

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و پایداری بتانین ریزپوشانی شده به روش خشک کردن پاششی در پاستیل

ساجد امجدی^۱، لیلا روفه گری نژاد^{۲*}، حامد همیشه کار^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

۳- دانشیار مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۶/۰۶/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۷/۲۵)

چکیده

بتانین به عنوان یک افزودنی غذایی ترکیبی زیست فعال بوده و ایمنی غذایی آن تایید شده است. ولی با توجه به ناپایداری این ترکیب و زیست دسترسی پایین آن کاربرد بالقوه آن در صنعت غذا، دارو و لوازم آرایشی محدود می باشد. بنا به این دلایل در این مطالعه از ریزپوشانی برای افزایش پایداری بتانین استفاده شده و بتانین آزاد و ریزپوشانی شده با مالتودکسترین در دو غلظت ۰/۵ و ۱ درصد وزنی/وزنی ترکیب پاستیل استفاده گردید. بررسی پایداری میزان بتانین و درصد بازدارندگی در برابر DPPH در طول مدت نگهداری ۴ هفته ای نشان داد، که میزان بتانین و درصد بازدارندگی در برابر DPPH در پاستیل حاوی بتانین ریزپوشانی شده به طور معنی داری بیشتر از پاستیل حاوی بتانین آزاد پایدار می باشد ($P < 0/05$). اختلاف بین فعالیت آبی نمونه های حاوی بتانین ریزپوشانی شده و آزاد معنی داری بوده ($P < 0/05$) و ریزپوشانی بتانین باعث کاهش فعالیت آبی پاستیل شد. بررسی پارامترهای رنگی نمونه های پاستیل نیز نشان داد که ریزپوشانی بتانین باعث افزایش روشنایی (L^*) و زردی (b^*) و کاهش قرمزی (a^*) نمونه های پاستیل شده است. نتایج حاصل از ارزیابی حسی نمونه های پاستیل نیز نشان داد به رغم پذیرش حسی پایین نمونه ی پاستیل حاوی ۱ گرم بتانین آزاد، ریزپوشانی بتانین باعث بهبود ویژگی های حسی پاستیل شده و بیشترین امتیاز پذیرش کلی به نمونه حاوی ۱ گرم بتانین ریزپوشانی شده تعلق گرفت.

کلید واژگان: بتانین، پاستیل، پایداری، چغندر قرمز، ریزپوشانی

* مسئول مکاتبات: l.roufegari@iaut.ac.ir

۱- مقدمه

بتالائین‌ها به عنوان رنگدانه‌های طبیعی عمدتاً در چغندر قرمز و چند گونه گیاهی دیگر مثل گل تاج خروس، گل رز و گلابی هندی وجود دارند [۱]. بتانین قسمت عمده بتالائین‌ها (۹۵-۷۵٪) را تشکیل می‌دهد، که توسط اتحادیه اروپا به عنوان یک رنگ غذایی تحت عنوان E162 معرفی شده است، همچنین سازمان غذا و دارو ایالات متحده (FDA^۱) این رنگدانه را برای مصرف در محصولات لبنی مانند ماست، بستنی و برخی دیگر از محصولات غذایی مثل آب‌نبات، پاستیل، دسرهای ژلاتینی، پودرهای آماده نوشیدنی، سس و فرآورده‌های گوشتی پیشنهاد داده است [۲]. بتانین شامل گروه‌های فنلی و آمینی حلقوی بوده و دارای فعالیت بالای مهار رادیکال‌های آزاد می‌باشد [۳]. بتانین در غلظت‌های پایین مانع پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش فعالیت آنزیم‌های کبد شده و دارای خواص ضد سرطانی، ضد التهابی نیز می‌باشد. همچنین این ترکیب با تحریک انسولین بعد از مصرف مواد غذایی باعث کاهش قابل توجهی از قند خون می‌شود. ولی مشکل اصلی در مصرف بتانین، پایین بودن پایداری و زیست فراهمی^۲ این ترکیب می‌باشد [۴، ۵ و ۶]. به طور کلی پایداری بتانین تحت تأثیر فاکتورهایی مانند فعالیت آبی، نور، آنزیم، pH، درجه حرارت، یون‌های فلزی و اکسیژن قرار دارد [۷]. با توجه به ناپایداری بتانین، بیش‌تر تحقیقات بر روی عوامل و روش‌های پایدارکننده آن متمرکز شده است، یکی از این روش‌ها ریزپوشانی می‌باشد که برای حفاظت، تثبیت و کنترل رهایش ترکیبات غذایی حساس استفاده می‌شود [۸]. انتخاب روش و مواد دیواره‌ای مناسب در ریزپوشانی ترکیبات فعال باعث پایداری آن‌ها در برابر عوامل مخرب مثل حرارت، نور و pH می‌گردد [۹]. ریزپوشانی با استفاده از خشک‌کن پاششی رایج‌ترین روش حفظ مواد فعال و حساس بوده که موجب افزایش پایداری این مواد می‌شود. این روش دارای چهار مرحله آماده‌سازی امولسیون با مخلوط دیواره و هسته، همگن‌سازی امولسیون حاصله، پاشش امولسیون توسط نازل در محفظه تبخیر و در نهایت آگیری از ذرات پاشیده شده توسط هوای داغ و تولید ذرات ریز جامد می‌باشد [۱۰]. در این روش از مواد متنوعی به صورت تکی یا ترکیبی به عنوان

پوشش‌دهنده استفاده می‌شود. موادی که به عنوان دیواره یا پوشش در ریزپوشانی با خشک‌کن پاششی به کار می‌روند باید به خوبی محلول در آب باشند و به همین دلیل موادی هم‌چون صمغ عربی، مالتودکسترین‌ها، نشاسته‌های تغییر یافته و مخلوط آن‌ها در این روش کاربرد فراوانی دارند [۱۱، ۱۲ و ۱۳].

در سال‌های اخیر در زمینه پایداری بتانین مطالعات متعددی انجام گرفته و از انواع روش‌های خشک کردن و حامل‌ها برای ریزپوشانی این ترکیب استفاده گردیده و ریزپوشانی را روشی مناسب برای پایداری این ترکیب گزارش کرده‌اند که باعث افزایش کاربرد این مولکول رنگی و زیست فعال در زمینه‌های غذایی، دارویی و آرایشی می‌گردد [۹، ۱۳، ۱۴ و ۱۵]. همچنین نتایج حاصل از مطالعاتی که از بتانین و عصاره‌های حاوی آن به عنوان ترکیبی فعال و رنگ طبیعی در محصولات غذایی نظیر نوشیدنی‌ها [۱۰]، شیر [۱۶]، ماست [۱۷]، آدامس [۱۸] و پاستیل [۱۹ و ۲۰] استفاده شده نشان داد، که این رنگدانه جایگزینی مناسب برای رنگ‌های سنتتیک بوده و باعث بهبود ویژگی‌های تغذیه‌ای محصولات غذایی می‌گردد.

با توجه به اینکه رویکرد به کارگیری بتانین ریزپوشانی شده در مدل‌های غذایی کم‌تر مورد توجه قرار گرفته است، در پژوهش حاضر، بتانین استخراج شده از چغندر قرمز با مالتودکسترین و با استفاده از روش خشک‌کردن پاششی ریزپوشانی شده و به منظور بهبود ویژگی‌های تغذیه‌ای در پاستیل استفاده گردید و پایداری میزان بتانین و خاصیت آنتی اکسیدانی پاستیل در طول مدت نگهداری مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد اولیه

بتانین، شربت گلوکز، اسید سیتریک، DPPH (Sigma)، آلمان، ژلاتین (Merck، آلمان) تهیه گردید. چغندر قرمز مورد استفاده در بهمن ماه ۱۳۹۵ از بازار محلی، مالتودکسترین و شکر مورد نیاز نیز از فروشگاه‌های سطح شهر تبریز خریداری شد.

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- استخراج و ریزپوشانی بتانین

چغندر قرمز بعد از شستشو و پوست‌گیری به صورت خلال در آمده، در محل تاریک و در دمای اتاق به مدت یک هفته تا

1. Food and Drug Administration
2. Bioavailability

بتانین خشک شده در ظرف‌های پلاستیکی در دمای اتاق تا زمان انجام آزمایشات نگهداری شد.

۲-۲-۲- تعیین درصد خلوص بتانین استخراج شده

برای اطمینان از بالا بودن درصد خلوص بتانین استخراج شده از چغندر قرمز و محاسبه‌ی دقیق میزان بتانین آن، ابتدا منحنی استاندارد بتانین رسم شد. برای این منظور ۲۰ میلی‌گرم بتانین در ۵ میلی‌لیتر آب حل شد و غلظت‌های مختلفی از آن تهیه شد (۴۰۰، ۸۰۰، ۱۲۰۰، ۲۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر). سپس جذب هر کدام از آن‌ها توسط دستگاه اسپکتوفتومتر نور مرئی در طول موج ۵۳۸ نانومتر (حداکثر جذب بتانین) خوانده شده و منحنی استاندارد بتانین رسم گردید. و با جاگذاری مقادیر جذب غلظت‌های معین پودرهای بتانین تهیه شده در معادله‌ی منحنی استاندارد بتانین، میزان بتانین محاسبه گردیده و به صورت درصد خلوص پودرهای بتانین تهیه شده گزارش شد [۱۰].

۲-۲-۳- تولید پاستیل

جهت تولید پاستیل، ابتدا شکر در آب مقطر تحت اعمال حرارت حل شده و سپس شربت گلوکز نیز به آن اضافه گردید. ژلاتین حل شده به روش بن ماری به محلول شکر و گلوکز اضافه شده و تا غلیظ شدن محلول تحت اعمال حرارت قرار گرفت. بعد از افزودن اسید سیتریک و اسانس آلبالو مخلوط تهیه شده بدون اعمال حرارت روی همزن مغناطیسی جهت کاهش دما قرار گرفت. سپس با رسیدن دمای مخلوط به کمتر از ۴۰ درجه سانتی‌گراد پودرهای بتانین در دو مقدار ۰/۵ و ۱ درصد وزنی/ وزنی به آن اضافه گردید، سپس مخلوط نهایی درون قالب‌هایی ریخته شده و قالب‌ها به مدت ۲ ساعت درون یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد جهت بستن ژل قرار گرفتند. سپس ژل حاصل از درون حفره‌های قالب خارج گردیده و نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد درون آون خشک شدند [۲۲].

رسیدن به وزن ثابت خشک گردید و سپس با آسیاب به صورت پودر درآمد. برای استخراج بتانین، پودر چغندر قرمز تهیه شده به نسبت ۱ به ۱۰ با آب مقطر به مدت ۳۰ دقیقه با همزن مغناطیسی (مدل Heidolph، ساخت کشور آلمان) مخلوط گردیده و سپس به مدت ۲۰ دقیقه بدون اعمال حرارت در حمام اولتراسونیک (مدل Parsonic 30s، ساخت کشور ایران) با فرکانس ۲۸ کیلوهرتز قرار گرفت. عصاره بتانینی بدست آمده با کاغذ صافی واتمن و پمپ خلأ (مدل Milipore، ساخت کشور فرانسه) صاف گردیده و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با ۷۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ (مدل PIT320، ساخت کشور ایران) شد [۲۱].

برای ریزپوشانی بتانین، مالتودکسترین به نسبت ۳ به ۱۰ به بتانین استخراج شده اضافه شده و مخلوط حاصل به مدت ۳ ساعت با همزن مغناطیسی همگن گردید. سپس به مدت ۲۰ دقیقه با ۷۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شده و محلول رویی حاصل توسط خشک‌کن پاششی (مدل DSD-02، ساخت کشور ایران) تحت شرایط زیر خشک گردید [۱۴]:



Fig 1 photograph images of Betanin-Maltodextrin powder (a), Betanin powder (b)

دمای هوای ورودی ۱۷۰ درجه سانتی‌گراد، دمای خروجی ۶۷ درجه سانتی‌گراد، جریان هوا ۴۵۰ لیتر بر ساعت، جریان عصاره ۶ میلی‌لیتر بر دقیقه، فشار ۷۵ کیلوگرم بر مترمکعب و دریچه نازل ۱۵۰ میلی‌متر بتانین بدون حامل نیز تحت همان شرایط ذکر شده با خشک‌کن پاششی خشک گردید. پودرهای

Table 1 Formulation of gummy candies (100 g) containing different amounts (0.5, 1 g) of betanin powder and other ingredients (g)

Samples	Sugar	Glucose syrup	Gelatin	Citric Acid	Flavor	Betanin Powder	Betanin-M powder
GMB1	33	31.5	8	3	0.1	-	
GMB0.5	33	31.5	8	3	0.1	-	0
GB1	33	31.5	8	3	0.1	1	
GB0.5	33	31.5	8	3	0.1	0.5	

G: gummy candy, B: Betanin, M: Maltodextrin

مرئی خوانده شده و با قرار دادن مقادیر بدست آمده در رابطه

زیر درصد بازدارندگی DPPH به دست آمد [۲۴]:

$$\text{معادله (۱)} \quad 100 \times \frac{(\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل})}{\text{جذب کنترل}} = \text{درصد}$$

بازدارندگی

۲-۶-۲- اندازه گیری فعالیت آبی

فعالیت آبی نمونه های پاستیل توسط دستگاه $\text{A}_{\text{H}_2\text{O}}$ متر (مدل

Lab Master ساخت کشور سوئیس) در دمای ۲۰ درجه

سانتی گراد اندازه گیری شد.

۲-۷-۲- تعیین پارامترهای رنگی

به منظور اندازه گیری پارامترهای رنگی L^* ، a^* و b^* نمونه های پاستیل، از هر فرمولاسیون پاستیل سه قطعه به طور تصادفی انتخاب شده و در جعبه مخصوص عکس برداری قرار داده شد و تصاویر با استفاده از دوربین عکاسی با زاویه ۴۵ درجه عمودی از بالای پنجره جعبه عکس برداری شد، تصاویر با فرمت JPG ذخیره گردیده و مراحل پردازش تصویر با نرم افزار فتوشاپ انجام گرفت. همچنین به منظور رسم منحنی استاندارد از کارت های استاندارد رنگ^۴ نیز با همان شرایط ذکر شده عکس برداری شد [۲۵].

۲-۸-۲- ارزیابی حسی

آزمون حسی با قضاوت ۲۰ ارزیاب نیمه آموزش دیده انجام پذیرفت. به منظور ارزیابی نمونه ها از مقیاس هدونیک ۷ نقطه-ای (از شماه ۱ تا ۷ به ترتیب بسیار بسیار کم، بسیار کم، کم، متوسط، زیاد، بسیار زیاد و بسیار بسیار زیاد) استفاده گردید. تعداد ۵ صفت حسی مورد ارزیابی قرار گرفتند. دو صفت از لحاظ ویژگی های ظاهری (رنگ، چسبندگی سطحی) و سه صفت دیگر به لحاظ طعمی و بافتی (سفتی، قابلیت جویدن، طعم) ارزیابی شدند و در نهایت، پذیرش کلی نمونه ها نیز مورد سوال قرار گرفت. در مجموع ۶ ویژگی، توسط داوران امتیازدهی شدند [۲۰ و ۲۳].

۲-۹-۲- تجزیه و تحلیل آماری

تمامی آزمون ها در سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شدند. تحلیل و ارزیابی (ANOVA) با استفاده از مدل خطی (G.L.M) نرم افزار آماری SPSS در سطح احتمال ۹۵٪ ($P < 0.05$) و آزمون چند دامنه ای دانکن برای تأیید وجود اختلاف بین میانگین ها انجام گرفت.

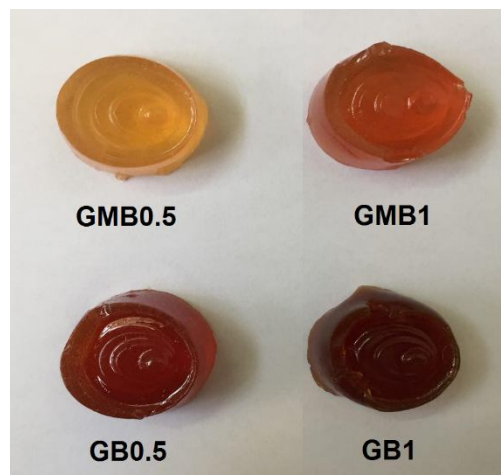


Fig 2 photograph images of Gummy candies.
GMB1: gummy candy containing 0.5 g betanin encapsulated with maltodextrin, GMB0.5: gummy candy containing 1 g betanin encapsulated with maltodextrin, GB0.5: gummy candy containing 0.5 g free betanin, GB1: gummy candy containing 1 g free betanin.

۲-۴-۲- تعیین پایداری بتانین

به منظور بررسی پایداری بتانین در نمونه های پاستیل در طول مدت نگهداری، میزان جذب بتانین توسط اسپکتوفتومتر نور مرئی (مدل Ultrospec 2000 ساخت کشور انگلیس) در طول موج ۵۳۸ نانومتر (حداکثر جذب بتانین) در طول مدت نگهداری (۱، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز) مورد ارزیابی قرار گرفته و با قرار دادن این مقادیر در منحنی استاندارد بتانین رسم شده، میزان بتانین بر حسب میلی گرم به دست آمد. برای این کار ابتدا ۳ گرم از هر نمونه پاستیل در ۳ میلی لیتر آب مقطر حل شده و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در حمام اولتراسونیک با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرا گرفت. سپس عصاره بدست آمده از هر نمونه به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۷۰۰۰ rpm سانتریفوژ گردید. نهایتاً از محلول رویی هر نمونه برای اندازه گیری میزان بتانین استفاده شد [۲۳].

۲-۵-۲- تعیین پایداری خاصیت آنتی اکسیدانی

ظرفیت آنتی اکسیدانی (AOC^2) پاستیل در طول مدت نگهداری (۱، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز) با استفاده از روش DPPH تعیین گردید. محلول اتانولی حاوی DPPH (۰/۰۱mM) تهیه شده و به نسبت ۱ به ۱ با محلول پاستیل به دست آمده مخلوط گردید و سپس تغییرات جذب بعد از ۴۵ دقیقه نگهداری در تاریکی در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتوفتومتر نور

حاصل نشان داد، میزان بتاسیانین در طول مدت نگهداری به طور معنی داری کاهش یافته است. آن‌ها علت این کاهش را در اثر تجزیه بتانین به ترکیبات دیگری نظیر بتالامیک اسید دانستند [۲۰]. نتایج Rodriguez-Sanchez و همکاران (۲۰۱۷) نیز نشان داد که نیمه عمر رنگدانه بتاگزانتین در نمونه‌های پاستیل $0.05 \pm 10/38$ روز بوده و سرعت تخریب آن نیز 0.67 day^{-1} می‌باشد [۲۰]. Ravichandran و همکاران (۲۰۱۴) در پژوهشی که اثر حامل و روش‌های مختلف خشک کردن را در پایداری عصاره بتالانی بررسی کردند ریزپوشانی با مالتودکسترین را روشی مناسب برای افزایش پایداری بتالانین‌ها گزارش کردند [۹]. نتایج حاصل از مطالعه‌ی Pitalua و همکاران (۲۰۱۰) نیز حاکی از آن بود، که در میکروکپسول‌های تهیه شده با روش خشک کردن پاششی در فعالیت‌های آبی کم‌تر از ۰/۵ تفاوت معنی داری در غلظت بتالانین، رنگ، فعالیت آنتی‌اکسیدانی در طول ۴۵ روز وجود ندارد [۱۳].

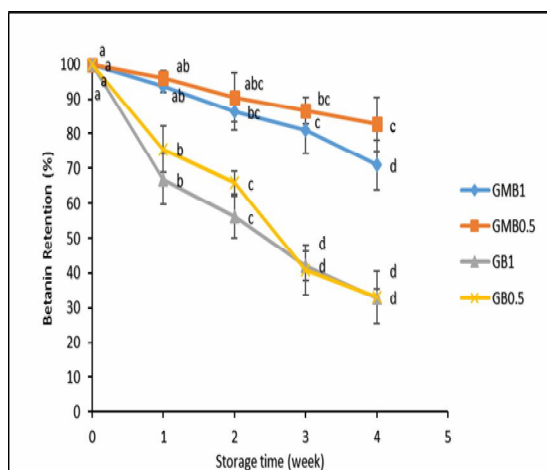


Fig 3 Betanin stability of gummy candy samples during 4 weeks. All of the results are presented as mean $\pm$ standard deviation of the means. Points labeled with different subscript letters in the same group are significantly different ($p < 0.05$). G: gummy candy, B: Betanin, M: Maltodextrin.

۳-۳- تعیین پایداری خاصیت آنتی‌اکسیدانی

با هدف ارزیابی تأثیر ریزپوشانی در حفظ خاصیت آنتی‌اکسیدانی بتانین در پاستیل‌ها، آزمون DPPH برای حجم مساوی از فرمولاسیون‌های مختلف پاستیل‌ها انجام گرفت. نتایج حاصل که در شکل ۲ مشهود است، نشان داد که در نمونه‌های پاستیل حاوی بتانین ریزپوشانی شده میزان بازدارندگی به طور معنی داری بیشتر از نمونه‌های پاستیل حاوی بتانین آزاد حفظ

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تعیین درصد خلوص بتانین استخراج شده

با جاگذاری میزان جذب غلظت 4000 میکروگرم/ میلی‌لیتر پودر بتانین تهیه شده در معادله منحنی استاندارد بتانین، میزان بتانین پودر تهیه شده $107/7 \pm 3158/53$ میکروگرم/ میلی‌لیتر به دست آمد، که به این ترتیب میزان درصد خلوص پودر بتانین تهیه شده نیز $2/69 \pm 78/96$ درصد بود. که این نتایج نشان دهنده‌ی درصد خلوص بالای بتانین استخراج شده و مناسب بودن روش استخراج و خشک کردن بتانین می‌باشد.

۳-۲- تعیین پایداری بتانین

شکل ۱ درصد پایداری بتانین در نمونه‌های پاستیل در طول مدت نگهداری را نشان می‌دهد. همان طور که در شکل

مشاهده

می‌شود، درصد پایداری بتانین در نمونه‌های حاوی بتانین ریزپوشانی شده بیشتر از نمونه‌های حاوی بتانین آزاد می‌باشد به طوری که درصد پایداری بتانین در طول مدت نگهداری ۴ هفته‌ای در نمونه‌های حاوی ۱ و ۰/۵ گرم بتانین کپسوله شده به ترتیب $7/86 \pm 70/9$ و $82/67 \pm 7/15$ درصد بوده ولی در نمونه‌های حاوی ۱ و ۰/۵ گرم بتانین آزاد به ترتیب $32/99 \pm 2/30$ و $33/26 \pm 7/59$ درصد می‌باشد. این نتایج نشان دهنده‌ی بالا بودن سرعت تخریب بتانین در حالت آزاد و کارایی بالای ریزپوشانی در افزایش پایداری بتانین در طول مدت نگهداری پاستیل می‌باشد. پایداری بتانین تحت تأثیر عوامل متعددی نظیر محتوای رنگدانه پایین، درجه پایین گلوکوزیلاسیون، فعالیت آبی بالا، تخریب آنزیم‌های PPO، POD، گلوکوزیداز، $4 < \text{pH} < 7$ ، یون‌های فلزی، دمای بالا، نور، اکسیژن کاهش می‌یابد [۷]. که با توجه به نتایج حاصل از این آزمون ریزپوشانی بتانین با دیواره‌ی ماتریکسی مالتودکسترین باعث کنترل و کاهش تأثیر بعضی از این عوامل ذکر شده از جمله فعالیت آبی گردید. در این راستا Yee و همکاران (۲۰۱۷) در مطالعه‌ی پودر رنگدانه میوه پیتایا را به پاستیل میوه‌ای افزوده و پایداری بتاسیانین را در طول مدت نگهداری ۸ هفته‌ای در پاستیل میوه‌ای بررسی کردند. نتایج

خشک) در پاستیل افزایش یافته به تبع آن میزان آب قابل انجماد یعنی فعالیت آبی کاهش یافته است. که به این ترتیب بیشترین میزان فعالیت آبی مربوط به نمونه GB0.5 و کمترین نیز مربوط به نمونه GMB1 می باشد. همچنین با توجه به این که یکی از عوامل افزایش پایداری بتانین، کاهش فعالیت آبی می باشد [۷]، یکی از دلایل بیشتر بودن پایداری بتانین در حالت ریزپوشانی، پایین بودن فعالیت آبی در نمونه های حاوی بتانین ریزپوشانی شده می باشد.

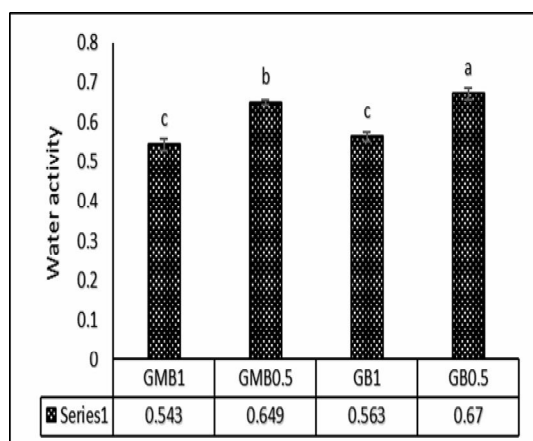


Fig 5 water activity of gummy candies. All of the results are presented as mean $\pm$ standard deviation of the means. Points labeled with different subscript letters in the same group are significantly different ($p < 0.05$). G: gummy candy, B: Betanin, M: Maltodextrin.

۳-۵- بررسی پارامترهای رنگی

جدول ۲ نتایج حاصل از آنالیز پارامترهای رنگی نمونه های پاستیل را نشان می دهد. پارامتر رنگی L^* معادل میزان روشنایی بوده و بین صفر (مشکی) تا صد (انعکاس نور کامل) می باشد. ریزپوشانی بتانین باعث افزایش و میزان پودر استفاده شده باعث کاهش میزان پارامتر L^* نمونه های پاستیل گردید. به طوری که بیشترین میزان L^* در نمونه GMB0.5 و کم ترین نیز در نمونه GB1 مشاهده شد. مقادیر پارامتر رنگی a^* نامحدود بوده و مقادیر مثبت معادل رنگ قرمز و مقادیر منفی معادل رنگ سبز می باشد. نتایج حاصل از بررسی این پارامتر رنگی در نمونه های پاستیل نشان داد، که ریزپوشانی و میزان بتانین استفاده شده تاثیر معنی داری بر روی این پارامتر داشته و بیشترین میزان a^* مربوط به نمونه GB1 و کم ترین نیز مربوط به نمونه GMB0.5 می باشد. مقادیر مثبت پارامتر رنگی b^* معادل رنگ زرد و مقادیر منفی آن معادل رنگ آبی می باشد.

شده است. از آن جا که بتانین تنها ترکیب آنتی اکسیدان فرمولاسیون پاستیل می باشد، به همین دلیل این نتایج تصدیق کننده ی نتایج حاصل از بررسی میزان پایداری بتانین در طول مدت زمان نگهداری می باشد. Hani و همکاران (۲۰۱۵)، با بررسی میزان بازدارندگی پاستیل حاوی عصاره بتالائینی میوه پیتایا در طول مدت زمان نگهداری ۸ هفته ای به این نتیجه رسیدند که با افزایش میزان عصاره افزوده شده به پاستیل میزان بازدارندگی DPPH نیز افزایش یافته ولی با گذشت زمان این میزان بازدارندگی به طور معنی داری کاهش می یابد [۲۴]. Pitalua و همکاران نیز در پژوهشی که فعالیت آنتی اکسیدانی میکروکپسول های حامل عصاره چغندر قرمز را در طول ذخیره سازی در فعالیت های آبی مختلف مورد بررسی قرار دادند، در فعالیت های آبی ۱۱ / ۰ ، ۳۲۶ / ۰ ، ۵۲۱ / ۰ تفاوت معنی داری در غلظت بتالائین، رنگ، فعالیت آنتی اکسیدانی در طول مدت نگهداری ۴۵ روز مشاهده نکردند [۱۳].

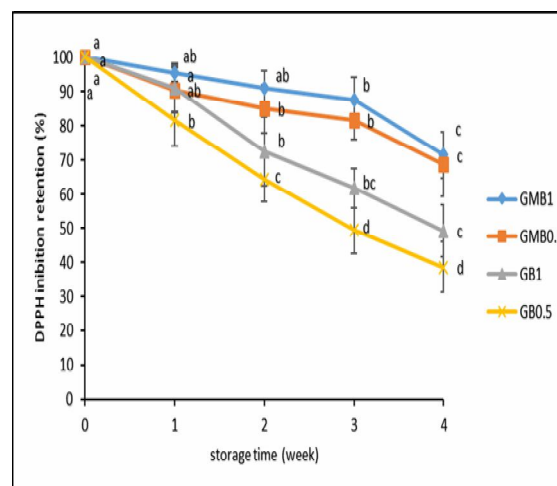


Fig 4 DPPH inhibition retention of gummy candy samples during 4 weeks. All of the results are presented as mean $\pm$ standard deviation of the means. Points labeled with different subscript letters in the same group are significantly different ($p < 0.05$). G: gummy candy, B: Betanin, M: Maltodextrin.

۳-۴- بررسی فعالیت آبی

نتایج حاصل از بررسی فعالیت آبی نمونه های پاستیل در شکل ۳ مشاهده می شود. ریزپوشانی بتانین و افزایش میزان پودر، تأثیر معنی داری بر روی میزان فعالیت آبی پاستیل داشته و میزان فعالیت آبی نمونه های پاستیل کاهش یافته است. به طوری که با ریزپوشانی بتانین توسط مالتودکسترین و افزایش میزان بتانین استفاده شده در پاستیل، میزان ماده ی جامد

سه پارامتر رنگی L^* ، a^* و b^* شده است [۲۲]. Cahroen و همکاران (۲۰۱۵) در گزارشی که از آنالیز پارامترهای رنگی پاستیل حاوی عصاره زرد میوه گواوا ارائه دادند، با افزایش میزان عصاره افزوده شده به نمونه‌های پاستیل هر سه پارامتر رنگی L^* ، a^* و b^* کاهش یافته بود ولی از نظر دو پارامتر L^* و b^* اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌ها نبوده و از نظر پارامتر a^* اختلاف بین نمونه‌های پاستیل معنی‌دار بود [۱۹].

Table 2 Color parameter (L^* a^* b^* value) of gummy candies

Samples	L^*	a^*	b^*
GMB1	25.2 ± 2.2 ^b	27.03 ± 0.51 ^b	26.63 ± 0.65 ^b
GMB0.5	39.94 ± 2.99 ^a	12.59 ± 1.02 ^d	35.08 ± 0.69 ^a
GB1	18.83 ± 1.76 ^c	29.98 ± 0.88 ^a	14.09 ± 1.85 ^c
GB0.5	24 ± 2.44 ^b	24.08 ± 1.02 ^c	6.13 ± 1.3 ^c

All of the results are presented as mean ± standard deviation of the means. Points labeled with different subscript letters in the same group are significantly different ($p < 0.05$). G: gummy candy, B: Betanin, M: Maltodextrin.

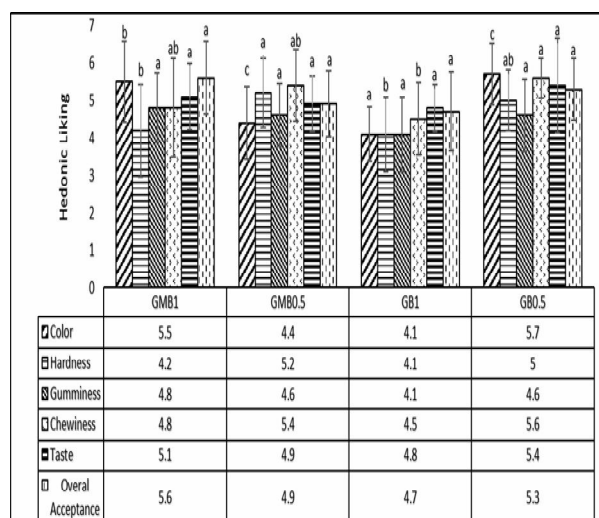


Fig 6 Sensory analyses of gummy candies. All of the results are presented as mean ± standard deviation of the means. Points labeled with different subscript letters in the same group are significantly different ($p < 0.05$).

G: gummy candy, B: Betanin, M: Maltodextrin.

۴- نتیجه‌گیری

در این پژوهش برای بررسی تأثیر ریزپوشانی بتانین بر ویژگی‌های تغذیه‌ای پاستیل میزان پایداری بتانین و درصد بازدارندگی نمونه‌های پاستیل در طول مدت نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد، میزان بتانین و درصد بازدارندگی نمونه‌های پاستیل حاوی بتانین ریزپوشانی شده به

میزان پارامتر b^* نمونه‌های پاستیل وابسته به نوع و میزان پودر استفاده شده بوده و با ریزپوشانی و کاهش میزان پودر استفاده شده میزان پارامتر b^* کاهش یافت. به طوری‌که بیشترین میزان b^* مربوط به نمونه GMB0.5 و کم‌ترین نیز مربوط به نمونه GB0.5 می‌باشد. در مطالعه‌ای که Raei و همکاران (۲۰۱۶) میکروکپسولاسیون عصاره سبز یونجه و استفاده از آن را در پاستیل بررسی کردند. تأثیر میکروکپسولاسیون را بر پارامترهای رنگی عصاره و پاستیل معنی‌دار دانسته‌اند که باعث افزایش هر

۳-۶- ارزیابی حسی

نتایج تجزیه‌ی واریانس و مقایسه‌ی میانگین‌ها به روش دانکن نشان داد، که نمونه‌های پاستیل از نظر رنگ، سفتی، چسبندگی، قابلیت جویدن، طعم و پذیرش کلی اختلاف معنی‌داری در سطح اطمینان ۵٪ با یکدیگر دارند. بیشترین امتیاز رنگ مربوط به نمونه GB0.5 بوده و کم‌ترین نیز مربوط به نمونه GB1 بود که نشان‌دهنده‌ی غیر معنی‌دار بودن تأثیر ریزپوشانی بتانین و معنی‌دار بودن میزان پودر اضافه شده در مقبولیت رنگی پاستیل‌ها می‌باشد. همچنین ریزپوشانی بتانین و افزایش میزان پودر اضافه شده دارای تأثیر معنی‌داری بر روی امتیاز سفتی نمونه‌ها بود، به طوری‌که بیشترین امتیاز سفتی مربوط به نمونه GMB0.5 بوده و کم‌ترین نیز مربوط به نمونه GB1 بود. بیشترین امتیاز چسبندگی نیز مربوط به نمونه GMB1 بوده و کم‌ترین نیز مربوط به نمونه GB0.5 بود. بیشترین امتیاز قابلیت جویدن و طعم در نمونه GB0.5 و کم‌ترین نیز در نمونه GB1 مشاهده شد. با بررسی امتیاز پذیرش کلی نمونه‌ها نیز مشاهده شد، که به رغم پذیرش حسی پایین نمونه‌ی پاستیل حاوی ۱ گرم بتانین آزاد، ریزپوشانی بتانین باعث بهبود ویژگی‌های حسی پاستیل شده و بیشترین امتیاز پذیرش کلی به نمونه GMB1 تعلق گرفت.

- [5] Kapadia, G., A Azuine, M., Subba Rao, G., Arai, T., Iida, A., & Tokuda, H. (2011). Cytotoxic effect of the red beetroot (*Beta vulgaris* L.) extract compared to doxorubicin (Adriamycin) in the human prostate (PC-3) & breast (MCF-7) cancer cell lines. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*. 11(3): 280-284.
- [6] Sutariya, B., & Saraf, M. (2017). Betanin, isolated from fruits of *Opuntia elatior* Mill attenuates renal fibrosis in diabetic rats through regulating oxidative stress & TGF- β pathway. *Journal of Ethnopharmacology*. 198: 432-443.
- [7] Khan, M. I. (2016). Stabilization of betalains: A review. *Food Chemistry*. 197: 1280-1285.
- [8] Janiszewska, E. (2014). Microencapsulated beetroot juice as a potential source of betalain. *Powder Technology*. 264: 190-196.
- [9] Ravichandran, K., Palaniraj, R., Saw, N. M. M. T., Gabr, A. M., Ahmed, A. R., Knorr, D., & Smetanska, I. (2014). Effects of different encapsulation agents & drying process on stability of betalains extract. *Journal of food science & technology*. 51(9): 2216-2221.
- [10] Kaimainen, M., Laaksonen, O., Järvenpää, E., Sandell, M., & Huopalahti, R. (2015). Consumer acceptance & stability of spray dried betanin in model juices. *Food Chemistry*. 187: 398-406.
- [11] Nemzer, B., Pietrzowski, Z., Spórna, A., Stalica, P., Thresher, W., Michałowski, T., & Wybraniec, S. (2011). Betalainic & nutritional profiles of pigment-enriched red beet root (*Beta vulgaris* L.) dried extracts. *Food Chemistry*. 127(1): 42-53.
- [12] Šaponjac, V. T., Četković, G., Čanadanović-Brunet, J., Pajin, B., Djilas, S., Petrović, J., & Vulić, J. (2016). Sour cherry pomace extract encapsulated in whey & soy proteins: Incorporation in cookies. *Food Chemistry*. 207: 27-33.
- [13] Pitalua, E., Jimenez, M., Vernon-Carter, E., & Beristain, C. (2010). Antioxidative activity of microcapsules with beetroot juice using gum Arabic as wall material. *Food & Bioproducts Processing*. 88(2): 253-258.
- [14] Janiszewska, E. & Włodarczyk, J. 2013. Influence of spray drying conditions on beetroot pigments retention after microencapsulation process. *Acta Agrophysica*. 20(2): 343-356.

طور معنی داری بیشتر از نمونه های حاوی بتانین آزاد حفظ شده است که نشان دهندهی موثر بودن ریزپوشانی در افزایش پایداری این ترکیب زیست فعال در برابر شرایط محیطی می باشد. نتایج حاصل از بررسی فعالیت آبی نمونه های پاستیل حاکی از آن بود که اختلاف بین فعالیت آبی نمونه های حاوی بتانین ریزپوشانی شده و آزاد معنی داری بوده و ریزپوشانی بتانین باعث کاهش فعالیت آبی پاستیل گردید. بررسی پارامترهای رنگی نمونه های پاستیل نیز نشان داد که ریزپوشانی بتانین باعث افزایش L^* و b^* و کاهش a^* نمونه های پاستیل شده است. همچنین ارزیابی حسی نمونه های پاستیل نیز نشان داد به رغم پذیرش حسی پایین نمونه ی پاستیل حاوی ۱ گرم بتانین آزاد، ریزپوشانی بتانین باعث بهبود ویژگی های حسی پاستیل شده و بیشترین امتیاز پذیرش کلی به نمونه GMB1 تعلق گرفت. با توجه به این نتایج می توان گفت که ریزپوشانی راهکاری مناسب برای افزایش پایداری بتانین در طول مدت نگهداری مدل های غذایی می باشد، که امکان کاربرد بالقوه این ترکیب در غنی سازی محصولات غذایی فراسودمند و بهره مندی از پتانسیل دارویی و تغذیه ای این ترکیب زیست فعال را فراهم می کند.

۵- منابع

- [1] Gandía-Herrero, F., & García-Carmona, F. (2013). Biosynthesis of betalains: yellow & violet plant pigments. *Trends in plant science*. 18(6): 334-343.
- [2] Khan, M. I., & Giridhar, P. (2015). Plant betalains: Chemistry & biochemistry. *Phytochemistry*. 117: 267-295.
- [3] Gandía-Herrero, F., Cabanes, J., Escribano, J., García-Carmona, F., & Jiménez-Atiénzar, M. (2013). Encapsulation of the most potent antioxidant betalains in edible matrixes as powders of different colors. *Journal of agricultural & food chemistry*. 61(18): 4294-4302.
- [4] Dhananjayan, I., Kathirolu, S., Subramani, S., & Veerasamy, V. (2017). Ameliorating effect of betanin, a natural chromoalkaloid by modulating hepatic carbohydrate metabolic enzyme activities & glycogen content in streptozotocin – nicotinamide induced experimental rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 88: 1069-1079.

- food colourant in fruit pastille. *Journal Gizi Klinik Indonesia*. 13(3): 111-120.
- [21] Vulic, J., Canadanovic-Bruneta, J., Cetkovic, G., Tumbasa, V., Djilasa, S., Cetojevic-Siminb, D. & Canadanovic, V. 2012. Antioxidant and cell growth activities of beet root pomace extracts. *Jourar of Funtioanal Foods*. 4: 670-678.
- [22] Charoen, R., Savedboworn, W., Phuditcharnchnakun, S., & Khuntawetap, T. (2015). Development of Antioxidant Gummy Jelly Candy Supplemented with Psidium guajava Leaf Extract. *King Mongkut's University of Technology North Bangkok International Journal of Applied Science & Technology*. 8(2): 145-151.
- [23] Rodríguez-Sánchez, J. A., Cruz y Victoria, M. T., & Barragán-Huerta, B. E. (2017). Betaxanthins & antioxidant capacity in *Stenocereus pruinosus*: Stability & use in food. *Food Research International*. 91: 63-71.
- [24] Mishra, K., Ojha, H., & Chaudhury, N. K. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chemistry*, 130(4), 1036-1043.
- [25] Raei, A., Yasini Ardakani, S. A., & Daneshi, M. (2017). Microencapsulation of the green pigment of alfalfa and its applications on heated food. *Journal of Food Process Engineering*, e12529-n/a. doi:10.1111/jfpe.12529.
- [15] Tumbas Šaponjac, V., Čanadanović-Brunet, J., Četković, G., Jakišić, M., Djilas, S., Vulić, J., & Stajčić, S. (2016). Encapsulation of beetroot pomace extract: RSM optimization, storage and gastrointestinal stability. *Molecules*, 21(5), 584.
- [16] Güneşer, O. (2016). Pigment & color stability of beetroot betalains in cow milk during thermal treatment. *Food Chemistry*. 196: 220-227.
- [17] Gengatharan, A., Dykes, G. A., & Choo, W.-S. (2017). The effect of pH treatment & refrigerated storage on natural colourant preparations (betacyanins) from red pitahaya & their potential application in yoghurt. *LWT-Food Science & Technology*. 80: 437-445.
- [18] Chranioti, C., Nikoloudaki, A., & Tzia, C. (2015). Saffron & beetroot extracts encapsulated in maltodextrin, gum Arabic, modified starch & chitosan: Incorporation in a chewing gum system. *Carbohydrate polymers*. 127: 252-263.
- [19] Hani, N. M., Romli, S. R., & Ahmad, M. (2015). Influences of red pitaya fruit puree & gelling agents on the physico, mechanical properties & quality changes of gummy confections. *International Journal of Food Science & Technology*. 50(2): 331-339.
- [20] Yee, L. P., & Wah, C. S. (2017). Application of red pitaya powder as a natural

Antioxidant activity and stability of spray dried betanin in gummy candies

Amjadi, S.¹, Roufegarinejad, L.^{2*}, Hamishehkar, H.³

1. M.Sc., Department of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

2. Assistant Professor, Department of Food Sciences, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

3. Associated Professor, Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

(Received: 2017/09/11 Accepted: 2017/10/17)

Betanin is a food additive which is confirmed it's bioactive and food safety consume. But, despite of instability and poor bioavailability, the potential applications of betanin in food, pharmaceuticals and cosmetics is very limited. Therefore, in this research, the encapsulation of betanin was used to increase the stability so that the two concentration of 0.5 and 1 % w/w of free or encapsulated betanin with maltodextrin were used in gummy candy. The stability and antiradical capacity investigation of betanin showed that betanin content and antiradical capacity in gummy candy containing encapsulated betanin is more significantly than gummy candy containing free betanin, ($p < 0.05$). The difference between water activity of the samples containing free and encapsulated betanin was significant ($p < 0.05$) and the encapsulation of betanin caused to decrease of water activity of gummy candy. The color parameters investigation of gummy candy samples showed that the encapsulation of betanin leads to increase the lightness (L^*), yellowness (b^*) and decrease of the redness (a^*) of gummy candy samples. Finally, the obtained results of sensory evaluation of samples showed that the in spite of low sensory acceptability of gummy candy containing 1 gram betanin, the encapsulated betanin caused to improve the sensory characterization of gummy candy and the highest points of overall acceptance were applied to samples containing 1 gram encapsulated betanin.

Keywords: Betanin, Encapsulation, Gummy candy, Red beet, Stability

*Corresponding Author E-Mail Address: l.roufegari@iaut.ac.ir