



درون پوشانی ترکیبات فنولی آب ریواس و تاثیر آن ها بر خواص آب انار

حسین زارعی منش<sup>۱</sup>، دکتر کامبیز جهان بین<sup>۲\*</sup>، دکتر احمد رجایی نجف آبادی<sup>۳</sup>

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، ایران

۲-دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، تکنولوژی مواد غذایی، دانشکده مهندسی کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران

۳-دانشیار، تکنولوژی مواد غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	هدف از این پژوهش درون پوشانی ترکیبات فنولی آب ساقه ریواس با کیتوزان و ایزوله پروتئین سویا و تاثیر آن ها بر خواص آب انار است. به این منظور ترکیبات فنولی آب ساقه ریواس توسط متانول استخراج و با روش نانوامولسیون با کیتوزان و ایزوله پروتئین سویا درون پوشانی شد و در نهایت از میکروکپسول ها و نانوکپسول های حاصل برای غنی سازی نمونه های آب انار استفاده شد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۲/۳	بیشترین درصد بازده درون پوشانی ترکیبات فنولی با ایزوله پروتئین سویا (۴۵/۲۶ درصد) بود. نتایج تصاویر SEM نشان داد ذرات به صورت نسبتاً کروی و با سطح نسبتاً صافی تشکیل شده اند، همچنین نانوکپسول های کیتوزان با اندازه متوسط ۲۸۱/۴ نانومتر و میکروکپسول های ایزوله پروتئین سویا با اندازه متوسط ۲۲/۳۳ میکرومتر تشکیل شده بودند. نتایج بررسی pH نشان داد نمونه های غنی شده با نانوکپسول های کیتوزان و میکروکپسول های ایزوله پروتئین سویا به ترتیب کاهش pH بیشتر و کمتری نسبت به نمونه های شاهد در طی دوره نگهداری نشان دادند. بررسی مهار رادیکال DPPH نشان داد غنی سازی آب انار با میکروکپسول کیتوزان تا ۳ ماه نگهداری باعث افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه ها شد.
کلمات کلیدی: درون پوشانی، ترکیبات فنولی، آب ریواس، کیتوزان، ایزوله پروتئین سویا	
DOI:10.22034/FSCT.21.151.126.	
* مسئول مکاتبات:	

## ۱-مقدمه

دسترسی، تاثیر گذاری زیستی و پایداری آن ها را افزایش می دهند [۸ و ۹].

مواد دیواره نقش کلیدی در سیستم های درون پوشانی دارند. هدف خاص درون پوشانی و سازگاری با ماتریکس مواد غذایی باید برای انتخاب مواد دیواره در نظر گرفته شود. به عنوان مثال، شرایط سخت و حساسیت بالاتر مواد هسته مستلزم یک ماده دیواره قوی مانند یک یا دو لایه از مواد است [۱۰].

کیتوزان مشتق داستیله<sup>۲</sup> کیتین است و دومین کوپلیمر<sup>۳</sup> فراوان موجود در زمین است. سخت پوستان، حشرات، نرم تنان و قارچ ها منابع اصلی کیتوزان هستند. در صنعت، کیتوزان از اسکلت خارجی کیتینی سخت پوستان دریایی مانند خرچنگ، میگو و کریل<sup>۴</sup>، محصولات زائدی که از صنعت ماهیگیری منشأ می گیرند، ساخته می شود. نانوذرات کیتوزان برای تسهیل جذب مولکول فعال یا ترکیب از طریق غشای سلولی شناخته شده است. اثر افزایش دهنده جذب نانوذرات کیتوزان، فراهمی زیستی مولکولی مواد فعال موجود در نانوذرات را بهبود می بخشد [۱۱، ۱۲ و ۱۳]. تاثیر ترکیب های مختلف عوامل درون پوشانی بر خواص فیزیکوشیمیایی و پایداری میکروکپسول های بارگذاری شده با فنول آلو توسط Li و همکاران (۲۰۱۸) مورد تحقیق قرار گرفت. نتایج نشان داد میکروکپسول های مالتودکسترین/ کیتوزان با راندمان درون پوشانی بالا و سطح صاف ذرات، محافظت قابل ملاحظه ای در برابر ترکیبات فنولی و در نتیجه پایداری بهتری داشتند [۱۴].

در بین پلیمرهای طبیعی مختلف، پروتئین های گیاهی مانند پروتئین سویا، زئین و گلوتن گندم به دلیل دسترسی آسان و هزینه کم، توجه قابل ملاحظه ای را در تحقیقات علمی و صنایع به خود جلب کرده اند. ایزوله پروتئین سویا به طور

کارخانجات صنایع غذایی امروزه با سرعت به سمت فرمولاسیون، تولید و ترویج مواد غذایی تقویت کننده سلامت با ارزش غذایی افزایش یافته در حال حرکت هستند. تولید محصولات با کیفیت، مدت زمان نگهداری و ارزش تغذیه ای بالا از اصلی ترین دغدغه های تولید کنندگان است. فرمولاسیون آب میوه یکی از روش هایی است که می تواند برای بهبود کیفیت تغذیه ای آب میوه ها استفاده شود و مقادیر اسید اسکوربیک و مواد معدنی را با توجه به نوع آب میوه مورد استفاده بهبود بخشد. در طی دهه گذشته، اکثر تحقیقات و پژوهش ها مربوط به حوزه تغذیه روی ترکیباتی با منشأ گیاهی تمرکز داشته اند [۱، ۲ و ۳].

ترکیبات فنولی متابولیت های ثانویه گیاهی هستند و به چند گروه از جمله فلاونوئیدها و اسیدهای فولیک طبقه بندی می شوند. این ترکیبات آنتی اکسیدان های قوی هستند و از گیاهان در برابر استرس اکسیداتیو<sup>۱</sup> محافظ می کنند. ترکیبات فنولی موجود در محصولات غذایی به طور قابل توجهی بر پایداری، ویژگی های حسی و تغذیه ای آن ها تاثیر می گذارند و ممکن است از طریق فرونشاندن واکنش های رادیکال مسئول اکسیداسیون لیپیدها از فساد آن ها جلوگیری کنند. با این حال، بسیاری از این ترکیبات دسترسی زیستی ضعیفی دارند و به شرایط محیطی شدید مانند pH، اکسیژن، نور و یا آنزیم ها حساس هستند [۴، ۵، ۶ و ۷].

یکی از راهکارهای حفاظت از اجزاء فعال و حساس طی فرآیند، درون پوشانی است. درون پوشانی فرآیندی است که در طی آن ترکیبات زیست فعال یا حساس، توسط مواد دیواره پوشانده و به اصطلاح به دام انداخته می شوند. نانومولسیون ها از معروف ترین نوع این روش و یک حامل مناسب برای تحویل مواد چربی دوست هستند به این دلیل که به آسانی تهیه شده، اندازه بسیار کوچکی داشته و

3- Copolymer  
4- Krill

1- Oxidative stress  
2- Deacetylated

انار با نام علمی *Punica granatum L.* یکی از اعضای تیره انار است که محققین خاستگاه آن را کشور ایران و سایر کشور های همجواریش دانسته اند. این میوه به دلیل اهداف غذایی و دارویی در طب عامیانه شهرت زیادی دارد. در حال حاضر، علاقه روز افزونی به میوه های انار در جامعه علمی به دلیل خواص زیست فعال و بالقوه آن برای ارتقا سلامت وجود دارد [۲۱ و ۲۲].

مصرف آب انار از زمانی که متون های علمی فواید درمانی آن را که به خواص آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد سرطانی و ضد التهابی آن مربوط می شود را ذکر کردند، به طور قابل توجهی افزایش یافته است. با این حال، اکثر آب انار های موجود در بازار مشکلات کیفی مهمی مانند کدورت بالا، رسوب و رنگ قهوه ای دارند که بسیاری از مصرف کنندگان را از مصرف آب انار صنعتی باز می دارد. اگرچه پاستوریزاسیون حرارتی پرکاربرد ترین فناوری نگهداری است، اما اثرات نامطلوبی بر کیفیت غذایی و حسی آب میوه ها دارد [۲۳ و ۲۴]. به عنوان مثال در پژوهش Bhagat و Chakraborty (۲۰۲۲) نتایج نشان داد نمونه پاستوریزه شده به روش حرارتی (۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه) به ترتیب ۳۰ و ۳۷ درصد کاهش در ترکیبات فنولی و ظرفیت آنتی اکسیدانی را نشان داد و تنها مقدار ۳۴ درصد ویتامین C در آب میوه را نشان داد [۲۵].

## ۲- مواد و روش ها

### ۲-۱ مواد شیمیایی و معرف ها

مواد مورد استفاده شامل ریواس با مشخصات ذکر شده در جدول ۱ از کوه های کوهسرخ شهرستان کاشمر استان خراسان رضوی جمع شدند. ایزوله پروتئین سویا (*Shandong yuwang ecological food industry*، چین)، DPPH (سیگما آلد ریچ، آمریکا)، کیتوزان Medium با وزن مولکولی ۳۱۰-۱۹۰ کیلو دالتون، معرف فولین سیوکالتیو، اسید گالیک و توین ۸۰ (مرک، آلمان)، آبمیوه انار (شرکت نگین شهد شهران، ایران)، متانول ۹۹ درصد، اتانول ۹۶

کلی به عنوان یک ماده دیواره جداگانه استفاده می شود، اما همچنین می تواند با پلی ساکاریدها مخلوط شود. ترکیب پروتئین ها با کربوهیدرات ها به عنوان یک ماده حامل، محافظت بهتر، پایداری اکسیداتیو و خواص خشک کردن بهتری را به ارمغان می آورد [۱۵]. خواص ساختاری، شیمیایی و سطحی پروتئین ها برای همپوشانی و تحویل ریزمغذی ها به کمک اولتراسوند کارآمد توسط Zhu و همکاران (۲۰۲۱) مورد پژوهش قرار گرفت. نتایج نشان داد میکروکپسول های از جنس پروتئین سفیده تخم مرغ و ایزوله پروتئین ذرت پس از قرار گرفتن در معرض گرما و تابش اشعه ماوراء بنفش، تخریب ویتامین های محصور شده را ۲۰ و ۴۰ درصد کاهش دادند [۱۶].

گیاه ریواس از خانواده پلی گوناسه<sup>۵</sup> است و گونه های متنوعی از آن در کشورهایمانند ایران، هندوستان، چین و ترکیه می روید. گونه ای از آن به نام رویم رییس<sup>۶</sup> در ایران و عمدتاً در مناطق کوهستانی استان هایی نظیر خراسان، کردستان، آذربایجان غربی و ... می روید و ساقه آن به صورت خوراکی مصرف می شود. خواص ارزشمندی که می تواند به اسانس ریواس مربوط شود را می توان همچنین به ترتیب به ویتامین های E، B<sub>2</sub>، B<sub>1</sub>، A، C و K که به وفور در ریواس یافت می شوند نسبت داد. همچنین ترکیبات پلی فنولی موجود در این گیاه خواص آنتی اکسیدانی را تامین می کنند [۱۷ و ۱۸]. تعیین متابولیت های ثانویه از جمله کورکومین در ریواس و بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی آن توسط Noori و همکاران (۲۰۲۲) مورد پژوهش قرار گرفت. نتایج مقادیر بالا ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و فلاونولی کل را در عصاره نشان داد [۱۹]. در پژوهش Öztürk و همکاران (۲۰۰۷) روی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ساقه و ریشه ریواس، فعالیت آنتی اکسیدانی ۸۲/۲ و ۸۲ درصد مهار عصاره های کلروفومی و متانولی برای ساقه مشاهده شد [۲۰].

محلول کیتوزان با سرعت هم زدن ۱۲۰۰ دور بر دقیقه روی هیتر استیرر هم زده و هم زمان محلول آب ریواس به صورت قطره ای با سرعت ۰/۵ میلی لیتر در دقیقه به آن افزوده شد. محلول ۴۵ دقیقه دیگر هم زده شد سپس در یخچال ذخیره سازی شد. درون پوشانی ترکیبات فنولی با ایزوله پروتئین سویا مطابق با روش فوق بود با این تفاوت که ابتدا ایزوله پروتئین سویا در محلول بافر با pH=7 دی سدیم هیدروژن فسفات ۰/۲ مولار و اسید سیتریک ۰/۱ مولار حل شد [۲۷].

۲- ۵ اندازه گیری محتوی فنولی و بازده درون پوشانی

جهت اندازه گیری محتوی فنولی آب ریواس، محلول نانوکپسول کیتوزان و محلول میکروکپسول ایزوله پروتئین سویا ۱ میلی لیتر از محلول نمونه با ۵ میلی لیتر محلول معرف فولین سیوکالتیو ترکیب شد و ۳ دقیقه در تاریکی استراحت داده شد. ۴ میلی لیتر محلول سدیم کربنات (۷/۵ گرم سدیم کربنات در بالن ۱۰۰ میلی لیتر با آب مقطر به حجم رسید) به محلول افزوده شد و ۶۰ دقیقه محلول در تاریکی استراحت کرد. جذب محلول در طول موج ۷۲۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفوتومتر (Unico/ آمریکا) اندازه گیری شد [۱۷].

درصد بازده درون پوشانی نمونه ها با رابطه ۱ مصاحبه شد [۶]:

$$\text{Encapsulation efficiency} = (1 - F/T) \times 100 \quad (1)$$

که در رابطه فوق T نشان دهنده مقدار کل ترکیبات فنولی اضافه شده در طی فرآیند درون پوشانی و F ترکیبات فنولی آزاد در محلول پس از فرآیند درون پوشانی می باشد.

۲- ۶ بررسی مورفولوژی ذرات

جهت بررسی مورفولوژی ذرات در این پژوهش از میکروسکوپ SEM (Zeiss sigma Sigma 300- HV / آلمان) استفاده شد. برای آماده سازی نمونه ها جهت عکس برداری میکروسکوپ SEM یک قطره از محلول نمونه روی فویل آلومینیومی به مساحت ۱ سانتی متر مربع ریخته و در دستگاه آون (Memmert/ آلمان) در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد خشک شد. قبل از تصویر برداری، یک پوشش از طلا با دستگاه اسپاترینگ رومیزی (DSR-1/ ایران) روی نمونه ها

درصد، اسید استیک گلاسیکال، دی سدیم هیدروژن فسفات، اسید سیتریک و سدیم کربنات (مجتمع صنایع شیمیایی دکتر مجللی، ایران) بود.

Table 1: Characteristics of rhubarb used in the current research [۲۶]

Specifications	
Species	<i>R. khorasanicum</i>
Total phenol	2.916 mg GA/g DW
Antioxidant activity (DPPH)	15.51

۲- ۲ جمع آوری و آماده سازی ریواس ها

در تاریخ ۲۴ فروردین ۱۴۰۱ ریواس ها جمع آوری و قسمت برگ و ریشه آنها جدا شد، با آب شستشو و در فریزر ذخیره سازی شدند. یک روز قبل از انجام عمل آب گیری، ریواس ها از فریزر خارج و در یخچال جهت یخ زدایی قرار گرفتند. از دستگاه مخلوط کن خانگی (Shine Tech پارس خزر/ ایران) جهت آب گیری ریواس ها استفاده شد.

۲- ۳ استخراج ترکیبات فنولی

جهت استخراج ترکیبات فنولی ۱۰ میلی لیتر آب ریواس با ۱۰۰ میلی لیتر محلول متانول ۷۰ درصد ترکیب و ۴۵ دقیقه روی دستگاه هیتر استیرر (Heidolph/ آلمان) در دمای اتاق هم زده شد. متانول موجود در محلول با استفاده از دستگاه تغلیظ کننده دوار تحت خلا (Heidolph/ آلمان) در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد حذف شد و آب ریواس در فریزر ذخیره سازی شد [۱۷].

۲- ۴ درون پوشانی ترکیبات فنولی

جهت درون پوشانی ترکیبات فنولی با استفاده از کیتوزان ۰/۵ گرم کیتوزان در ۱۰۰ میلی لیتر محلول اسید استیک گلاسیکال ۱ درصد به مدت ۲ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد و سرعت هم زدن ۷۵۰ دور بر دقیقه روی دستگاه هیتر استیرر حل شد. ۵ میلی لیتر از آب ریواس که استخراج فنولی شده بود با ۲۰۰ میکرولیتر توین ۸۰ ترکیب شد. ۵۰ میلی لیتر از

۱۰۰ میلی لیتر آبمیوه انار در فلاسک های شیشه ای افزوده شد. درب فلاسک ها با فویل آلومینیومی بسته شد. فلاسک ها در دستگاه بن ماری (Memmert/ آلمان) در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه حرارت داده شدند. سپس فلاسک ها در دستگاه بن ماری دیگر در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. درب فلاسک ها بسته شد و در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند [۲۹]. تیمارها به مدت ۴ ماه در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند و آزمون های pH، رنگ سنجی، ویسکوزیته و درصد مهار رادیکال DPPH در اواخر ماه های اول، دوم، سوم و چهارم نگهداری انجام شد [۳۰].

#### ۲- ۸- ۱ ارزیابی pH

ارزیابی pH نمونه ها با استفاده از دستگاه pH متر (Jenway/ انگلستان) انجام شد. جهت انجام این ارزیابی نمونه مورد نظر به دمای ۲۰ درجه سانتی گراد رسانده و داخل بشر ریخته شد و الکتروود دستگاه pH متر داخل نمونه قرار گرفت. حداقل ۶۰ ثانیه الکتروود با نمونه در تماس بود و سپس عدد مورد نظر اندازه گیری شد.

#### ۲- ۸- ۲ ارزیابی رنگ سنجی

جهت رنگ سنجی نمونه ها ابتدا با دوربین عکاسی دیجیتال در ۳ تکرار از نمونه ها عکس تهیه شد. پس از آن با استفاده از نرم افزار ImageJ شاخص های  $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  مورد ارزیابی قرار گرفت. شاخص  $L^*$  بیانگر شدت روشنایی آبمیوه می باشد. به این صورت که  $L^*=0$  نشان دهنده رنگ سیاه و  $L^*=100$  پراکندگی روشنایی یا همان نور کامل را نشان می دهد. شاخص  $a^*$  نشان دهنده رنگ سبز و قرمز است. به طوری که مقادیر مثبت آن نشان دهنده رنگ قرمز و مقادیر منفی آن رنگ سبز را نشان می دهد. شاخص  $b^*$  نشان دهنده رنگ زرد و آبی است. به طوری که مقادیر مثبت آن رنگ زرد و مقادیر منفی آن رنگ آبی را نشان می دهد [۳۱]. تغییر رنگ نمونه ها با روش Bursac Kovacevic و همکاران (۲۰۱۶) با استفاده از رابطه ۲ محاسبه شد [۳۲].

گذاشته شد و پس از آن تصویر برداری انجام شد [۲۸].

#### ۲- ۷ ارزیابی حسی

آبمیوه انار مورد استفاده در این پژوهش از شرکت نگین شهید شهران تهیه شد. در این پژوهش ارزیابی حسی صفات بر اساس یک مقیاس ۵ نمره ای انجام شد. ارزیابی به کمک ۲۴ نفر ارزیاب (۱۲ مرد و ۱۲ زن) که به طور تصادفی از بین دانشجویان انتخاب شدند انجام گرفت. به هر ارزیاب از هر تکرار، یک نمونه داده شد و چهار فاکتور رنگ، عطر، طعم و پذیرش کلی مورد ارزیابی قرار گرفت. مقیاس نمره ای در مورد هر چهار فاکتور از عدد ۵ در مطلوب ترین حالت تا عدد ۱ به عنوان نمونه های غیر قابل قبول، ارزیابی گردید. یک تکرار از نمونه های غنی شده با میکروکپسول های کیتوزان، یک تکرار از نمونه های غنی شده با میکروکپسول ایزوله پروتئین سویا که بیشترین نمرات را در بخش پذیرش کلی دریافت کردند و آبمیوه انار غنی نشده به عنوان نمونه شاهد برای انجام آزمون های بعدی انتخاب شدند.

Table 2: Pomegranate juice samples prepared for sensory analysis in the present study

Treatments	Compounds of constituent
C	Control (pure pomegranate juice)
CM1	3 mg of chitosan nanocapsules
CM2	4 mg of chitosan nanocapsules
CM3	5 mg of chitosan nanocapsules
CM4	50 mg of chitosan nanocapsules
CM5	94 mg of chitosan nanocapsules
SPM1	14 mg of soy protein microcapsules
SPM2	25 mg of soy protein microcapsules
SPM3	34 mg of soy protein microcapsules
SPM4	202 mg of soy protein microcapsules
SPM5	339 mg of soy protein microcapsules

۲- ۸ نگهداری آبمیوه های انار غنی شده و آزمون های مربوطه

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2} \quad (2)$$

۲- ۸- ۳ ارزیابی ویسکوزیته

برای این ارزیابی ویسکوزیته نمونه ها از دستگاه رئومتر (Anton-paar / اتریس) استفاده شد و از نرخ برشی در دامنه ۰/۱ الی  $S^{-1}$  ۱۰۰ در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد استفاده شد [۳۳].

۲- ۸- ۴ ارزیابی درصد مهار DPPH

برای ارزیابی درصد مهار DPPH ۲ میلی لیتر نمونه با ۲ میلی لیتر محلول اتانولی ۰/۲ میلی مولار DPPH ترکیب شد. محلول ۳۰ دقیقه در تاریکی استراحت داده شد. جذب نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (Unico / آمریکا) اندازه گیری شد. برای Blank دستگاه از اتانول ۹۶ درصد استفاده شد. برای نمونه شاهد به جای نمونه از ۲ میلی لیتر محلول اتانول ۷۰ درصد استفاده شد. درصد مهار DPPH نمونه ها با استفاده از رابطه ۳ محاسبه شد [۳۴]:

$$\% \text{ DPPH inhibition} = \frac{(A_{control} - A_{sample})}{A_{control}} \times 100 \quad (3)$$

۲- ۹ تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده های به دست آمده از این پژوهش با استفاده از نرم افزار SPSS و اختلاف میان تیمارها بر اساس روش دانکن و در سطح ۵ درصد تعیین گردید. تمام آزمون ها به جز آزمون رئولوژی و SEM در ۳ تکرار انجام شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار EXCLE 2019 انجام شد.

### ۳- نتایج و بحث

۳- ۱ محتوی فنولی و بازده درون پوشانی

مطابق نتایج، محتوی فنولی آب ریواس مقدار  $44/63$  ppm بود که نتایج در شکل ۱ نشان داده شده است. مطابق نتایج شکل ۱ محتوی فنولی محلول های نانوکپسول کیتوزان و میکروکپسول ایزوله پروتئین سویا کمتر از نمونه آب ریواس

بود که نشان دهنده درون پوشانی ترکیبات فنولی آب ریواس توسط کیتوزان و ایزوله پروتئین سویا بود و همچنین دو محلول نانوکپسول کیتوزان و میکروکپسول ایزوله پروتئین سویا اختلاف معنی داری ( $P > / 0.05$ ) در محتوی فنولی با هم نداشتند. مطابق نتایج جدول ۳ درون پوشانی ترکیبات فنولی با ایزوله پروتئین سویا درصد بازده درون پوشانی بیشتری (۴۵/۲۶ درصد) را نسبت به درون پوشانی با کیتوزان (۳۸/۲۸ درصد) دارد. بازده درون پوشانی میکروکپسول ها عمدتاً به خواص فیزیکوشیمیایی مواد دیواره، مواد هسته و همچنین بر همکنش بین مواد هسته بستگی دارد. مطالعات قبلی نشان داده اند که بازده درون پوشانی به میزان زیادی تحت تاثیر وزن مولکولی کیتوزان مورد استفاده قرار می گیرد که در پژوهش حاضر کیتوزان مورد استفاده از نوع وزن مولکولی متوسط (۳۱۰-۱۹۰ کیلودالتون) بود [۳۵]. Ran و همکاران (۲۰۲۰) نیز در مطالعه خود بر اثر هم افزایی آنتی اکسیدانی گلوکوتایون و اسیدهای فنولی خوراکی و بهبود حفاظت از فعالیت با همپوشانی در لیپوزوم های پوشش داده شده با کیتوزان، بازده درون پوشانی بالای ۵۰ درصد برای میکروکپسول پوشش داده شده با کیتوزان بدست آوردند و نشان دادند پس از پوشش لیپوزوم ها با کیتوزان، بازده درون پوشانی از  $54/64$  به  $61/32$  درصد افزایش یافت [۳۶]. در پژوهشی دیگر Delfanian و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه خود بر تاثیر اجزای اصلی امولسیون بر خواص فیزیکوشیمیایی و عملکردی نانوامولسیون آب/روغن/آب، بازده درون پوشانی بالای ۹۰ درصد برای میکروکپسول پوشش داده شده با ایزوله پروتئین سویا بدست آوردند و نشان دادند درون پوشانی با نانوامولسیون ایزوله پروتئین سویا و صمغ دانه ریحان بازده درون پوشانی بیشتری از ایزوله پروتئین آب پنیر و صمغ دانه ریحان و کمتر از  $100$  Hi-Cap (نشاسته غذایی اصلاح شده) را نشان می دهد [۳۷].

Table 3: Microencapsulation efficiency percentage

Wall material type	Microencapsulating efficiency
Chitosan	37.28%
Soy protein isolate	45.26%

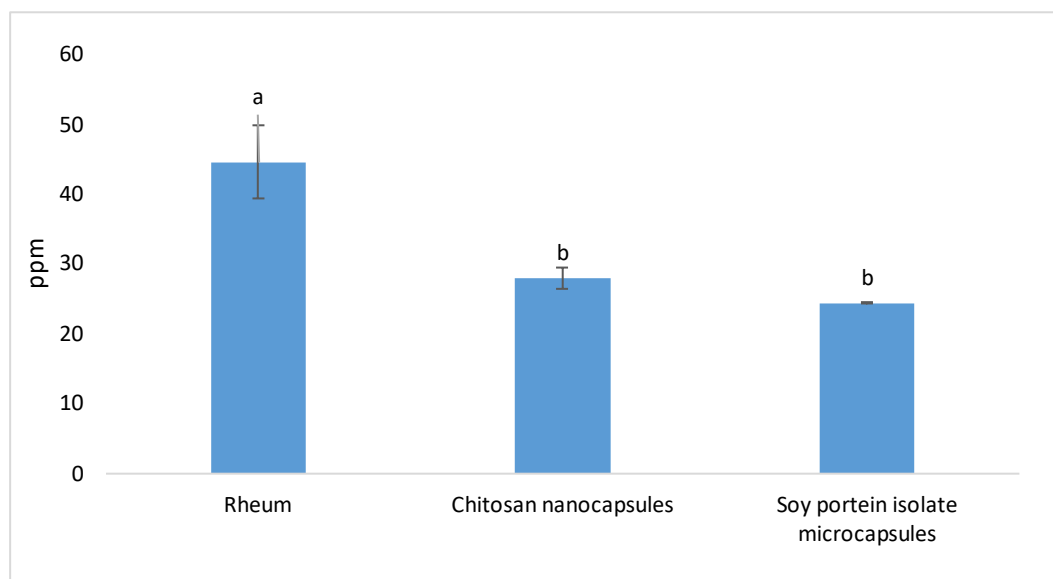


Figure 1: The phenolic content of the samples is equivalent to ppm of gallic acid in 1 ml of the sample

### ۳-۲ مورفولوژی

ضد خونریزی همچنین مشاهده شد شده نانوذرات کیتوزان درون پوشانی شده با محتوی اسید الازیک به صورت خوشه هایی با اندازه ذرات متوسط حدود ۸۰ نانومتر ظاهر شده بودند. افزایش جزئی در اندازه نانوذرات نسبت به میکروکپسول های کیتوزان فاقد اسید الازیک می تواند به دلیل ادغام مواد هسته بین شبکه پلیمری باشد [۳۸]. در رابطه با میکروکپسول های ایزوله پروتئین سویا مشابه این حالت طی پژوهش Di Giorgio و همکاران (۲۰۱۹) روی درون پوشانی روغن ماهی در ذرات پروتئین سویا با امولسیون سازی و خشک کردن پاششی مشاهده شد. در این پژوهش نیز میانگین قطر ظاهری میکروکپسول ها برای همه نمونه ها بین ۱۵ الی ۲۰ میکرومتر بود و ذرات یک شکل کروی صاف را نشان دادند که با وجود فرورفتگی های سطحی مشخص می شد [۳۹].

نتایج حاصل از بررسی مورفولوژی ذرات نانوکپسول های کیتوزان و میکروکپسول های ایزوله پروتئین سویا با استفاده از SEM در شکل ۲ نشان داده شده است. مطابق تصاویر، ذرات به صورت نسبتاً کروی و با سطح نسبتاً صافی تشکیل شده اند، همچنین نانوکپسول های کیتوزان با اندازه متوسط ۲۸۱/۴ نانومتر و میکروکپسول های ایزوله پروتئین سویا با اندازه متوسط ۲۲/۳۳ میکرومتر تشکیل شده بودند. پدیده آگلومره شدن ذرات میکروکپسول ها احتمالاً در حین فرآیند خشک کردن محلول های حاوی میکروکپسول ها جهت آماده سازی برای تصویر برداری SEM ایجاد شده باشد. در پژوهش Gopalakrishnan و همکاران (۲۰۱۴) روی اسید الازیک محصور شده با نانوذرات کیتوزان به عنوان عامل



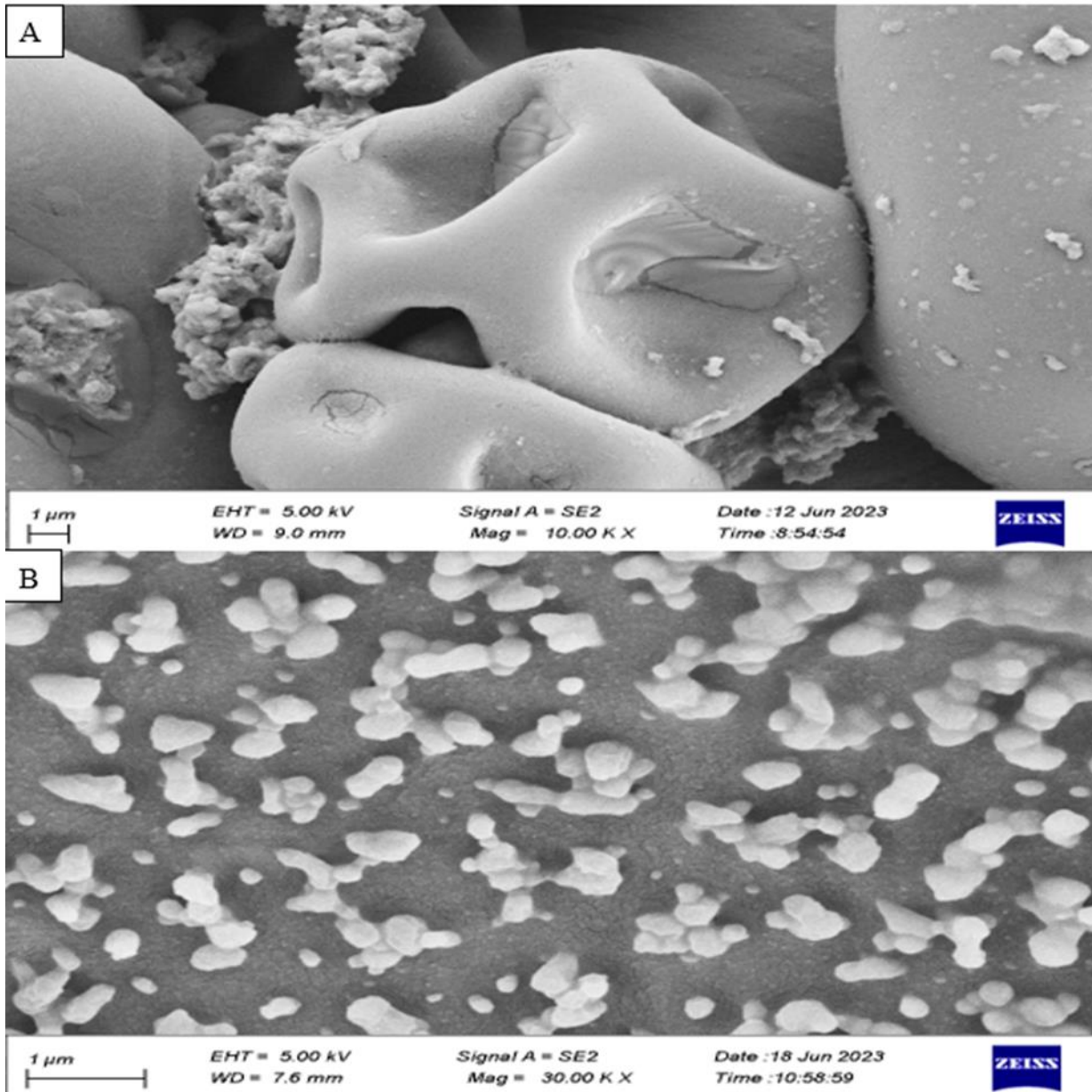


Figure 2: SEM images of (A) soy protein isolate microcapsule and (B) chitosan nanocapsule

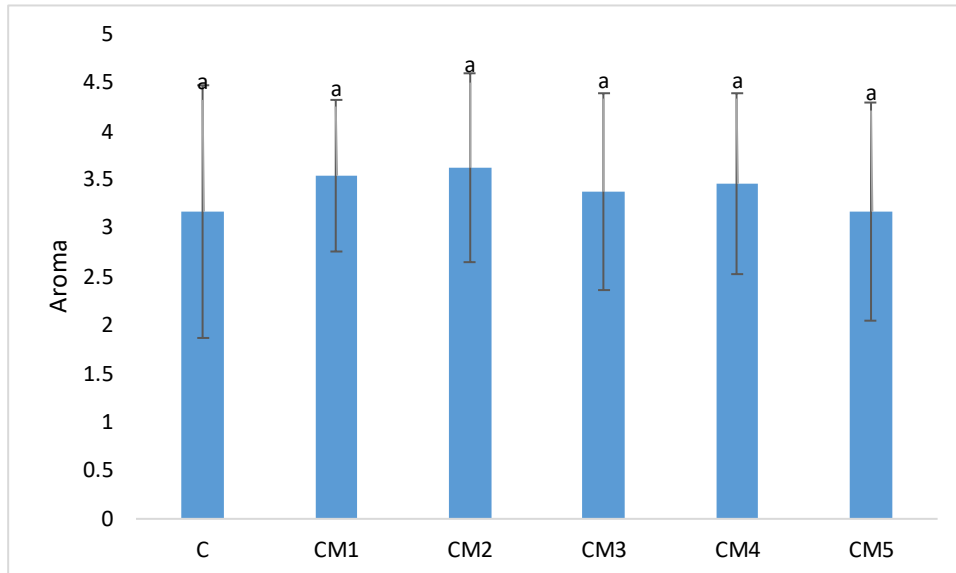
معنی داری ( $P > 0.05$ ) با نمونه شاهد ندارند. با توجه به شکل ۴ از نظر رنگ، غنی سازی آب انارها با نانوکپسول کیتوزان بیش از ۵۰ میلی گرم نانوکپسول باعث کاهش امتیاز رنگ آب انارها شد. در مورد غنی سازی با ایزوله پروتئین سویا کاهش امتیاز در غنی سازی بیش از ۲۰۲ میلی گرم میکروکپسول مشاهده شد که در هر مورد می تواند به علت کدر شدن نمونه ها به دلیل محتویات کپسول ها باشد. با توجه به شکل ۵ از لحاظ طعم در غنی سازی با نانوکپسول کیتوزان نمونه های حاوی ۵۰ و ۹۴ میلی گرم میکروکپسول (CM5) کمترین امتیاز طعم را نشان دادند. این می تواند به

۳-۳ ارزیابی حسی

ارزیابی حسی نمونه های آب انار تهیه شده توسط شرکت کنندگان در آزمون هدونیک انجام شد. از لحاظ رنگ، طعم و پذیرش کلی نمونه های حاوی ۹۴ میلی گرم نانوکپسول کیتوزان و نمونه های حاوی ۳۳۹ میلی گرم میکروکپسول ایزوله پروتئین سویا (CM5 و SPM5) کمترین امتیاز را دریافت کردند. بررسی عطر نمونه ها که در شکل ۳ آورده شده، نشان داد غنی سازی آب انارها با نانوکپسول های کیتوزان و میکروکپسول های ایزوله پروتئین سویا تفاوت



کیتوزان جهت بهینه سازی برای افزایش ماندگاری نیز مشاهده شد. در این پژوهش با افزایش غلظت کیتوزان کاهش قابل توجهی در پذیرش کلی نمونه ها مشاهده شد [۴۰]. در پژوهش مشابه دیگر، Potter و همکاران (۲۰۰۷) روی ویژگی های نوشیدنی های زغال اخته و سویا مشاهده شد که نوشیدنی های حاوی ایزوله پروتئین سویا طعم زغال اخته بیشتری نسبت به سایر نوشیدنی ها داشت و باعث ایجاد ویژگی گچی شده بود. همچنین در این نمونه ها میزان ترشی نمونه به طور قابل توجهی در طی ۴ هفته نگهداری کاهش یافته بود [۴۱]. با توجه به نتایج بدست آمده نمونه های CM3 و SPM3 برای آنالیز های بعدی انتخاب شدند.



این علت باشد که کیتوزان توانایی کاهش اسیدیته آب میوه ها و ایجاد طعمی نسبتاً تلخ دارد [۴۲]. در مورد میکروکپسول ایزوله پروتئین سویا نمونه های حاوی ۱۴ و ۲۵ میلی گرم میکروکپسول (SPM1 و SPM2) تفاوت معنی داری ( $P > / 0.05$ ) با نمونه شاهد نشان ندادند. با توجه به شکل ۶ از لحاظ پذیرش کلی نمونه های حاوی ۴ و ۵ میلی گرم نانوکپسول کیتوزان (CM2 و CM3) تفاوت معنی داری ( $P > / 0.05$ ) با نمونه شاهد نشان ندادند. در غنی سازی با میکروکپسول ایزوله پروتئین سویا نمونه حاوی ۲۵ میلی گرم میکروکپسول (SPM2) تفاوت معنی داری ( $P > / 0.05$ ) با نمونه شاهد نشان نداد. مشابه این اتفاق در پژوهش مشابه Martín-Diana و همکاران (۲۰۰۹) روی آب پرتقال غنی شده با

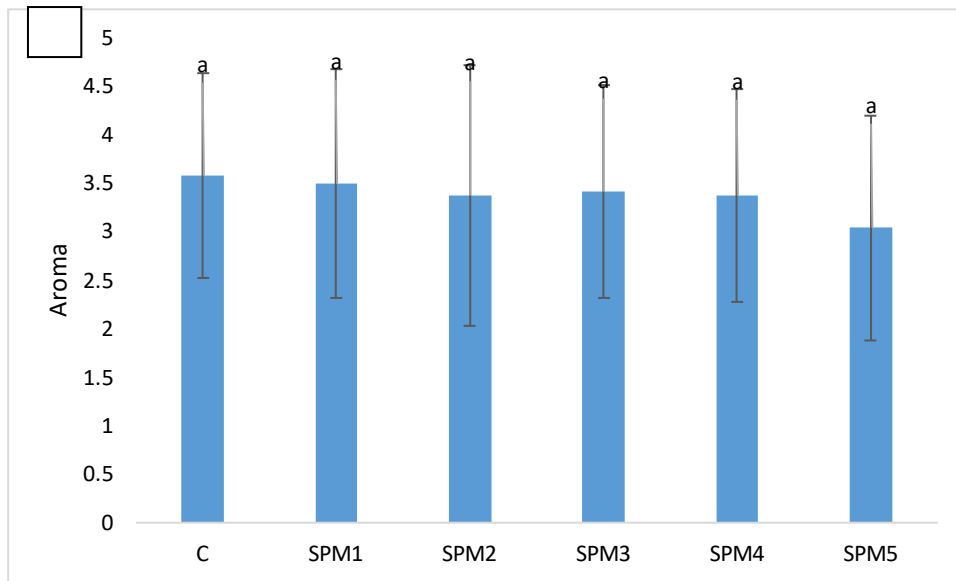
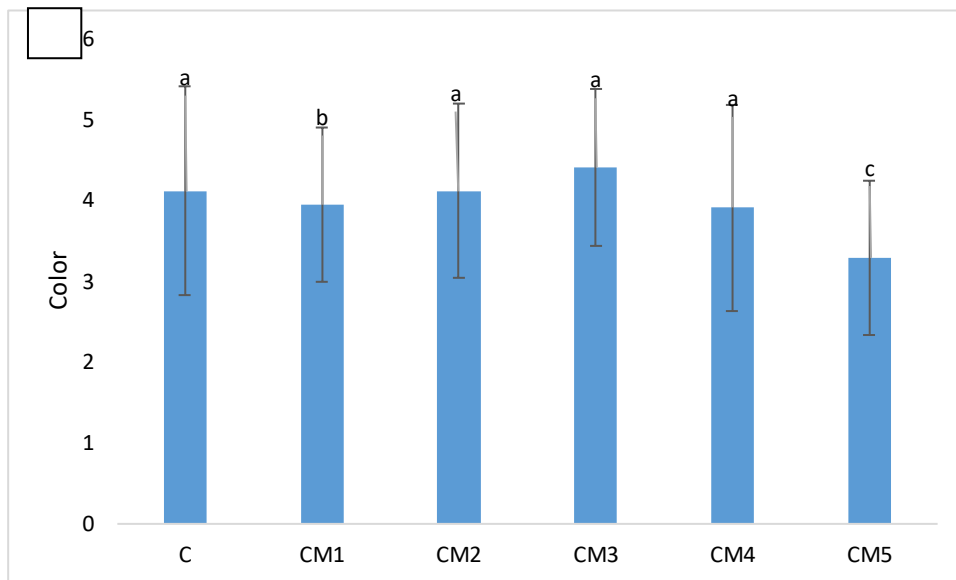


Figure 3: Aroma analysis of pomegranate juice samples enriched with (A) chitosan nanocapsules and (B) soy protein isolate microcapsules



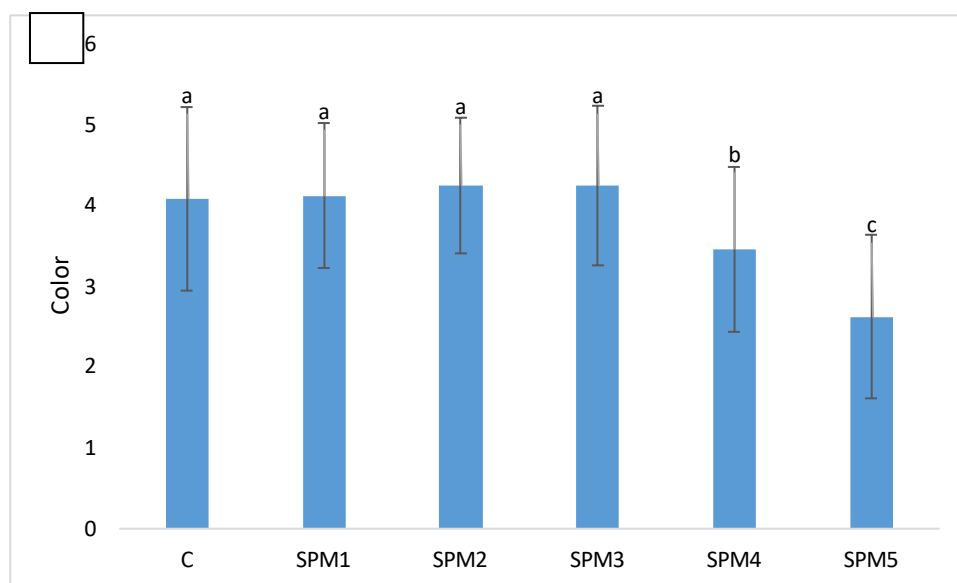
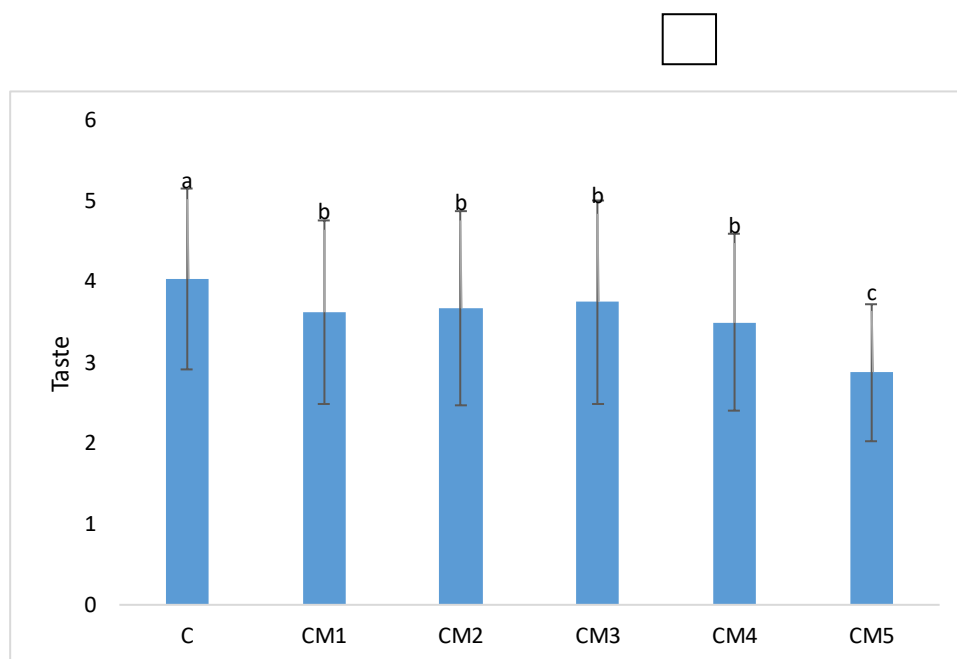


Figure 4: Color analysis of pomegranate juice samples enriched with (A) chitosan nanocapsules and (B) soy protein isolate microcapsules



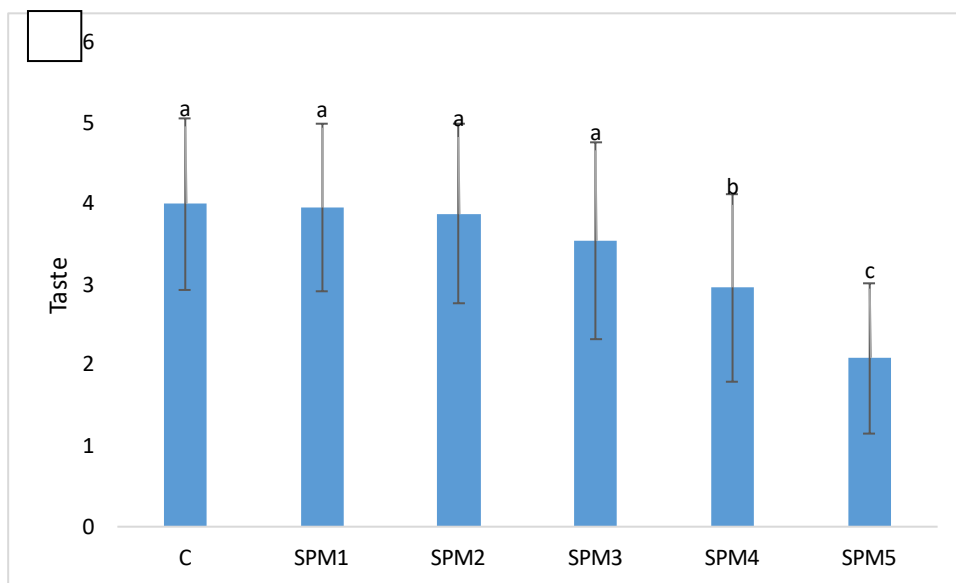
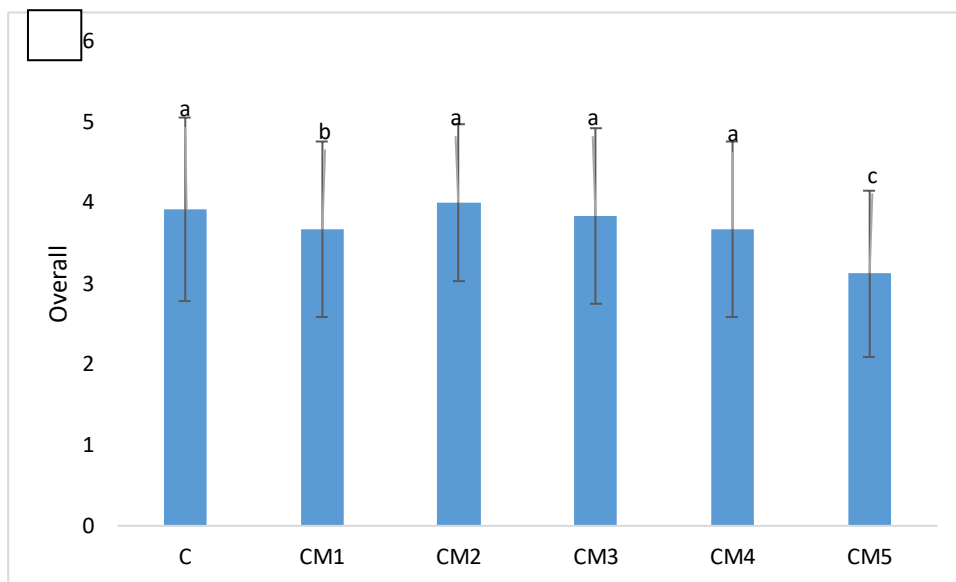


Figure 5: Taste evaluation of pomegranate juice samples enriched with (A) chitosan nanocapsules and (B) soy protein isolate microcapsules



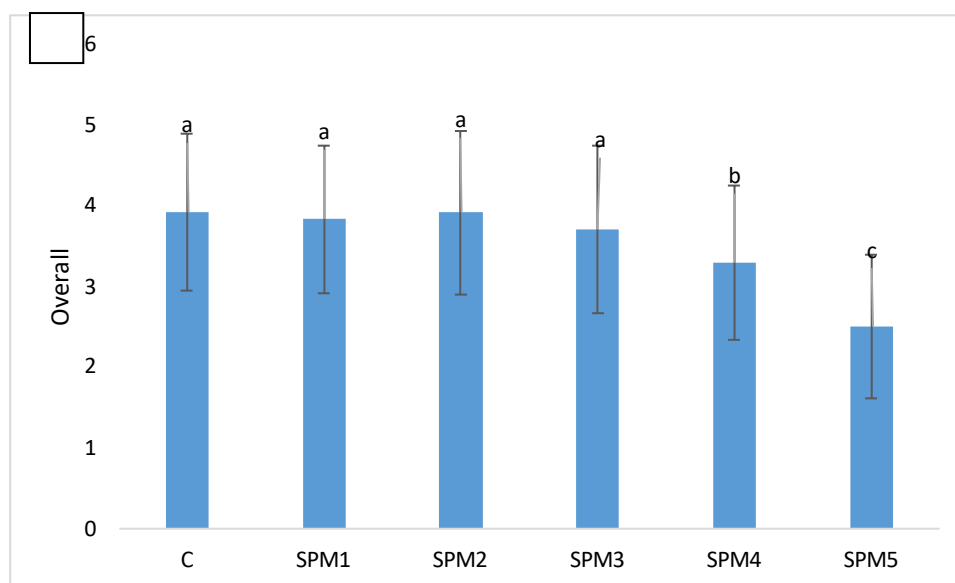


Figure 6: Overall of pomegranate juice samples enriched with (A) chitosan nanocapsules and (B) soy protein isolate microcapsules

نمونه های غنی شده با نانوکپسول کیتوزان کاهش بیشتری در pH در طول نگهداری طی مدت ۴ ماه از خود نشان دادند. احتمالاً استفاده از اسید سیتریک و اسیدهای آسکوربیک در آب میوه پاستوریزه و هم چنین استفاده از اسید اسیتیک گلاسیکال در تهیه نانوکپسول کیتوزان باعث کاهش pH در نمونه های آب انار غنی گردیده شده است [۴۵ و ۴۴]. در پژوهش Bastos و همکاران (۲۰۱۲) روی درون پوشانی آب میوه Cashew apple با استفاده از سیستم ایزوله پروتئین آب پنیر گاوی تجاری جدید و کیتوزان در خشک کردن پاششی مشابه همین نتایج مشاهده شد [۴۴]. در نمونه های غنی شده با میکروکپسول ایزوله پروتئین سویا کاهش کمتری در pH نسبت به سایر نمونه ها طی دوره نگهداری مشاهده شد. احتمالاً استفاده از محلول بافر با pH=7 برای تهیه میکروکپسول های ایزوله پروتئین سویا باعث کاهش کمتر pH در نمونه ها نسبت به سایر نمونه ها شده است.

۳- ۴- آزمون ها در طی دوره نگهداری

۳- ۴- pH

نتایج حاصل از بررسی pH تیمارها در طی ۴ ماه نگهداری در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی گراد در شکل ۷ آورده شده است. با توجه به نتایج نمونه شاهد در ماه دوم نگهداری (C2) نسبت به ماه اول افزایش pH و پس از آن تا ماه چهارم نگهداری کاهش pH را نشان داد. این می تواند به علت افزایش رشد میکروبی در نمونه ها و در پی آن افزایش اسیدیته و کاهش pH باشد. در پژوهش های مشابه Pongsarn و همکاران (۲۰۲۱) روی بررسی جنبشی مهار میکروبی دی متیل دی کربنات و ویژگی های کیفی آب انار در نگهداری سرد و پژوهش Unluturk و Atilgan (۲۰۱۵) روی ایمنی میکروبی و ماندگاری آب انگور سفید تازه فشرده شده با UV-C نیز مشابه همین نتایج مشاهده شد [۴۲ و ۴۳].

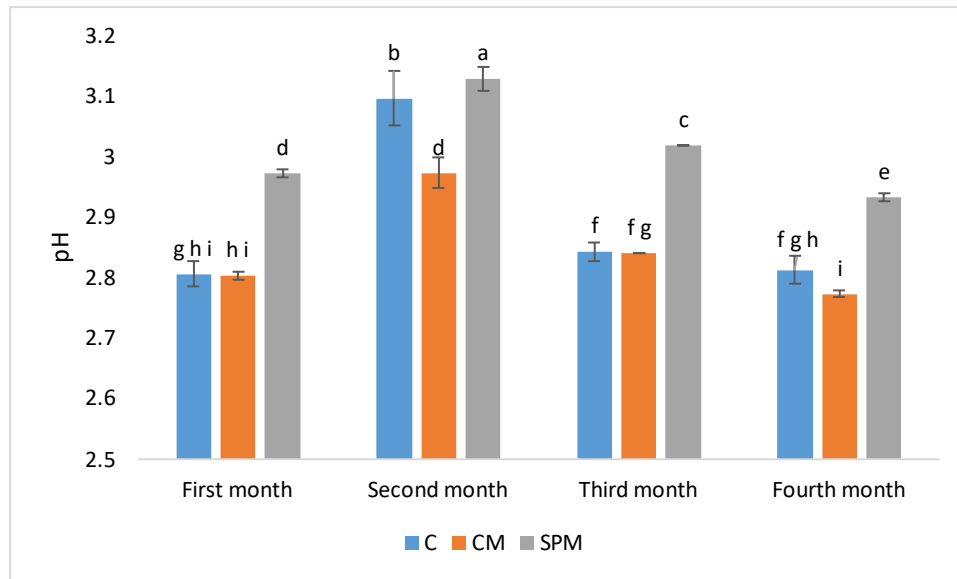


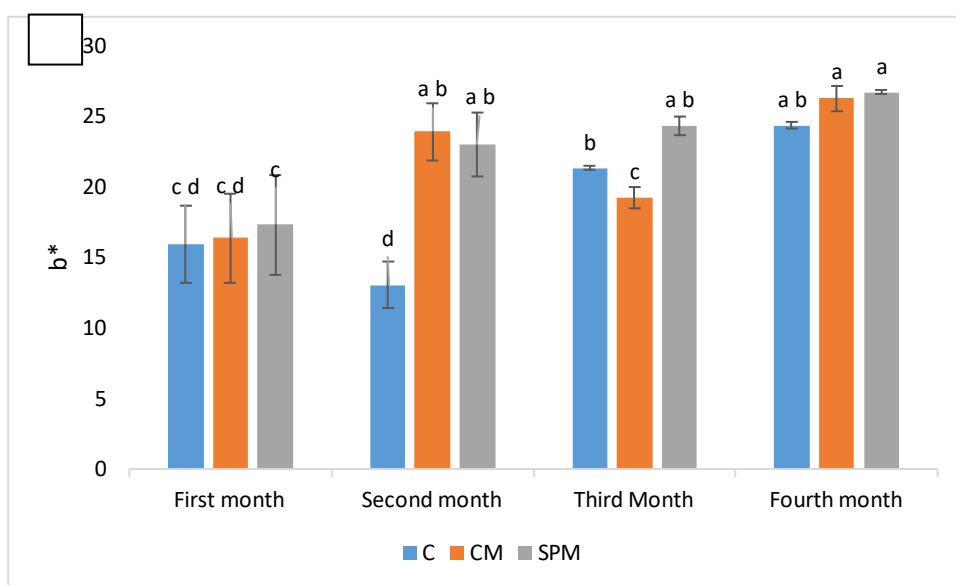
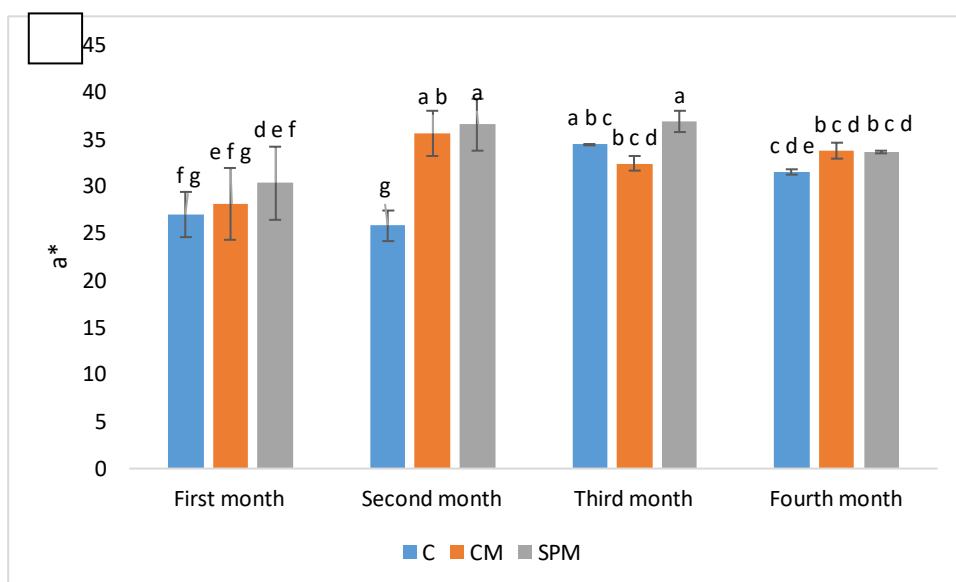
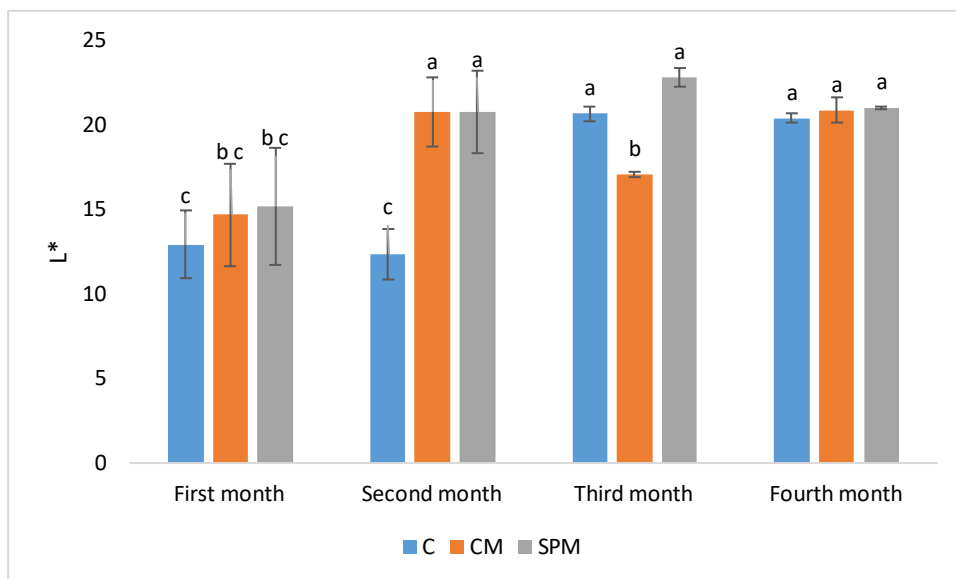
Figure 7: pH analysis of pomegranate juice samples during 4 months of storage in the refrigerator at a temperature of 4°C

### ۳- ۴- ۲- رنگ سنجی

پژوهش مشابه Celli و همکاران (۲۰۱۸) روی آناتو محصور در کمپلکس های کازئین و کیتوزان و تاثیر آن بر کیفیت رنگ آب پنیر پس از انعقاد اسیدی شیر، نیز مشاهده شد که پس از افزودن کیتوزان به نمونه ها شاخص  $a^*$  و  $b^*$  افزایش یافت اما شاخص  $L^*$  کاهش یافت [۴۶]. نمونه های غنی شده با میکروکپسول ایزوله پروتئین سویا شاخص  $L^*$  تا ماه دوم (SPM2) افزایش بیشتری از نمونه شاهد داشت و پس از آن تفاوت معنی داری ( $P > /0.05$ ) تا اواخر ماه چهارم (SPM4) نشان نداد. مشابه این حالت در مورد شاخص  $a^*$  نیز مشاهده شد با این تفاوت که در ماه چهارم (SPM4) روند کاهشی را نشان داد. در مورد شاخص  $b^*$  روند تغییر نتایج مشابه شاخص  $L^*$  بود. در مورد شاخص اختلاف رنگ، نمونه ها شدیدترین افزایش را در ماه دوم نگهداری نشان دادند و در بقیه ماه های نگهداری تفاوت معنی داری ( $P > /0.05$ ) را نشان ندادند. در پژوهش مشابه Ziobro و همکاران (۲۰۱۳) روی مکمل نان بدون گلوتن با پروتئین های غیر گلوتن و اثر بر خواص رئولوژیکی خمیر و ویژگی نان نیز مشاهده شد که در نمونه های حاوی پروتئین سویا شاخص  $a^*$  و  $b^*$  نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت اما بر شاخص  $L^*$  تاثیر قابل توجهی نداشت [۴۷].

با نتایج به نتایج شکل ۸ نمونه های شاهد در طی مدت نگهداری در مورد شاخص  $L^*$  تا ماه دوم (C2) تفاوت معنی داری ( $P > /0.05$ ) مشاهده نشد اما در ماه سوم (C3) افزایش یافت. همچنین در مورد شاخص  $a^*$  نیز همین اتفاق افتاد و قرمزی نمونه های آب انار شاهد از ماه سوم (C3) افزایش یافت. در رابطه با شاخص  $b^*$  در نمونه ها تا ماه دوم (C2)، زردی نمونه ها کاهش یافت اما از ماه سوم (C3) زردی نمونه ها افزایش یافت. در پژوهش مشابه Beaulieu و همکاران (۲۰۲۰) روی تغییرات آب انار کارخانه آزمایشی بدون کنسانتره نیز مشابه همین نتایج مشاهده شد [۳۵]. نمونه های غنی شده با نانوکپسول کیتوزان شاخص  $L^*$  تا ماه دوم (CM2) افزایش بیشتری از نمونه شاهد داشت و پس از آن تفاوت معنی داری ( $P > /0.05$ ) تا ماه چهارم (CM4) نشان نداد. مشابه این حالت در مورد شاخص  $a^*$  نیز مشاهده شد. در مورد شاخص  $b^*$  تا ماه دوم (CM2) روند افزایشی، ماه سوم (CM3) کاهش و دوباره تا اواخر ماه چهارم (CM4) افزایش یافت. در مورد شاخص اختلاف رنگ، نمونه ها افزایش شدیدی در ماه دوم نگهداری نشان دادند و در بقیه ماه های نگهداری تفاوت معنی داری ( $P > /0.05$ ) را نشان ندادند. در







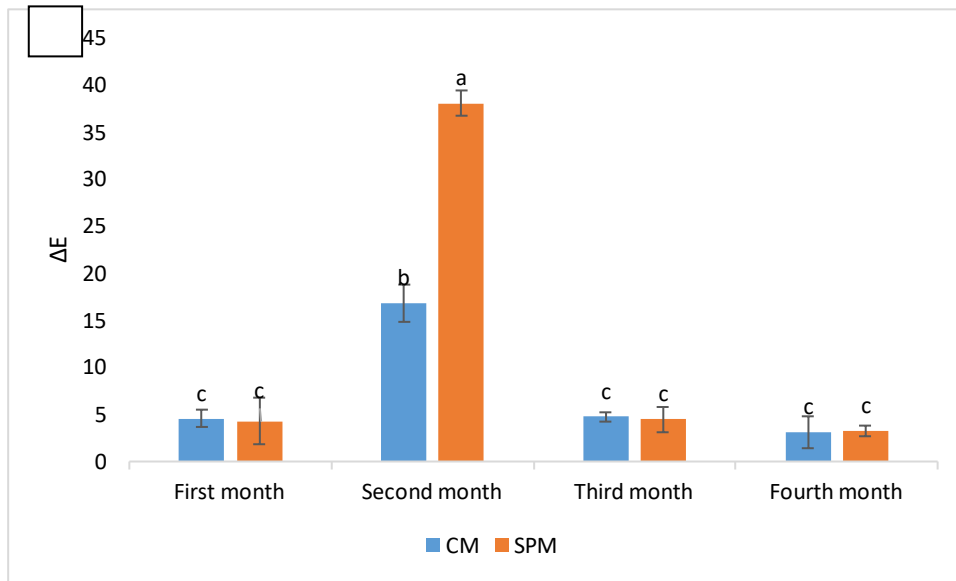


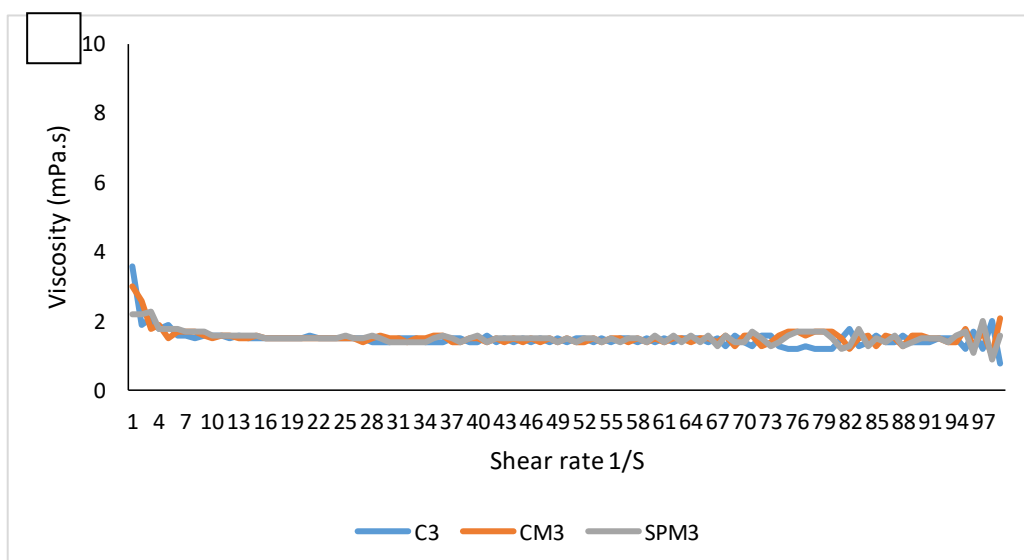
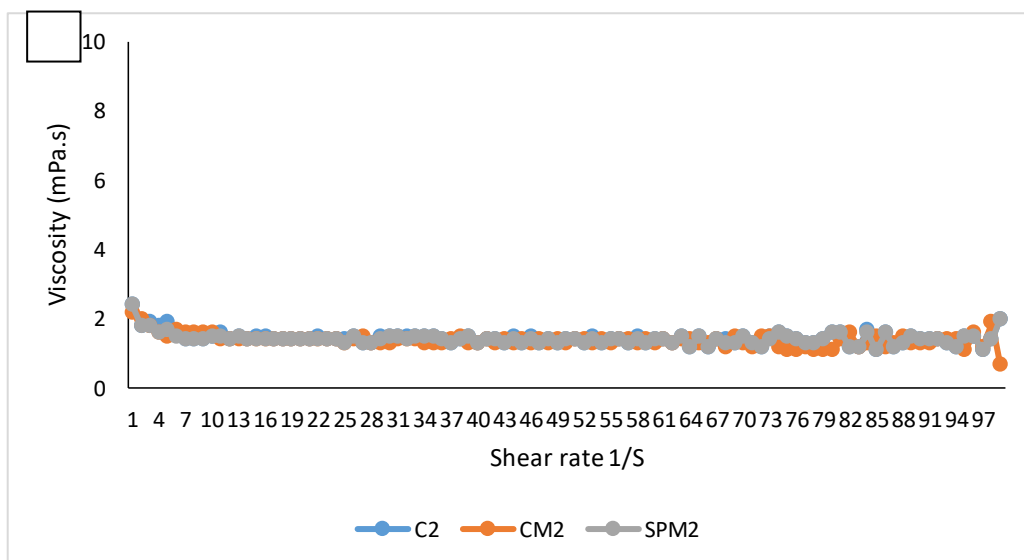
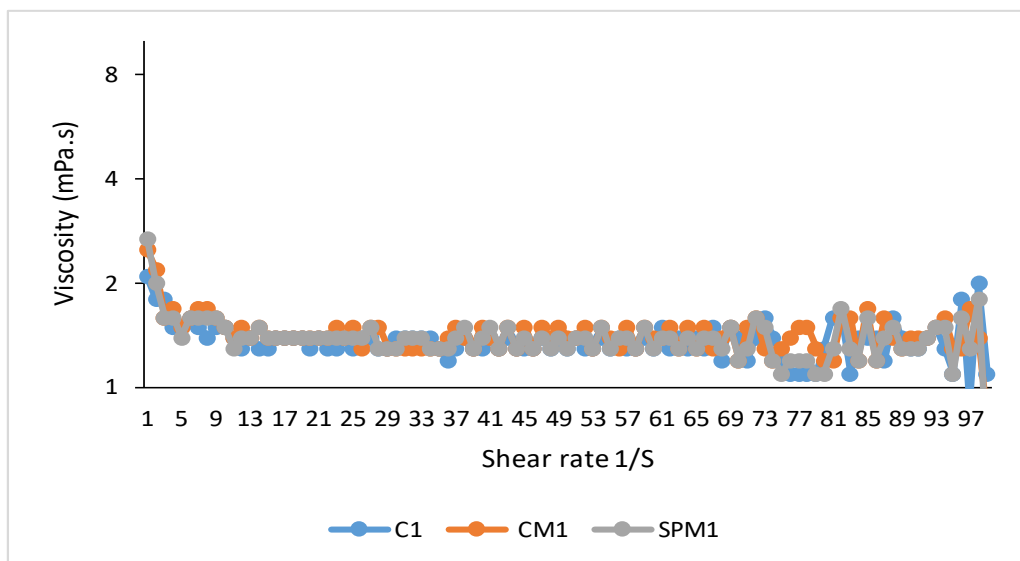
Figure 8: Examination of (A) L\* (B) a\* (C) b\* (D)  $\Delta E$  of pomegranate juice samples during 4 months of storage in the refrigerator at 4°C

گردد بود و تفاوت معنی داری ( $P > /0.05$ ) با هم نداشتند. همچنین نگهداری نمونه های شاهد و غنی شدی به مدت ۴ ماه در دمای ۴ درجه سانتی گراد تاثیری معنی دار ( $P > /0.05$ ) بر ویسکوزیته نمونه ها نداشت. در پژوهش Magerramov و همکاران (۲۰۰۷) روی تاثیر دما، غلظت و فشار بر ویسکوزیته کنسانتره آب انار و گلابی و همچنین پژوهش Hosseini و همکاران (۲۰۲۱) روی شفاف سازی آب انار در یک بیوراکتور بسته بندی شده توسط آنزیم های پکتیناز تثبیت شده روی مهره شیشه ای فعال شده با پلی ساکاریدهای پلی آلدهید، مشابه همین نتایج مشاهده شد [۴۸ و ۴۹].

۳- ۴- ۳- ویسکوزیته

نتایج حاصل از بررسی ویسکوزیته نمونه های آب انار در شکل ۹ آورده شده است. با توجه به نتایج، تمام نمونه ها جزء سیالات نیوتونی بودند و غنی سازی نمونه های آب انار با نانوکپسول های کیتوزان و یا میکروکپسول های ایزوله پروتئین سویا تاثیری بر ویسکوزیته نمونه های آب انار نداشت. مطابق نتایج شکل ۹ (A) به ترتیب ویسکوزیته نمونه های شاهد، نمونه های غنی شده با نانوکپسول های کیتوزان و میکروکپسول های ایزوله پروتئین سویا، 37/1 mPa.s و ۱/۴۳ و ۱/۳۹ در ماه اول نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی





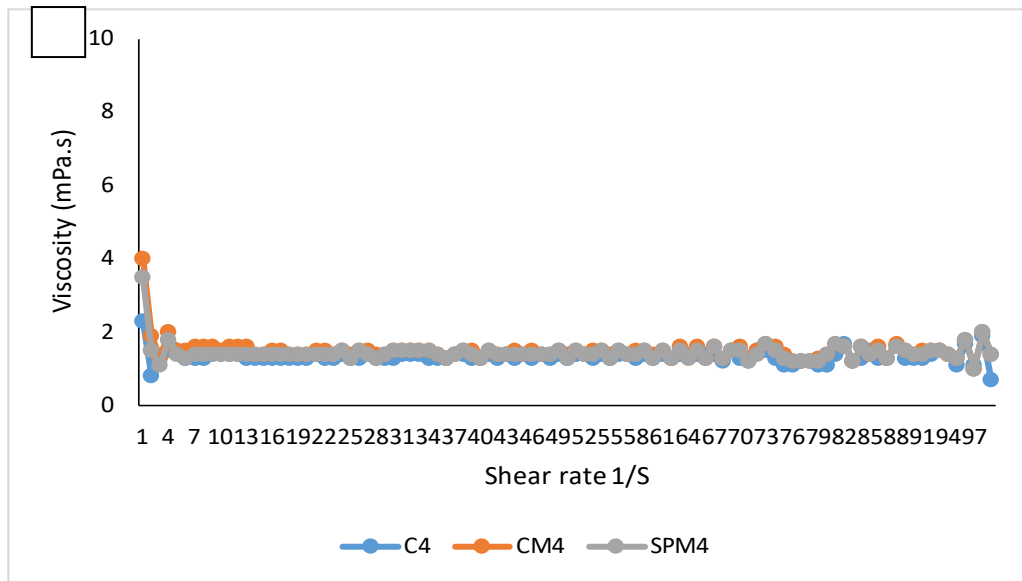


Figure 9: Checking the viscosity of pomegranate juice samples after (A) 1 month of storage, (B) 2 months of storage, (C) 3 months of storage and (D) 4 months of storage in a refrigerator at 4°C

آنتی اکسیدانی به بیشترین میزان خود نسبت به همه نمونه ها رسید و در پایان ماه چهارم نگهداری (CM4) روند کاهشی مشاهده شد. این امر ممکن است به علت درصد بازده درون پوشانی نسبتا خوب (۳۷/۲۸ درصد) ترکیبات فنولی با کیتوزان باشد. در پژوهش مشابه توسط Liu و همکاران (۲۰۲۱) روی جداسازی و درون پوشانی ترکیبات ضد باکتری از سرکه چوب، آزاد سازی ترکیبات فنولی محصور شده در کیتوزان و آلژینات تا قبل از روز دهم نگهداری افزایش شدیدی را نشان داد و پس از آن تا روز ۲۵ نگهداری آزاد سازی به صورت تدریجی افزایش یافت [۵۲]. در مورد آب انارهای غنی شده با میکروکپسول ایزوله پروتئین سویا، در اواخر ماه اول نگهداری (SPM1) فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه ها تفاوت معنی داری ( $P > / 0.05$ ) با نمونه های شاهد نشان نداد. روند تغییرات فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه ها تا اواخر ماه دوم نگهداری (SPM2) کاهشی و در اواخر ماه سوم نگهداری (SPM3) افزایشی بود و فعالیت آنتی اکسیدانی کمتری از نمونه شاهد نشان دادند که می تواند به علت توانایی بیشتر ایزوله پروتئین سویا در محصور کردن ترکیبات فنولی باشد. در پایان ماه چهارم نگهداری (SPM4) اما فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه ها از نمونه های شاهد و غنی شده با میکروکپسول کیتوزان بیشتر بود. این اتفاق ممکن

۳- ۴- فعالیت آنتی اکسیدانی

با نتایج به نتایج شکل ۱۰ نمونه های شاهد در ماه دوم نگهداری (C2) کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی را نشان دادند و در ماه سوم نگهداری (C3) فعالیت آنتی اکسیدانی آن ها افزایش یافت و تا ماه چهارم نگهداری (C4) تفاوت معنی داری ( $P > / 0.05$ ) در درصد مهار رادیکال DPPH مشاهده نشد. در پژوهش های مشابه Varela-Santos و همکاران (۲۰۱۲) روی اثر فرآوری فشار هیدرواستاتیک بالا (HHP) بر خواص فیزیکوشیمیایی، ترکیبات زیست فعال و ماندگاری آب انار در مورد نمونه های شاهد در طی مدت ۳۰ روز نگهداری در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی گراد و پژوهش Bertolini و همکاران (۲۰۲۰) روی بهینه سازی فرآیند پاستوریزاسیون فوق بحرانی CO2 برای حفظ ارزش غذایی بالای آب انار در مورد نمونه های شاهد در طی مدت ۲۸ روز نگهداری در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی گراد نیز مشابه همین نتایج مشاهده شد [۵۱ و ۵۰]. در مورد آب انارهای غنی شده با نانوکپسول کیتوزان، نمونه ها در ماه اول نگهداری (CM1) فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به نمونه های شاهد و نمونه های غنی شده با میکروکپسول ایزوله پروتئین سویا نشان دادند اما در ماه دوم نگهداری (CM2) فعالیت آنتی اکسیدانی کاهش یافت. در ماه سوم نگهداری (CM3) فعالیت

سویا و صمغ آراسیا به عنوان امولسیفایر و مواد پوشش دهنده نیز مشاهده شد پس از ۳۰ روز نگهداری با رطوبت نسبی ۳۳ درصد، میزان ماندگاری لیکوپین میکروکپسول از ۸۲ به ۷۸/۸۳ درصد کاهش یافت [۵۳].

است به علت درصد بازده درون پوشانی بیشتر (۴۵/۲۶ درصد) ترکیبات فنولی با ایزوله پروتئین سویا باشد. در پژوهش مشابه توسط Lia و همکاران (۲۰۱۵) روی درون پوشانی اولئورزین گوجه فرنگی با استفاده از ایزوله پروتئین

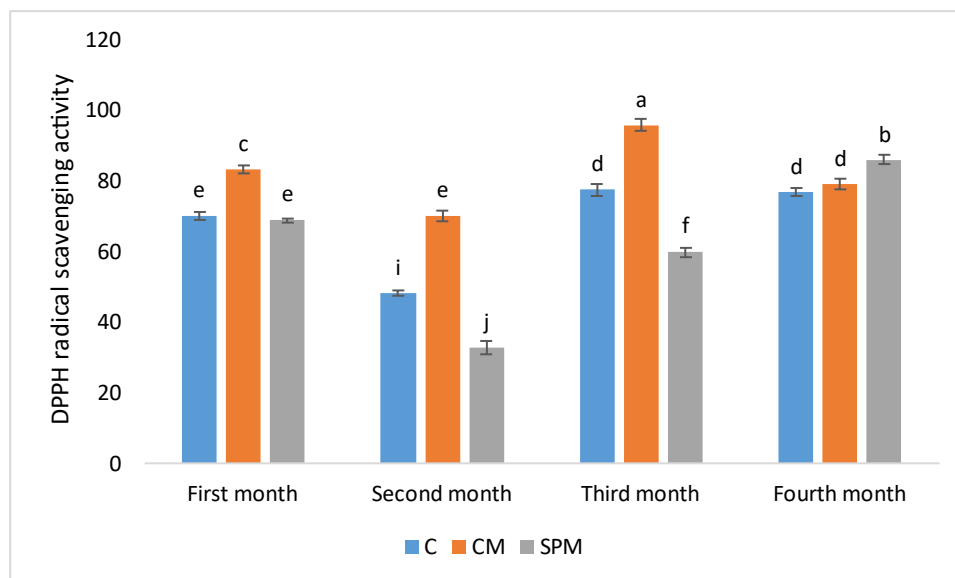


Figure 10: DPPH radical scavenging activity of pomegranate juice samples during 4 months of storage in the refrigerator at 4°C

نمونه های شاهد ایجاد نکرد اما افزایش درصد غنی سازی باعث کاهش امتیازها شد. نمونه های غنی شده با نانوکپسول کیتوزان کاهش pH بیشتر و نمونه های غنی شده با میکروکپسول ایزوله پروتئین سویا کاهش pH کمتری نسبت به نمونه های شاهد در طی دوره نگهداری نشان دادند. شاخص L تنها در اواخر ماه اول نگهداری تحت تاثیر غنی سازی نسبت به نمونه های شاهد افزایش پیدا کرد و در مابقی ماه ها تفاوت معنی داری ( $P > 0.05$ ) با نمونه شاهد نشان نداد. در مورد شاخص های a و b نمونه های غنی شده آب انار در طی مدت نگهداری افزایش را نسبت به نمونه شاهد نشان دادند. غنی سازی آب انار با نانوکپسول کیتوزان تا ۳ ماه نگهداری باعث افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه ها شد در حالی که غنی سازی با میکروکپسول ایزوله پروتئین سویا تنها در اواخر ماه چهارم باعث افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی گردید. با توجه به داده های پژوهش حاضر غنی سازی آب انار با استفاده از نانوکپسول های کیتوزان به دلیل مورفولوژی مناسب، عدم تاثیر به خصوص بر ویسکوزیته و نتایج ارزیابی

#### ۴-نتیجه گیری کلی

به طور کلی پژوهش حاضر شامل درون پوشانی ترکیبات فنولی آب ریواس با کیتوزان و ایزوله پروتئین سویا و بررسی بازده درون پوشانی و مورفولوژی ذرات و غنی سازی آب انار با درصدهای مختلفی از میکروکپسول و ارزیابی خواص حسی آن جهت انتخاب درصد غنی سازی بهینه و به دنبال آن بررسی ویژگی های آب انارهای غنی شده در طول دوره نگهداری بود. نتایج آزمون فولین سیوکالتیو درصد بازده درون پوشانی بیشتر را برای درون پوشانی ترکیبات فنولی با ایزوله پروتئین سویا (۴۵/۲۶ درصد) نشان داد. تصاویر SEM نشان داد ذرات به صورت نسبتاً کروی و با سطح نسبتاً صافی تشکیل شده اند. نتایج ارزیابی حسی نشان داد عمدتاً نمونه های حاوی کمتر از ۵ میلی گرم نانوکپسول برای نانوکپسول های کیتوزان (CM1، CM2، CM3) و کمتر از ۳۴ میلی گرم میکروکپسول برای میکروکپسول ایزوله پروتئین سویا (SPM1، SPM2، SPM3) تفاوت معنی داری ( $P > 0.05$ ) بر امتیازهای رنگ، طعم و پذیرش کلی نمونه ها با

می تواند راه حلی امیدوار کننده و اقتصادی برای نگهداری مواد غذایی باشد.

حسی، افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه ها و همچنین مورد استفاده بودن کیتوزان در صنایع مختلف در حال حاضر،

of Oil-in-water Nanoemulsions: A critical review. *Journal of Molecular Liquids*, 340, 117218.

## ۶-مراجع

- [1] Dimitreli, G., Petridis, D., Kapageridis, N., & Mixiou, M. (2019). Effect of pomegranate juice and fir honey addition on the rheological and sensory properties of kefir-type products differing in their fat content. *LWT*, 111, 799-808.
- [2] Rinaldi, M., Caligiani, A., Borgese, R., Palla, G., Barbanti, D., & Massini, R. (2013). The effect of fruit processing and enzymatic treatments on pomegranate juice composition, antioxidant activity and polyphenols content. *LWT - Food Science and Technology*, 53(1), 355-359.
- [3] Zhang, S., Hu, C., Guo, Y., Wang, X., & Meng, Y. (2021). Polyphenols in fermented apple juice: Beneficial effects on human health. *Journal of Functional Foods*, 76, 104294.
- [4] Roasa, J., De Villa, R., Mine, Y., & Tsao, R. (2021). Phenolics of cereal, pulse and oilseed processing by-products and potential effects of solid-state fermentation on their bioaccessibility, bioavailability and health benefits: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 116, 954-974.
- [5] Mikołajczak, N., Tańska, M., & Ogrodowska, D. (2021). Phenolic compounds in plant oils: A review of composition, analytical methods, and effect on oxidative stability. *Trends in Food Science & Technology*, 113, 110-138.
- [6] Carrasco-Sandoval, J., Aranda-Bustos, M., Henríquez-Aedo, K., López-Rubio, A., & Fabra, M. J. (2021). Bioaccessibility of different types of phenolic compounds co-encapsulated in alginate/chitosan-coated zein nanoparticles. *LWT*, 149, 112024.
- [7] Das, P. R., Islam, M. T., Lee, S.-H., Lee, M.-K., Kim, J.-B., & Eun, J.-B. (2020). UPLC-DAD-QToF/MS analysis of green tea phenolic metabolites in their free, esterified, glycosylated, and cell wall-bound forms by ultra-sonication, agitation, and conventional extraction techniques. *LWT*, 127, 109440.
- [8] Smaoui, S., Ben Hlima, H., Ben Braïek, O., Ennouri, K., Mellouli, L., & Mousavi Khaneghah, A. (2021). Recent advancements in encapsulation of bioactive compounds as a promising technique for meat preservation. *Meat Science*, 181, 108585.
- [9] Marhamati, M., Ranjbar, G., & Rezaie, M. (2021). Effects of emulsifiers on the physicochemical stability of Oil-in-water Nanoemulsions: A critical review. *Journal of Molecular Liquids*, 340, 117218.
- [10] Delshadi, R., Bahrami, A., Tafti, A. G., Barba, F. J., & Williams, L. L. (2020). Micro and nano-encapsulation of vegetable and essential oils to develop functional food products with improved nutritional profiles. *Trends in Food Science & Technology*, 104, 72-83.
- [11] Miao, Q., Mi, Y., Cui, J., Zhang, J., Tan, W., Li, Q., & Guo, Z. (2021). Determination of chitosan content with Schiff base method and HPLC. *International Journal of Biological Macromolecules*, 182, 1537-1542.
- [12] Shoueir, K. R., El-Desouky, N., Rashad, M. M., Ahmed, M. K., Janowska, I., & El-Kemary, M. (2021). Chitosan based-nanoparticles and nanocapsules: Overview, physicochemical features, applications of a nanofibrous scaffold, and bioprinting. *International Journal of Biological Macromolecules*, 167, 1176-1197.
- [13] Kashyap, P. L., Xiang, X., & Heiden, P. (2015). Chitosan nanoparticle based delivery systems for sustainable agriculture. *International Journal of Biological Macromolecules*, 77, 36-51.
- [14] Li, W., Wang, Y., Li, J., Jiao, Y., & Chen, J. (2019). Synergistic and competitive effects of monoglycerides on the encapsulation and interfacial shear rheological behavior of soy proteins. *Food Hydrocolloids*, 89, 631-636.
- [15] Tian, H., Guo, G., Fu, X., Yao, Y., Yuan, L., & Xiang, A. (2018). Fabrication, properties and applications of soy-protein-based materials: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 120, 475-490.
- [16] Zhu, H., Mettu, S., Rahim, M. A., Cavalieri, F., & Ashokkumar, M. (2021). Insight into the structural, chemical and surface properties of proteins for the efficient ultrasound assisted co-encapsulation and delivery of micronutrients. *Food Chemistry*, 362, 130236.
- [17] Akgün, D., Gültekin-Özgülven, M., Yücepete, A., Altın, G., Gibis, M., Weiss, J., & Özçelik, B. (2020). Stirred-type yoghurt incorporated with sour cherry extract in chitosan-coated liposomes. *Food Hydrocolloids*, 101, 105532.
- [18] Darrudi, R., Hassandokht, M. R., & Nazeri, V. (2015). Effects of moist stratification, GA3 and seed age on seed germination of *Rheum khorasanicum* B. Baradaran & A. Jafari. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2(4), 168-173.

- [19] Noori, S., Kiasat, A. R., Kolahi, M., Mirzajani, R., & Seyyed Nejad, S. M. (2022). Determination of secondary metabolites including curcumin in *Rheum ribes* L. and surveying of its antioxidant and anticancer activity. *Journal of Saudi Chemical Society*, 26(3), 101479.
- [20] Öztürk, M., Aydoğmuş-Öztürk, F., Duru, M. E., & Topçu, G. (2007). Antioxidant activity of stem and root extracts of *Rhubarb* (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food Chemistry*, 103(2), 623-630.
- [21] Paul, A., & Radhakrishnan, M. (2020). Pomegranate seed oil in food industry: Extraction, characterization, and applications. *Trends in Food Science & Technology*, 105, 273-283.
- [22] Kalaycıoğlu, Z., & Erim, F. B. (2017). Total phenolic contents, antioxidant activities, and bioactive ingredients of juices from pomegranate cultivars worldwide. *Food Chemistry*, 221, 496-507.
- [23] Türkyılmaz, M., Hamzaoğlu, F., & Özkan, M. (2021). Effects of pasteurization and storage on turbidity and copigmentation in pomegranate juices clarified with various hydrocolloid combinations. *Food Chemistry*, 358, 129803.
- [24] Putnik, P., Kresoja, Ž., Bosiljkov, T., Režek Jambrak, A., Barba, F. J., Lorenzo, J. M., Roohinejad, S., Granato, D., Žuntar, I., & Bursać Kovačević, D. (2019). Comparing the effects of thermal and non-thermal technologies on pomegranate juice quality: A review. *Food Chemistry*, 279, 150-161.
- [25] Bhagat, B., & Chakraborty, S. (2022). Potential of pulsed light treatment to pasteurize pomegranate juice: Microbial safety, enzyme inactivation, and phytochemical retention. *LWT*, 159, 113215.
- [26] Qadri Q, Fatahimi M and Alirezalu A, (2017) "Study of phytochemical and antioxidant characteristics of different rhubarb (*Rheum ribes* L.) genotypes collected from different regions of Iran" *Journal of Food Industry Research*, No. 4: 73-88
- [27] Gaber Ahmed, G. H., Fernández-González, A., & Díaz García, M. E. (2020). Nano-encapsulation of grape and apple pomace phenolic extract in chitosan and soy protein via nanoemulsification. *Food Hydrocolloids*, 108, 105806.
- [28] Kavousi, H. R., Fathi, M., & Goli, S. A. H. (2017). Stability enhancement of fish oil by its encapsulation using a novel hydrogel of cress seed mucilage/chitosan. *International Journal of Food Properties*, 20(sup2), 1890-1900.
- [29] Oliveira, A., Pintado, M., & Almeida, D. P. F. (2012). Phytochemical composition and antioxidant activity of peach as affected by pasteurization and storage duration. *LWT - Food Science and Technology*, 49(2), 202-207.
- [30] Aghdam, M. S., Luo, Z., Li, L., Jannatizadeh, A., Fard, J. R., & Pirzad, F. (2020). Melatonin treatment maintains nutraceutical properties of pomegranate fruits during cold storage. *Food Chemistry*, 303, 125385.
- [31] Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., & Hosseini, S. M. H. (2010). Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry*, 122(1), 161-166.
- [32] Bursać Kovačević, D., Putnik, P., Dragović-Uzelac, V., Pedisić, S., Režek Jambrak, A., & Herceg, Z. (2016). Effects of cold atmospheric gas phase plasma on anthocyanins and color in pomegranate juice. *Food Chemistry*, 190, 317-323.
- [33] Oliveira, W. Q. d., Wurlitzer, N. J., Araújo, A. W. d. O., Comunian, T. A., Bastos, M. d. S. R., Oliveira, A. L. d., Magalhães, H. C. R., Ribeiro, H. L., Figueiredo, R. W. d., & Sousa, P. H. M. d. (2020). Complex coacervates of cashew gum and gelatin as carriers of green coffee oil: The effect of microcapsule application on the rheological and sensorial quality of a fruit juice. *Food Research International*, 131, 109047.
- [34] Shen, Y., Zhu, D., Xi, P., Cai, T., Cao, X., Liu, H., & Li, J. (2021). Effects of temperature-controlled ultrasound treatment on sensory properties, physical characteristics and antioxidant activity of cloudy apple juice. *LWT*, 142, 111030.
- [35] Beaulieu, J. C., Lloyd, S. W., & Obando-Ulloa, J. M. (2020). Not-from-concentrate pilot plant 'Wonderful' cultivar pomegranate juice changes: Quality. *Food Chemistry*, 318, 126453.
- [36] Ran, L., Chi, Y., Huang, Y., He, Q., & Ren, Y. (2020). Synergistic antioxidant effect of glutathione and edible phenolic acids and improvement of the activity protection by coencapsulation into chitosan-coated liposomes. *LWT*, 127, 109409.
- [37] Delfanian, M., Razavi, S. M. A., Haddad Khodaparast, M. H., Esmailzadeh Kenari, R., & Golmohammadzadeh, S. (2018). Influence of main emulsion components on the physicochemical and functional properties of W/O/W nano-emulsion: Effect of polyphenols, Hi-Cap, basil seed gum, soy and whey protein isolates. *Food Research International*, 108, 136-143.
- [38] Gopalakrishnan, L., Ramana, L. N., Sethuraman, S., & Krishnan, U. M. (2014). Ellagic acid encapsulated chitosan nanoparticles as anti-hemorrhagic agent. *Carbohydrate Polymers*, 111, 215-221.
- [39] Di Giorgio, L., Salgado, P. R., & Mauri, A. N. (2019). Encapsulation of fish oil in soybean protein

- particles by emulsification and spray drying. *Food Hydrocolloids*, 87, 891-901.
- [40] Martín-Diana, A. B., Rico, D., Barat, J. M., & Barry-Ryan, C. (2009). Orange juices enriched with chitosan: Optimisation for extending the shelf-life. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(4), 590-600.
- [41] Potter, R. M., Dougherty, M. P., Halteman, W. A., & Camire, M. E. (2007). Characteristics of wild blueberry-soy beverages. *LWT - Food Science and Technology*, 40(5), 807-814.
- [42] Jafari, S., Pongsarn, K., Srestasupana, C., Wetchasart, N., & Assatarakul, K. (2021). Kinetic study of microbial inhibition by dimethyl dicarbonate and quality attributes of pomegranate juice during cold storage. *LWT*, 152, 112309.
- [43] Unluturk, S., & Atilgan, M. R. (2015). Microbial Safety and Shelf Life of UV-C Treated Freshly Squeezed White Grape Juice. *J Food Sci*, 80(8), M1831-1841.
- [44] Bastos, D. d. S., Gonçalves, M. d. P., Andrade, C. T. d., Araújo, K. G. d. L., & Rocha Leão, M. H. M. d. (2012). Microencapsulation of cashew apple (*Anacardium occidentale*, L.) juice using a new chitosan-commercial bovine whey protein isolate system in spray drying. *Food and Bioprocess Processing*, 90(4), 683-692.
- [45] Kunjumon, R., Viswanathan, G., & Baby, S. (2021). Biocompatible madecassoside encapsulated alginate chitosan nanoparticles, their anti-proliferative activity on C6 glioma cells. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 2, 100106.
- [46] Celli, G. B., Ravanfar, R., Kaliappan, S., Kapoor, R., & Abbaspourrad, A. (2018). Annatto-entrapped casein-chitosan complexes improve whey color quality after acid coagulation of milk. *Food Chemistry*, 255, 268-274.
- [47] Ziobro, R., Witczak, T., Juszcak, L., & Korus, J. (2013). Supplementation of gluten-free bread with non-gluten proteins. Effect on dough rheological properties and bread characteristic. *Food Hydrocolloids*, 32(2), 213-220.
- [48] Hosseini, S. S., Khodaiyan, F., Mousavi, S. M., & Azimi, S. Z. (2021). Clarification of the pomegranate juice in a bioreactor packed by pectinase enzymes immobilized on the glass bead activated with polyaldehyde polysaccharides. *LWT*, 137, 110500.
- [49] Magerramov, M. A., Abdulagatov, A. I., Azizov, N. D., & Abdulagatov, I. M. (2007). Effect of temperature, concentration, and pressure on the viscosity of pomegranate and pear juice concentrates. *Journal of Food Engineering*, 80(2), 476-489.
- [50] Varela-Santos, E., Ochoa-Martinez, A., Tabilo-Munizaga, G., Reyes, J. E., Pérez-Won, M., Briones-Labarca, V., & Morales-Castro, J. (2012). Effect of high hydrostatic pressure (HHP) processing on physicochemical properties, bioactive compounds and shelf-life of pomegranate juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 13, 13-22.
- [51] Bertolini, F. M., Morbiato, G., Facco, P., Marszałek, K., Pérez-Esteve, É., Benedito, J., Zambon, A., & Spilimbergo, S. (2020). Optimization of the supercritical CO<sub>2</sub> pasteurization process for the preservation of high nutritional value of pomegranate juice. *The Journal of Supercritical Fluids*, 164, 104914.
- [52] Liu, X., Cui, R., Shi, J., Jiang, Q., Gao, J., Wang, Z., & Li, X. (2021). Separation and microencapsulation of antibacterial compounds from wood vinegar. *Process Biochemistry*, 110, 275-281.
- [53] Li, C., Wang, J., Shi, J., Huang, X., Peng, Q., & Xue, F. (2015). Encapsulation of tomato oleoresin using soy protein isolate-gum aracia conjugates as emulsifier and coating materials. *Food Hydrocolloids*, 45, 301-308.





## Scientific Research

**Subject: Encapsulation of phenolic compounds of rhubarb's juice and their effects on the properties of pomegranate's juice**

Hossein Zarei Manesh<sup>1</sup>, Kambiz Jahanbin<sup>2</sup>, Rajaei Najafabadi<sup>3</sup>

1- Master's student of Food Industry Science and Engineering, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Iran

2- Associate Professor in Food Science and Technology, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Engineering, Shahrood University of Technology, P.O. Box 361999-5161, Shahrood, Iran

3- A., Associate Professor, Food Technology, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Iran

## ARTICLE INFO

## ABSTRACT

**Article History:**

Received: 2024/1/14

Accepted: 2024/4/22

**Keywords:**

encapsulation,  
Phenolic compounds,  
Rheum's juice,  
Chitosan,  
Soy protein isolate

**DOI:** 10.22034/FSCT.21.151.126.

\*Corresponding Author E-Mail:

The purpose of this research is to encapsulate the phenolic compounds of rhubarb stem's juice with chitosan and soy protein isolate and checking their effects on the properties of pomegranate juice. For this purpose, the phenolic compounds of rhubarb stem's juice were extracted by methanol and encapsulated with chitosan and soy protein isolate by nanoemulsion method, and finally the resulting microcapsules and nanocapsules were used to enrich pomegranate juice samples. The highest percentage of encapsulation efficiency of phenolic compounds was with soy protein isolate (45.26%). The results of SEM images showed that the particles were relatively spherical and with a relatively smooth surface, also chitosan nanocapsules with an average size of 281.4 nm and soy protein isolate microcapsules with an average size of 22.33  $\mu\text{m}$  were formed. The results of pH analysis showed that the samples enriched with chitosan nanocapsules and soy protein isolate microcapsules showed more and less pH decrease than the control samples during the storage period. The results of DPPH radical scavenging activity showed that the enrichment of pomegranate juice with chitosan nanocapsules increased the antioxidant activity of the samples for up to 3 months of storage.