شوند [۲].

امروزه جداسازی و کاربرد ترکیبات طبیعی از جمله داروهای گیاهی برای درمان و پیشگیری بیماری‌های متداول زمینه‌ساز تحقیقات گسترده‌ای شده است. خصوصیات برجسته زیست‌فراهمی<sup>۱</sup>، زیست‌تجربه‌پذیری، کاهش سمیت، سازگاری زیاد با محیط بدن موجودات زنده که در ترکیبات با منشاء گیاهی وجود دارند، نمونه‌هایی از دلایل بی‌شمار جهت‌گیری تحقیقات گسترده در این راستا می‌باشند. پلی‌فنول‌ها دسته‌ای از این ترکیبات طبیعی هستند که به‌وفور در میوه‌ها و ادویه‌ها وجود دارند [۳]. به‌عنوان مثال ضایعات حاصل از فرآوری برگ سبز چای و دانه قهوه سبز، که به عنوان مواد اولیه در تحقیق حاضر مورد استفاده قرار گرفته است، غنی از ترکیبات پلی‌فنولی می‌باشند.

چای از برگ‌های جوان گیاه کاملیا سیننسیس (*Camellia sinensis*) تهیه شده و در بخش‌های مختلف جهان به صورت‌های سبز، سیاه و اوولونگ<sup>۲</sup> مصرف می‌گردد. در میان انواع چای، بیشترین اثرات سلامتی‌بخش بر سلامت انسان در مورد مصرف چای سبز گزارش شده است. اثرات مهم سلامتی‌بخش (شامل کاهش احتمال ابتلا به سرطان و بیماری‌های قلبی-عروقی، ضدالتهاب، ضدورم مفاصل، ضدباکتری، ضداکسایش، ضدویروس، محافظت از سیستم عصبی و اثرات کاهنده کلسترول) چای سبز عمدتاً به میزان ترکیبات فنولی

موجود در آن بستگی دارد. به‌ویژه فلاونول و فلاونول که ۳۰٪ وزن برگ تازه خشک شده را تشکیل می‌دهد. کاتچین نیز از جمله ترکیبات پلی‌فنولی بوده که انواع مختلفی از آن در چای سبز شامل، (-) اپی‌کاتچین<sup>۳</sup> (EC)، (-) اپی‌کاتچین-۳-گالات<sup>۴</sup> (ECG)، (-) اپی‌گالوکاتچین<sup>۵</sup> (EGC)، (-) اپی‌گالوکاتچین-۳-گالات<sup>۶</sup> (EGCG)، (+) کاتچین<sup>۷</sup> و (+) گالوکاتچین<sup>۸</sup> (GC) شناسایی شده است. لازم به ذکر است که بیشترین اثرات سلامت‌بخش چای سبز مربوط به کاتچین‌های گروه «ای» به‌ویژه (-) اپی‌گالوکاتچین-۳-گالات (۶۵٪ کل محتوی کاتچین) وابسته است. به‌علاوه، کاتچین‌های موجود در چای سبز دارای ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به ویتامین C و E بوده و قدرت گیرندگی رادیکال آزاد آن‌ها به ترتیب ECG < EGCG < EGC < EC کاتچین می‌باشد [۴].

دانه قهوه، دانه‌های برشته‌نشده بوده که از بوته‌های همیشه‌سبز *Rubiaceae* بدست می‌آید [۵]. قهوه به‌دلیل محتوی بالای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ویژگی‌های زیست‌فعال سلامتی‌بخش، غنی بودن از آنتی‌اکسیدان‌ها (به‌ویژه ترکیبات فنولی و کافئین) و فعال‌های روبش رادیکال آزاد به‌عنوان یک ماده غذایی فراسودمند شناخته می‌شود. چهار ترکیب زیست‌فعال مهم موجود در قهوه شامل کافئین، اسید کلروژنیک (CGA)، دی‌ترپن و تری‌گونلین هستند. ترکیب اصلی یافت شده در دانه قهوه اسید کلروژنیک است. اثرات سلامتی‌بخش اسید کلروژنیک برای انسان شامل فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدویروس، محافظت از کبد<sup>۹</sup> و کمک به فعالیت‌های ضداسپاسم است. به‌علاوه، اسید کلروژنیک یک ترکیب مهم بوده که در تولید مزه و طعم، طی برشته کردن قهوه نقش داشته و بر کیفیت آن نیز اثرگذار دارد [۶].

پلی‌فنول‌ها دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده و علاوه بر این که ضدبیماری‌هایی مانند سرطان، آبله، دیابت، رماتیسم، بیماری‌های ویروسی، قلبی و ریوی هستند، باعث افزایش پایداری و ماندگاری مواد غذایی نیز می‌شوند [۳]. به‌علاوه، پلی‌فنول‌ها طعم

3. (-) Epicatechin (EC)
4. (-) Epicatechin-3-gallate (ECG)
5. (-) Epigallocatechin (EGC)
6. (-) Epigallocatechin-3-gallate (EGCG)
7. (+) Catechin
8. (+) Gallocatechin (GC)
9. Hepatoprotective

1. Bioavailability
2. Oolong tea

پلی‌مری، با افزایش برهم‌کنش‌ها با محیط‌های زیستی در مقیاس مولکولی، ضمن پایداری مواد مؤثره بارگیری شده، به دلیل چسبیدن راحت به سطح روده، با رهایش هدفمند و کنترل‌شده ترکیبات زیست‌فعال همراه خواهند بود [۱۳]. از طرف دیگر، بسته به نوع پوسته و یا لایه فعال سطحی (سورفاکتانت) احاطه‌کننده پوسته نهایی، به دلیل افزایش سطح به حجم و افزایش برهم‌کنش‌های بین مولکولی، حلالیت در محیط‌های مختلف (آب‌گریز و یا آب‌دوست) افزایش می‌یابد [۱۴].

تاکنون پژوهش‌های مختلفی درخصوص بکارگیری ترکیبات زیست‌فعال در پوشش‌های پلی‌مری، صورت گرفته است. سیدآبادی و همکاران (۲۰۲۱) فرآیند تولید و ویژگی‌های نانولیپوزوم درهم‌تنیده شده با کیتوزان برای ریزپوشانی کافئین را بررسی نمودند. نتایج نشان داد که راندمان ریزپوشانی نانولیپوزوم‌های حاوی کافئین در محدوده ۹۵-۷۲٪ قرار داشت. نتایج دستگاهی نشان داد که تقریباً ۵۰٪ قطر ذرات کیتوزوم تهیه‌شده کمتر از ۹۰ nm بوده است ( $PD < 90$  nm). تصاویر به‌دست آمده از آزمون SEM، TEM و AFM به‌خوبی شکل ظاهری و مورفولوژی کروی لیپوزوم و کیتوزوم را تأیید نمود. به‌طورکلی، پوشش‌دهی کافئین در ساختار کیتوزوم سبب کاهش نرخ رهایش شد. نانو ساختار کیتوزوم در شرایط سامانه شبیه‌سازی شده دستگاه گوارشی و مدل‌های غذایی (سامانه‌های شبیه‌ساز شیر و آبمیوه) رهایش کنترل شده‌ای را از خود نشان داد [۱۵]. به‌علاوه، گزارش‌های متعددی در زمینه ریز(نانو)پوشینه‌کردن اسانس زنجبیل [۱۶]، پلی‌فنول‌های انگور [۱۷]، کورکومین [۱۸] و کوئرستین [۱۹] برای بکارگیری در کاربردهای خاص ارائه شده‌اند که از آوردن جزئیات آنها به دلیل طولانی شدن مقدمه جلوگیری می‌شود.

با توجه به مطالعات انجام شده، این پژوهش به توسعه یک فرمولاسیون مناسب برای تولید نوشیدنی عملگر برپایه ساختار کیتوزوم به‌منظور ریزپوشینه کردن ترکیبات زیست‌فعال چای سبز و قهوه سبز خواهد پرداخت. سپس، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نوشیدنی تولید شده طی دوره نگهداری مورد پایش و ارزیابی قرار خواهد گرفت.

تلخی دارند و در مقابل عوامل محیطی مانند نور، رطوبت و اکسیژن به شدت حساس هستند. این ترکیبات علی‌رغم دارا بودن ویژگی آب‌دوستی به دلیل حضور گروه‌های هیدروکسیل (OH-)، حلالیت اندکی در حلال‌های قطبی از جمله آب (به دلیل حضور گروه‌های آروماتیک و حلقه‌های گلیکوزیدی) دارند. مجموعه این عوامل، بکارگیری این ترکیبات را در صنایع غذایی به‌عنوان ترکیبات زیست‌فعال در غنی‌سازی مواد غذایی و تولید فرآورده‌های فراسودمند، محدود می‌نماید. یکی از روش‌های غلبه بر این مشکلات، فرارگیری در یک پوشش پلی‌مری (نظیر سیستم هیبریدی لیپوزوم-کیتوزان یا کیتوزوم) است.

لیپوزوم‌ها ذرات (وزیکول‌های) کروی با یک یا چند غشای دولایه، دارای ویژگی‌های آمفی‌پاتیک (دوگانه‌دوست) بوده که از تجمع مولکول‌های چربی یا فسفولیپید (به‌ویژه فسفاتیدیل کولین) در محیط آبی تشکیل می‌شوند. لیپوزوم‌ها می‌توانند به اشکال سوسپانسیون، نیمه جامد و پودر درآیند. با وجود مزایای فراوان لیپوزوم‌ها (به‌ویژه امکان تولید از ترکیبات سالم و بی‌ضرر برای سلامت انسان)، تنها تعداد کمی از لیپوزوم‌های اصلاح نشده، پایدار هستند و اکثر آنها حساس به تنش بوده و تمایل زیادی برای توده‌ای شدن و امتزاج دارند، که با گذشت زمان نیز ممکن است منجر به نشست محتوای به دام افتاده گردد [۷]. برای غلبه بر این نقص‌ها و پایداری بیشتر، اصلاح سطح حامل‌های لیپوزومی با استفاده از بیوپلی‌مرها (مانند پکتین و یا کیتوزان) برای طراحی سیستم‌های مؤثرتر تحویل دارو انجام شده است. بیوپلی‌مرها به دلیل خاصیت زیست‌سازگاری و زیست‌تخریب‌پذیری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند [۸-۱۰] و در این میان، کیتوزان به دلیل ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی (حضور گروه‌های هیدروکسیل و آمین نوع اول) و بیولوژیکی بی‌نظیر، انگیزه‌های بسیاری را برای توسعه سالم و مؤثر سیستم دارورسانی برانگیخته است.

درون‌پوشانی (کپسوله کردن)، پلی‌فنول‌ها را از تخریب، اثرات نامطلوب نور، رطوبت و اکسیژن از طریق کاهش واکنش با محیط خارج، محافظت و در نتیجه به افزایش عمر مفید آنها کمک می‌کند [۱۱]. به‌علاوه، درون‌پوشانی به کاهش بخار شدن هسته، رهایش کنترل شده هسته، رقیق کردن هسته (در مواردی که فقط به مقدار کمی از ترکیبات فنولی نیاز باشد) و نیز افزایش نیمه عمر، منجر خواهد شد [۱۲]. فرآیند درون‌پوشانی پلی‌فنول‌ها در ساختارهای

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- آماده‌سازی مواد اولیه

مقادیر مورد نیاز برگ‌چای سبز و دانه قهوه سبز از بازار محلی (استان تهران) خریداری شد. طبق روش متداول AOAC به شماره ۹۳۱/۰۴، میزان رطوبت هر نمونه در دمای  $105^{\circ}\text{C}$  برای مدت ۲۴ h اندازه‌گیری شد [۲۰]. میزان رطوبت برگ‌چای سبز و دانه قهوه سبز به ترتیب ۹/۵ و ۱۱/۵٪ (مبنای مرطوب) بود. همچنین، ترکیبات شیمیایی مورد استفاده در اجرای این پژوهش از شرکت‌های سیگما آلد ریچ (آمریکا) و مرک (آلمان) خریداری شد.

### ۲-۲- استخراج ترکیبات زیست‌فعال چای سبز و دانه قهوه سبز

استخراج ترکیبات زیست‌فعال چای سبز و دانه قهوه سبز با استفاده از سیستم پراب اولتراسوند ( Sonopuls ultrasonic homogenizer, HD۳۲۰۰, ۱۵۰W, ۲۰ kHz, آلمان) صورت گرفت [۲۱-۲۲]. بدین منظور، ابتدا استخراج ترکیبات زیست‌فعال چای سبز و قهوه سبز به ترتیب تحت شرایط عملیاتی ( $53^{\circ}\text{C}$  و ۲۶ min) و ( $50^{\circ}\text{C}$  و ۳۵ min) صورت گرفت (دامنه امواج فراصوت در هر دو حالت ثابت و معادل ۱۰۰٪ در نظر گرفته شد). از نسبت ۱ به ۳۰ ماده خشک به حلال (آب مقطر) برای فرآیند استخراج استفاده شد [۲۲، ۲۳]. عصاره استخراج شده در دما و فشار (به ترتیب  $40^{\circ}\text{C}$  و ۰/۱ MPa) توسط دستگاه تبخیرکننده چرخان (JK، آلمان) تا رسیدن به وزن ثابت، حلال‌زدایی گردید. سپس عصاره تغلیظ شده توسط خشک‌کن انجمادی (Dena-Sanat، تهران، ایران) در دما و فشار به ترتیب  $40^{\circ}\text{C}$  و ۰/۰۰۱ mbar خشک گردید [۲۳].

### ۲-۳- ریزپوشینه‌سازی ترکیبات زیست‌فعال در ساختار کیتوزوم

ریزپوشینه‌سازی ترکیبات زیست‌فعال بدست آمده از عصاره‌های چای سبز و قهوه سبز، توسط روش تان و همکاران (۲۰۱۶) صورت گرفت [۲۴]. بدین منظور، ابتدا لسیتین سویای پودر شده در حلال اتانول (۱٪ وزنی/حجمی) حل شد. در مرحله بعد توسط

تبخیرکننده چرخان تحت خلاء (در دما و فشار به ترتیب  $40^{\circ}\text{C}$  و ۰/۱ MPa)، حلال حذف گردید تا یک لایه نازک (تشکیل و ریزیکول چند لایه لیپیدی لیپوزوم) در کف بالن ایجاد شود. سپس بالن در دسیکاتور قرار داده شد تا باقیمانده حلال نیز خارج شود. در ادامه با استفاده از هیتر مغناطیسی، لایه لیپیدی تشکیل شده، در بافر فسفات حاوی ۱۵۲ ppm از ترکیبات زیست‌فعال حل شد (غلظت یاد شده بعد از اختلاط دو ترکیب زیست‌فعال چای سبز و قهوه سبز به نسبت ۳۰ به ۷۰ بدست آمد، که این نسبت نیز به دلیل بالاتر بودن ترکیبات زیست‌فعال قهوه‌سبز انتخاب شد). تیمار فراصوت در دامنه ۷۵٪ به مدت ۱۰ min اعمال شد تا فرآیند ریزپوشینه‌سازی بهبود یابد. در مرحله بعد محلول کیتوزان با غلظت ۰/۳٪ w/v، به محلول قبلی به صورت قطره قطره (تزریق با استفاده از سرنگ و با سرعت بسیار کم صورت گرفت) اضافه شد.

### ۲-۴- آماده‌سازی فرمولاسیون پایه نوشیدنی و تولید نوشیدنی عملگرا حاوی ریزکپسول کیتوزوم

جهت تولید نوشیدنی رژیمی فراسودمند برپایه استویا، ابتدا اجزاء فرمولاسیون پایه تهیه شد. اجزاء مورد استفاده در تولید نوشیدنی شامل: پودر گلیکوزیدی استویا (*Stevia rebaudiana*) گونه ربادیوزید A (برگ استویا شامل ۹/۱٪ استویوزید و ۳/۸٪ ربادیوزید A است) (۰/۱۵ g/L)، اسید سیتریک (۰/۱۰ g/L)، بنزوات سدیم (۰/۰۳ g/L)، اسید آسکوربیک (۰/۰۸ g/L)، سترات سدیم (۰/۰۳ g/L)، صمغ عربی (۰/۲۵ g/L) و آب می‌باشد. به‌منظور تولید نوشیدنی حاوی ریزکپسول کیتوزوم، ابتدا مقدار مطلوب ریزکپسول کیتوزوم مشخص شد (میزان افزودن ریزکپسول کیتوزوم، براساس آزمون‌های حسی و چشایی مقدماتی تعیین شد و مقدار مطلوب آن ۸۴ g/L گزارش شد) و به فرمولاسیون پایه نوشیدنی فراسودمند اضافه گردید [۲۵-۲۷].

### ۲-۵- آزمون رهائش ترکیبات زیست‌فعال و شرایط نگهداری

جهت بررسی نرخ رهائش ترکیبات زیست‌فعال طی دوره نگهداری (به مدت حداکثر ۴۵ روز)، نوشیدنی‌های تولید شده در

نسخه ۹/۱/۳ (۲۰۰۳) مؤسسه SAS آمریکا استفاده گردید. کلیه آزمون‌های کیفی در ۳ تکرار صورت گرفت و نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار) گزارش شد.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- اسیدیته و pH

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تأثیر متقابل دمای نگهداری (۵، ۲۵ و ۴۵°C) و زمان نگهداری (صفر، ۹، ۱۸، ۲۷، ۳۶ و ۴۵ روز) روی عدد pH (اسیدیته) نوشیدنی عملگرا حاوی ترکیبات زیست‌فعال (عصاره‌های چای سبز و قهوه سبز) ریزپوشینه شده در ساختار کیتوزوم معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) است. همانطور که در جدول (۱) مشاهده می‌شود، بیشترین میزان عدد pH (متناظر با کمترین میزان اسیدیته) مربوط به نمونه‌های نگهداری شده در درجه حرارت ۴۵°C و در روز ۴۵ام نگهداری است (۰/۷)~ افزایش pH و ۰/۵۳~ کاهش اسیدیته نسبت به روز اول نگهداری). نتایج مدل خطی همبستگی پیرسون بین عدد pH و اسیدیته نوشیدنی عملگرا یافته‌های بدست آمده را تأیید می‌نماید ( $R^2 = 0.9621$  و  $r = -0.9809$ ). به علاوه، نتایج نشان داد که، نگهداری نمونه‌ها در دماهای ۵ و ۲۵°C (در یک زمان نگهداری مشابه)، به ترتیب سبب تغییر عدد pH (اسیدیته) به میزان ۰/۲۹~ افزایش (۰/۲۶~ کاهش) و ۰/۴۸~ افزایش (۰/۴۲~ کاهش) نسبت به روز اول شد. احتمالاً این حالت به دلیل شکسته شدن دیواره کیتوزوم و آزاد شدن ترکیبات آمین‌دار موجود در پلی‌مر زیستی کیتوزان است که با خنثی کردن اسید موجود در محیط نوشیدنی، سبب افزایش جزئی pH شده است [۳۲]. در پژوهشی، سیدآبادی و همکاران (۲۰۲۱) نرخ رهائش ترکیبات زیست‌فعال (کافئین) درهم‌تنیده شده در ساختار کیتوزوم را در شرایط مختلف (سامانه شبیه‌سازی شده دستگاه گوارشی و آبمیوه) مورد بررسی قرار دادند. با این حال، در پژوهش صورت گرفته خصوصیات کیفی آبمیوه مورد بررسی قرار نگرفته است [۱۵]. همچنین، بررسی منابع پیشین نشان داد که تاکنون پژوهشی درخصوص پایش تغییرات عدد pH (اسیدیته) طی دوره نگهداری در مدل غذایی، در اثر تخریب ساختار کیتوزومی صورت نگرفته است. با این حال، پلویا و همکاران (۲۰۱۵) گزارش نمودند که، ارتعاشات کششی

شرایط دمایی مختلف (۲۵، ۵ و ۴۵°C) به صورت استاتیک (ساکن) نگهداری شدند. سپس میزان نرخ رهائش ترکیبات زیست‌فعال، طی دوره نگهداری در فواصل زمانی ۵ روز، از طریق سنجش ترکیبات فنولی کل (TPC) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (EC<sub>50</sub>) پایش گردید. لازم به ذکر است که، آزمون‌های یاد شده به ترتیب طبق روش‌های فولین سیوکالتیو<sup>۱۱</sup> و روبش رادیکال آزاد (DPPH<sup>0</sup>) مورد ارزیابی قرار گرفت [۲۹-۲۸].

#### ۲-۶- آزمون‌های کنترل کیفی نوشیدنی

به منظور بررسی ویژگی‌های کیفی نوشیدنی طی دوره نگهداری از آزمون‌های کنترل کیفی pH (اسیدیته) و کدورت استفاده شد. این آزمون‌ها به ترتیب طبق روش‌های استاندارد ملی ایران به شماره ۲۶۸۵ (۱۳۸۶) و مختاریان و همکاران (۱۳۹۳) مورد سنجش قرار گرفت [۴، ۳۰].

#### ۲-۷- ارزیابی حسی و چشایی

ارزیابی حسی-چشایی نوشیدنی تولید شده به وسیله یک گروه ارزیاب حسی نیمه آموزش دیده، متشکل از ۱۰ نفر در محدوده سنی ۲۰ تا ۵۰ سال (مرد و زن) صورت گرفت. کلیه ارزیابی‌ها به روش امتیازبندی هدونیک پنج نقطه‌ای صورت گرفت. بدین ترتیب که پرسشنامه‌هایی تهیه و بین تیم ارزیاب (پانلیست‌ها) توزیع گردید. برای هر سؤال ۵ گزینه به عنوان پاسخ در نظر گرفته شد. جهت ارزیابی خصوصیات حسی-چشایی نوشیدنی تولید شده (در روز اول تولید)، حدود ۱۰۰ ml از نمونه‌های آزمایشی (نمونه تازه فاقد ریزکپسول کیتوزوم و نمونه تازه حاوی ۸۴ g/L ریزکپسول کیتوزوم) در ظروف جداگانه در اختیار ارزیاب‌ها قرار داده شد و سپس خصوصیات حسی-چشایی ارزیابی شده (طعم و مزه، رایحه، رنگ، احساس دهانی و پذیرش کلی) در پرسشنامه مربوطه ثبت گردید [۳۱].

#### ۲-۸- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال خطای ۹۵٪ انجام شد. جهت تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار SAS

(متوسط-قوی) مشاهده شده در فرکانس  $1087 \text{ cm}^{-1}$ ، حضور گروه عاملی C-N را که مربوط به آمین‌های (به‌ویژه آمین‌های نوع اول و دوم) موجود در گروه‌های استامید ( $-\text{NHCOCH}_3$ ) و آمین ( $-\text{NH}_2$ )، در ساختار کیتوزان است، را تأیید می‌کند؛ که احتمالاً علت افزایش pH طی دوره نگهداری، تخریب ساختار پلی‌مری بوده که با آزاد شدن آمین‌ها همراه است [۳۳].

### ۳-۲- کدورت

یکی از پارامترهای مهم در تولید نوشیدنی‌ها، کدورت است. نتایج تجزیه واریانس تغییرات شاخص کدورت نوشیدنی عملگرا حاوی ترکیبات زیست‌فعال (عصاره‌های چای سبز و قهوه سبز) ریزپوشینه شده در ساختار کیتوزوم طی حدوداً ۷ هفته نگهداری در دماهای مورد بررسی (۵، ۲۵ و  $45^\circ\text{C}$ ) در جدول (۱) آمده است. با توجه به نتایج به‌دست آمده مشاهده شد که، درجه حرارت نگهداری و زمان نگهداری تأثیر قابل ملاحظه و چشمگیری ( $p < 0.05$ ) روی شاخص یاد شده داشت. بالاترین میزان شاخص کدورت در تمام مدت نگهداری در ارتباط با نوشیدنی نگهداری شده در درجه حرارت  $25^\circ\text{C}$  مشاهده شد ( $22\%$  افزایش نسبت به روز اول نگهداری). در پاسخ به علت این پدیده، می‌بایست تغییرات پایش شده کدورت را طی دوره نگهداری با جزئیات بیشتری بررسی نمود (به جدول ۱ مراجعه شود). با توجه به یافته‌های ارائه شده مشاهده شد که در روز نهم نگهداری (تقریباً یک هفته بعد از تولید نوشیدنی)، بیشترین میزان کدورت (یک تغییر چشمگیر) در دمای  $45^\circ\text{C}$  گزارش گردید و با افزایش زمان نگهداری (تا روز ۴۵) از شدت آن کاسته شد. احتمالاً این حالت به دلیل رهایش سریع ترکیبات فنولی در دماهای بالاتر است. مختاریان و همکاران (۱۳۹۳) گزارش نمودند که ترکیبات اصلی در تشکیل کرم چای سبز (به‌عنوان معیاری از کدورت)، ترکیبات فنولی (به‌ویژه کاتچین‌ها) و کافئین است. همچنین آنها بیان نمودند که برهمکنش کافئین-پلی‌فنول یک عامل اصلی در تشکیل کرم چای سبز بوده که با افزایش ظاهر آبری در عصاره همراه است [۴]. با توجه به اینکه نرخ رهایش ترکیبات فنولی از ساختار کیتوزومی به محیط نوشیدنی در دمای  $45^\circ\text{C}$  نسبت به دمای  $25^\circ\text{C}$  سریع‌تر است، لذا با تخریب سریع‌تر ترکیبات فنولی نیز طی دوره نگهداری همراه خواهد بود

(متناظر با کاهش کدورت نوشیدنی). در حالی‌که، در دمای  $25^\circ\text{C}$ ، به دلیل رهایش آهسته‌تر ترکیبات فنولی، میزان کدورت به تدریج افزایش یافت. همبستگی (مثبت و قوی) بین نرخ رهایش ترکیبات فنولی و کدورت نوشیدنی عملگرا (در دمای  $25^\circ\text{C}$ )، دلایل مورد ادعا را تأیید می‌نماید ( $r = +0.9199$  و  $R^2 = 0.846$ ).

### ۳-۳- ترکیبات فنولی کل (TPC)، قدرت

#### آنتی‌اکسیدانی ( $\text{EC}_{50}$ ) و نرخ رهایش ترکیبات فنولی

ترکیبات زیست‌فعال (شامل کاروتنوئیدها، روغن‌های ضروری، آنتی‌اکسیدان‌ها یا طعم‌دهنده‌ها) گروهی از مواد شیمیایی با ویژگی‌های سلامتی‌بخش، دارویی و تغذیه‌ای بوده که به‌طور گسترده‌ای در فرآورده‌های غذایی به‌منظور ارتقاء ویژگی‌های حسی یا توسعه خصوصیات غذا دارویی<sup>۱۲</sup> آنها به‌کار می‌رود [۲۳]. نتایج تجزیه واریانس تغییرات شاخص ترکیبات فنولی کل (قدرت آنتی‌اکسیدانی یا  $\text{EC}_{50}$ ) نوشیدنی عملگرا حاوی ترکیبات زیست‌فعال (عصاره‌های چای سبز و قهوه سبز) ریزپوشینه شده در ساختار کیتوزوم طی حدوداً ۷ هفته نگهداری در درجه حرارت‌های گوناگون (۵، ۲۵ و  $45^\circ\text{C}$ ) در جدول (۱) ارائه شده است. با توجه به نتایج گزارش شده مشاهده شد که، درجه حرارت نگهداری و زمان نگهداری (صفر، ۹، ۱۸، ۲۷، ۳۶ و ۴۵ روز) تأثیر قابل ملاحظه و چشمگیری ( $p < 0.05$ ) روی این شاخص‌های تغذیه‌ای داشتند. بالاترین میزان ترکیبات فنولی کل (متناظر با بیشترین نرخ رهایش ترکیبات فنولی و کمترین مقدار  $\text{EC}_{50}$ ) موجود در محیط نوشیدنی، در ارتباط با نوشیدنی نگهداری شده در دمای  $45^\circ\text{C}$  مشاهده شد، که با افزایش  $54\%$  (متناظر با کاهش  $17\%$  قدرت آنتی‌اکسیدانی) بعد از ۲۷ روز نگهداری، همراه بود. احتمالاً این حالت به دلیل کاهش مقاومت دیواره کیتوزوم (متناظر با کاهش سیالیت غشاء) و در نتیجه رهایش ترکیبات فنولی می‌باشد [۳۴]. به‌منظور مطالعه این تغییرات با جزئیات بیشتر، همبستگی پیرسون بین دو پارامتر یاد شده به روش آمار توصیفی مورد آزمون قرار گرفت (در نمونه

نوشیدنی و اثرات تخریبی شرایط نگهداری محیطی می‌باشد. سیدآبادی و همکاران (۲۰۲۱) در پژوهشی، میزان رهایش کافئین از کیتوزوم در محیط شبیه‌سازی شده آبمیوه را در دمای ۳۷°C بررسی نمودند. نتایج آنها نشان داد که رهایش ناگهانی کافئین از ساختار کیتوزوم در محیط شبیه‌سازی شده آبمیوه، به دلیل متورم شدن ساختار ناشی از نفوذ محیط شبیه‌ساز و متعاقباً رهایش کافئین سطح نانوذرات است [۱۵]. در مطالعه انجام شده توسط لیو و همکاران (۲۰۱۷) نتایج رهایش نانوذرات کیتوزان حاوی پلی‌فنول‌های چای مخلوط شده با فیلم ژلاتین در محیط‌های شبیه‌ساز چربی ۵۰ و ۹۵٪ اتانول نشان داد که رهایش ترکیبات پلی‌فنولی در محیط ۵۰٪ نسبت به محیط ۹۵٪ به دلیل افزایش دو برابری ضریب نفوذ، سریع‌تر بود [۳۵].

نگهداری شده در درجه حرارت ۴۵°C در تمامی روزهای نگهداری) و همبستگی بالا و منفی ( $R^2=0/9292$  و  $r=-0/9640$ ) بین صفات ترکیبات فنولی کل و EC<sub>۵۰</sub> نوشیدنی عملگرا گزارش شد (که بیانگر وابستگی قوی و غیرهمسو دو صفت است) که یافته‌های فوق را تأیید می‌نماید. همچنین، نرخ رهایش ترکیبات فنولی کل در مدت زمان نگهداری مشابه (۲۷ روز)، در درجه‌حرارت‌های ۵ و ۲۵°C به ترتیب ۳۷٪ و ۵۱٪ تعیین گردید که نسبت به دمای نگهداری ۴۵°C پایین‌تر است. به‌علاوه، نتایج نشان داد که بعد از ۲۷ روز نگهداری (در تمامی درجه حرارت‌های مورد مطالعه)، به‌تدریج میزان ترکیبات فنولی کل موجود در محیط نوشیدنی شروع به کاهش نمود. احتمالاً این حالت به دلیل تخریب ترکیبات پلی‌فنولی رهایش یافته در محیط

**Table 1** The mean values (average of 3-replication) of quality control parameters of functional beverage containing bioactive compounds encapsulated in chitosome structure during storage period for 45-days at different temperatures.

Storage temperature (°C)	Storage time (day)	Product quality control parameters <sup>(*)</sup>					
		pH	Acidity	Turbidity	Total phenolic content (TPC)	Antioxidant activity (EC <sub>50</sub> )	Releasing rate of TPC
		(-)	(g/[100 g])	(NTU)	(mg GAE/[100 g DM])	(%)	(%)
5°C							
	0	5.066±0.006 <sup>k</sup>	0.3093±0.0037 <sup>d</sup>	1.2323±0.0011 <sup>m</sup>	65.000±0.979 <sup>m</sup>	26.614±0.381 <sup>a</sup>	22.916±0.345 <sup>m</sup>
	9	5.080±0.010 <sup>k</sup>	0.2880±0.00 <sup>b</sup>	1.3260±0.00 <sup>l</sup>	77.222±0.979 <sup>l</sup>	25.984±0.181 <sup>b</sup>	27.225±0.345 <sup>l</sup>
	18	5.097±0.006 <sup>j</sup>	0.2731±0.0037 <sup>c</sup>	1.3413±0.010 <sup>j</sup>	82.407±1.335 <sup>k</sup>	24.869±0.129 <sup>d</sup>	29.053±0.471 <sup>k</sup>
	27	5.133±0.021 <sup>i</sup>	0.2581±0.0037 <sup>d</sup>	1.3743±0.008 <sup>h</sup>	103.518±0.979 <sup>j</sup>	23.933±0.155 <sup>e</sup>	36.496±0.345 <sup>i</sup>
	36	5.190±0.010 <sup>dh</sup>	0.2368±0.0064 <sup>ef</sup>	1.3967±0.0042 <sup>g</sup>	119.074±1.111 <sup>f</sup>	23.235±0.159 <sup>f</sup>	41.980±0.392 <sup>f</sup>
	45	5.216±0.015 <sup>eg</sup>	0.2282±0.0037 <sup>f</sup>	1.4190±0.0060 <sup>f</sup>	124.753±0.566 <sup>d</sup>	22.862±0.182 <sup>gh</sup>	43.982±0.199 <sup>d</sup>
25°C							
	0	5.143±0.015 <sup>i</sup>	0.3008±0.0064 <sup>a</sup>	1.2337±0.0029 <sup>m</sup>	64.136±1.750 <sup>m</sup>	26.616±0.455 <sup>a</sup>	22.611±0.617 <sup>m</sup>
	9	5.180±0.010 <sup>h</sup>	0.2858±0.0037 <sup>b</sup>	1.3920±0.00 <sup>g</sup>	82.531±0.566 <sup>k</sup>	25.806±0.257 <sup>b</sup>	29.097±0.199 <sup>k</sup>
	18	5.233±0.015 <sup>f</sup>	0.2581±0.0037 <sup>d</sup>	1.4417±0.0055 <sup>c</sup>	107.592±1.614 <sup>h</sup>	23.912±0.069 <sup>c</sup>	37.932±0.569 <sup>h</sup>
	27	5.287±0.015 <sup>e</sup>	0.2304±0.0064 <sup>ef</sup>	1.4933±0.0058 <sup>d</sup>	132.160±0.932 <sup>b</sup>	23.124±0.083 <sup>de</sup>	46.594±0.328 <sup>b</sup>
	36	5.327±0.021 <sup>d</sup>	0.1984±0.0064 <sup>g</sup>	1.5187±0.0146 <sup>e</sup>	123.395±0.771 <sup>de</sup>	23.267±0.099 <sup>f</sup>	43.503±0.272 <sup>de</sup>
	45	5.400±0.020 <sup>e</sup>	0.1749±0.0097 <sup>h</sup>	1.5667±0.0077 <sup>a</sup>	121.913±1.402 <sup>e</sup>	23.251±0.124 <sup>f</sup>	42.981±0.494 <sup>e</sup>
45°C							
	0	5.193±0.015 <sup>dh</sup>	0.2858±0.0037 <sup>b</sup>	1.2333±0.0032 <sup>m</sup>	64.629±2.312 <sup>m</sup>	26.663±0.637 <sup>a</sup>	22.785±0.815 <sup>m</sup>
	9	5.233±0.015 <sup>f</sup>	0.2752±0.0064 <sup>c</sup>	1.5520±0.0090 <sup>b</sup>	86.358±1.497 <sup>j</sup>	25.377±0.176 <sup>c</sup>	30.446±0.528 <sup>j</sup>
	18	5.283±0.015 <sup>e</sup>	0.2389±0.0097 <sup>c</sup>	1.4090±0.0120 <sup>f</sup>	112.654±1.496 <sup>g</sup>	22.752±0.219 <sup>dh</sup>	39.717±0.528 <sup>g</sup>
	27	5.353±0.025 <sup>d</sup>	0.1984±0.0064 <sup>g</sup>	1.3160±0.0096 <sup>l</sup>	140.556±2.963 <sup>a</sup>	22.235±0.227 <sup>i</sup>	49.554±1.044 <sup>a</sup>
	36	5.483±0.015 <sup>b</sup>	0.1728±0.0064 <sup>h</sup>	1.2970±0.0030 <sup>k</sup>	127.592±1.335 <sup>c</sup>	22.688±0.171 <sup>h</sup>	44.983±0.471 <sup>c</sup>
	45	5.593±0.041 <sup>a</sup>	0.1344±0.0064 <sup>i</sup>	1.2747±0.0015 <sup>l</sup>	118.086±0.932 <sup>f</sup>	23.740±0.079 <sup>e</sup>	41.632±0.328 <sup>f</sup>

<sup>(\*)</sup>In each column, the mean values (Ave.±SD) with similar superscript letters had no significant difference ( $p<0.05$ ).

دارد [۴].

#### ۴- نتیجه گیری

در این پژوهش، نوشیدنی عملگرا برپایه شیرین کننده رژیمی استویا، توسط ریزذرات کیتوزوم درهم تنیده شده با ترکیبات زیست فعال (چای سبز و قهوه سبز)، غنی سازی شد و خصوصیات فیزیکی (کدورت)، شیمیایی (pH، اسیدیته، ترکیبات فنولی کل و قدرت آنتی اکسیدانی) و ویژگی های حسی و چشایی (طعم و مزه، رایحه، رنگ، احساس دهانی و پذیرش کلی) فرآورده تولید شده طی ۴۵ روز نگهداری در شرایط دمایی مختلف (۵، ۲۵ و ۴۵°C) پایش شد. با وجود اینکه، افزودن ۸۴ g/L ریزذرات کیتوزوم به فرمولاسیون نوشیدنی عملگرا به ترتیب سبب افزایش معنی دار ( $p < 0.05$ ) پارامتر ترکیبات فنولی کل (۲/۶~ مرتبه) نسبت به نمونه کنترل (نمونه فاقد ریزذرات کیتوزوم) در روز تولید شد، پارامتر قدرت آنتی اکسیدانی رفتاری معکوس (۰/۱۶ مرتبه کاهش) را در شرایط مشابه نشان دادند. به طور کلی، با توجه به یافته ها می توان چنین نتیجه گیری نمود که ساختار کیتوزومی یک بسته بندی بالقوه برای ریزپوشینه سازی ترکیبات زیست فعال بوده که افزودن آن به فرآورده های غذایی (به ویژه نوشیدنی ها) نه تنها سبب پایداری ترکیبات زیست فعال می شود، بلکه می توان ویژگی های تغذیه ای، حسی-چشایی و غذا دارویی فرآورده را نیز بهبود دهد و به تولید یک فرآورده جدید و دانش بنیان منتج شود.

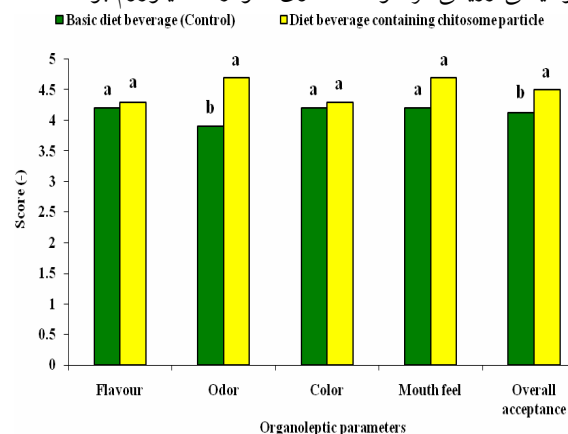
#### ۵- منابع

- [1] Jaddi, Z.S., Ahmadi-Dastgerdi, A., Sharafati-Chaloshitori, R. (2020). Production of Functional Beverage of Grape Juice and Lemon Skin Distilment Contained *Bacillus coagulans*. J. Food Hygiene, 9(36): 33-47. [In Persian]
- [2] Siro, I., Kápolna, E., Kápolna, B., Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance-A review. Appetite, 51(3): 456-67.
- [3] Safarzadeh-Matin, S., Shahbazi, M. (2013). Modeling and optimization of operation parameters in production of nanocapsules from polyphenol extract from apple industry by-product. Innovative Food Technol., 3(12): 1-

نتایج رهایش فیلم متیل سلولز حاوی آلفاتوکوفرول نانوریزپوشانی شده در پلی کاپرولاکتون در محیط شبیه ساز چربی ۹۵٪ نشان داد که پس از گذشت یک روز، نرخ رهایش به دلیل متورم شدن ناشی از نفوذ آب به داخل ساختار فیلم، شیب صعودی داشت [۳۶]. در پژوهشی دیگر، رهایش لیمون موجود در فیلم کیتوزان غنی شده با روغن برگاموت در محیط های شبیه ساز غذایی اتانول صفر تا ۹۵٪ نشان داد که روند رهایش تدریجی بود و با افزایش نسبت الکل، به دلیل ماهیت غیرقطبی لیمون، نرخ رهایش سریع تر بود [۳۷].

#### ۳-۵- خصوصیات حسی-چشایی

نتایج مقایسه میانگین تأثیر نوع نوشیدنی (نوشیدنی رژیمی پایه یا کنترل و نوشیدنی رژیمی فراسودمند حاوی ریزذرات کیتوزوم) روی شاخص های حسی و چشایی (طعم و مزه، رایحه، رنگ، احساس دهانی و پذیرش کلی) فرآورده تولید شده در روز اول تولید در شکل (۱) ارائه شده است. همانطور که مشاهده می گردد، نوع نوشیدنی تأثیر معنی دار ( $p < 0.05$ ) روی پارامترهای حسی و چشایی (رایحه و پذیرش کلی) فرآورده تولید شده داشت. با این حال، بیشترین امتیازات حسی و چشایی بدست آمده مربوط به نوشیدنی رژیمی فراسودمند حاوی نانوذرات کیتوزوم بود.



**Fig 1** The mean comparison (average of 10-replication) between organoleptic parameters of basic diet beverage (control) and functional beverage containing chitosome particle at 1<sup>st</sup>-day.

مختاریان و همکاران (۲۰۱۴) تولید نوشابه فراسودمند چای سبز برپایه شیرین کننده سوکرالوز را بررسی نمودند که نتایج آنها نشان داد، نوشیدنی فراسودمند رضایت مصرف کننده بالاتری نسبت به نوشیدنی کنترل داشت که با یافته های پژوهش حاضر همخوانی



- characterization of chitosan-coated nanoliposomes for encapsulation of caffeine. *Food Biosci.*, 40: 100857.
- [16] Fathi, M., Samadi, M., Rostami, H., Parastouei, K. (2021). Encapsulation of ginger essential oil in chitosan-based microparticles with improved biological activity and controlled. *J. Food Proc. Preserv.*, 00: e15373.
- [17] Gibis, M., Ruedt, C., Weiss, J. (2016). In vitro release of grape-seed polyphenols encapsulated from uncoated and chitosan-coated liposomes. *Food Res. Int.*, 88: 105-13.
- [18] Shahgholian, N., Rajabzadeh, G. (2016). Fabrication and characterization of curcumin-loaded albumin/gum arabic coacervate. *Food Hydrocolloids*, 59: 17-25.
- [19] Ni, S., Sun, R., Zhao, G., Xia, Q. (2015). Quercetin loaded nanostructured lipid carrier for food fortification: preparation, characterization and in vitro study. *J. Food Process Eng.*, 38(1): 93-106.
- [20] AOAC. (1990). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, (17<sup>th</sup> ed.); AOAC Press: Arlington, TX.
- [21] Bindaes, M.M.M., Reis, M.H.M., Cardoso, V.L., Boffito, D.C. (2018). Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from green tea leaves and clarification with natural coagulants(chitosan and Moringa oleifera seeds). *Ultrasonics Sonochemistry*, <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.10.014>.
- [22] Guglielmetti, A., D'ignoti, V., Ghirardello, D., Belviso, S., Zeppa, G. (2017). Optimisation of ultrasound and microwave-assisted extraction of caffeoylquinic acids and caffeine from coffee silver skin using response surface methodology. *Italian J. Food Sci.*, 29: 409-423.
- [23] Shabani, M., Mokhtarian, M., Kalbasi-Ashtari, A., Kazempoor, R. (2021). Effects of extracted propolis (*Apis mellifera*) on physicochemical and microbial properties of rainbow-trout fish burger patties. *J. Food Proc. Pres.*, 00: e16027.
- [24] Tan, C., Feng, B., Zhang, X., Xia, W., Xia, S. (2016). Biopolymer-coated liposomes by electrostatic adsorption of chitosan (chitosomes) as novel delivery systems for carotenoids. *Food Hydrocolloids*, 52: 774-784.
- [25] Liang, J., Yan, H., Wang, X., Zhou, Y., 13.
- [4] Mokhtarian, M., Tavakolipour, H., Jafari-Savareh, S.H., Amiri, M. (2014). Determination of optimal parameters to extraction and formulation of functional drink from green tea and determining its physicochemical and rheological properties. *J. Res. Innovation Food Sci. Technol.*, 3(1): 51-66. [In Persian]
- [5] Macheiner, L., Schmidt, A., Schreiner, M., Mayer, H.K. (2019). Green coffee infusion as a source of caffeine and chlorogenic acid. *J. Food Composition Analysis*, 84: 103307.
- [6] Mangku, I.G.P., Wijaya, I.M.A.S., Ganda Putra, G.P., Permana, D.G.M. (2019). The bioactive compounds formation of "Kintamani" arabica coffee bean during dry fermentation. *J. Life Sci. Chem.*, 36 (2): 45-52.
- [7] Alavi, S., Haeri, A., Dadashzadeh, S. (2017). Utilization of chitosan-caged liposomes to push the boundaries of therapeutic delivery. *Carbohydrate polymers*, 157: 991-1012.
- [8] Mady, M.M., Darwish, M.M. (2010). Effect of chitosan coating on the characteristics of DPPC liposomes. *J. Advanced Res.*, 1(3): 187-191.
- [9] Nag, O.K., Awasthi, V. (2013). Surface engineering of liposomes for stealth behavior. *Pharmaceutics*, 5(4): 542-69.
- [10] Zhuang, J., Ping, Q., Song, Y., Qi, J., Cui, Z. (2010). Effects of chitosan coating on physical properties and pharmacokinetic behavior of mitoxantrone liposomes. *Int. J. Nanomedicine*, 5: 407.
- [11] Mora-huertas, C.E., Fessi, H., Elaissari, A. (2010). Polymer-based nanocapsules for drug delivery. *Int. J. Pharm.*, 385: 113-142.
- [12] Fang, Z., Bhandari, B. (2010). Encapsulation of polyphenols-A review. *Trends Food Sci. Technol.*, 21: 510-523.
- [13] Laroui, H., Wilson, D.S., Dalmasso, G., Salaita, K., Murthy, N., Sitaraman, S.V, Merlin, D. (2011). Nanomedicine in GI. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 300: G371-G383.
- [14] Fathi, M., Mozafari, M., Mohebbi, M. (2012). Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. *Trends Food Sci. Technol.*, 23(1): 13-27.
- [15] Seyedabadi, M.M., Rostami, H., Jafari, S.M., Fathi, M. (2021). Development and

- characteristics of microencapsulated propolis co-product extract and its effect on storage stability of burger meat during storage at -15°C. *LWT-Food Sci. Technol.*, 1-8.
- [32] Moradi Kashksara, K. (2022). Extraction of bioactive compounds of green tea and green coffee extracts by ultrasound and their microencapsulation in the structure of chitosome and investigation of release kinetics in the food system model (Beverage). Ph.D. Thesis on Food Science. Islamic Azad University, North Tehran Branch. [In Persian]
- [33] Pavia, D.L., Lampman, G.M., Kriz, G.S., Vyvyan, J.R. (2015). *Introduction to Spectroscopy (Fifth Edition)*. Cengage Learning, USA.
- [34] Tai, K., Rappolt, M., Mao, L., Gao, Y., Li, X., Yuan, F. (2020). The stabilization and release performances of curcumin-loaded liposomes coated by high and low molecular weight chitosan. *Food Hydrocolloids*, 99: 105355.
- [35] Liu, F., Avena-Bustillos, R.J., Chiou, B-S., Li, Y., Ma, Y., Williams, T.G., et al. (2017). Controlled-release of tea polyphenol from gelatin films incorporated with different ratios of free/nanoencapsulated tea polyphenols into fatty food simulants. *Food Hydrocolloids*, 62: 212-21.
- [36] Noronha, C.M., de Carvalho, S.M., Lino, R.C., Barreto, P.L.M. (2014). Characterization of antioxidant methylcellulose film incorporated with  $\alpha$ -tocopherol nanocapsules. *Food Chem.*, 159: 529-35.
- [37] Sánchez-González, L., Cháfer, M., González-Martínez, C., Chiralt, A., Desobry, S. (2011). Study of the release of limonene present in chitosan films enriched with bergamot oil in food simulants. *J. Food Eng.*, 105(1): 138-43.
- Gao, X., Puligundla, P., Wan, X. (2017). Encapsulation of epigallocatechin gallate in zein/chitosan nanoparticles for controlled applications in food systems. *Food Chem.*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.106>.
- [26] Meng, R., Wu, Z., Xie, Q., Cheng, J., Zhang, B. (2021). Preparation and characterization of zein/carboxymethyl dextrin nanoparticles to encapsulate curcumin: Physicochemical stability, antioxidant activity and controlled release properties. *Food Chem.*, 340: 127893.
- [27] Rajkumar, V., Gunasekaran, C., Amita Paul, C., Dharmaraj, J. (2020). Development of encapsulated peppermint essential oil in chitosan nanoparticles: characterization and biological efficacy against stored-grain pest control. *Pesticide Biochem. Physiology*, 170: 104679.
- [28] Moosazad, S., Ghajarbeigi, P., Mahmoudi, R., Shahsavari, S., Vahidi, R., Soltani, A. (2019). Antibacterial and antioxidant properties of colorant extracted from red onion skin. *J. Chem. Health Risks*. 9(3), 235-243. <https://doi.org/10.22034/jchr.2019.668188>.
- [29] Uribe, E., Marín, D., Vega-Galvez, A., Quispe Fuentes, I., Rodriguez, A. (2016). Assessment of vacuum dried peppermint (*mentha piperita* L.) as a source of natural antioxidants. *Food Chem.* 90, 559-565. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.108>.
- [30] Iranian National Standardization Organization (INSO). (1986). *Fruit juices-Test methods*. Iran: (number 2685).
- [31] Reis, A.S.D., Diedrich, C., Moura, C.D., Pereira, D., Almeida, J.D.F., Silva, L.D.D., Plata-Oviedo, M.S.V., Tavares, R.A.W., Carpes, S.T. (2016). Physico-chemical



## Production of functional beverage based on cross-linked bioactive compounds of green tea and green coffee in chitosome structure

Moradi Kashksara, K.<sup>1</sup>, Tavakolipour, H.<sup>2\*</sup>, Mokhtarian, M.<sup>3</sup>

1. Department of Food Science and Technology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran

3. Department of Food Science and Technology, Roudehen Branch, Islamic Azad University, Roudehen, Iran

### ABSTRACT

Aiming to improve nutritional value (reduce sugar), bioactive compounds stability, producing of novel products and based on up-to-date knowledge (applying the encapsulation technology) & reducing of potential pomace in the agricultural part (like green tea & green coffee), a functional beverage based on Stevia sweetener was enriched by adding 84 g/L of cross-linked bioactive compounds of green tea and green coffee in chitosome microcapsule and physicochemical properties (pH, acidity, turbidity, total phenolic compounds & antioxidant power) and organoleptic characteristics (flavor, color, aroma, mouth feel and overall acceptance) of product were evaluated during storage time (1, 9, 18, 27, 36 & 45 days) and at different temperatures (5, 25 & 45°C). While the release rate of beverage phenolic compounds at temperature of 45°C, were significantly ( $p < 0.05$ ) increased to ~50% after 27 days of storage, the noted parameters increased at the rates of ~36 and ~46% at 5 and 25°C respectively at the same conditions. As well, the results show that, the parameter of beverage antioxidant productivity ratio (TPC/EC<sub>50</sub>) was obtained 0.06 and 5.71 in control and enriched samples, respectively after 27 days of storage (at 25°C). Generally, the chitosomal structure due to biodegradability, biocompatibility and non-toxicity is recommended as a suitable option for stability of bioactive compounds and design of effective systems for drug delivery.

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received 2022/ 07/ 01

Accepted 2022/ 10/ 29

#### Keywords:

Functional beverage,  
Chitosome,  
Bioactive compounds release,  
Phenolic compounds,  
Physicochemical properties and  
sensory evaluation.

DOI: 10.22034/FSCT.19.133.79

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.133.7.2

\*Corresponding Author E-Mail:  
h.tavakolipour@gmail.com