

ارزیابی ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره چای سبز ریزپوشانی شده به روش هم‌تبلوری

مهديه اکبری^۱، علیرضا صادقی ماهونک^{۲*}، خشایار سرابندی^۳، آزاده قربانی^۴

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

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

۴- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۲/۳۰)

چکیده

برگ چای سبز به دلیل عدم تخمیر، حاوی مقادیر فراوانی از ترکیبات فنلی است. ترکیبات فنلی چای سبز ترکیبات طبیعی با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی می‌باشند. پلی‌فنل‌ها به شرایط محیطی حساس می‌باشند. برای بهبود پایداری پلی‌فنل‌ها، عصاره چای سبز با روش هم‌تبلوری ریزپوشانی شد. هدف از این تحقیق، ارزیابی بازده فرایند، ظرفیت بارگیری، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی فراورده‌ی هم‌تبلور (رطوبت، فعالیت آبی، دانسیته‌ی توده و ضربه، انحلال‌پذیری، جاذب‌الرطوبگی)، خصوصیات ساختاری پودر از قبیل مورفولوژی (SEM) و نیز خصوصیات جریان‌پذیری پودر حاصل (شاخص تراکم‌پذیری، نسبت هاسنر و زاویه ریپوز) بود. نتایج نشان داد که اثر غلظت عصاره بر میزان ترکیبات فنلی معنی‌دار است ($P < 0.05$). کارایی ریزپوشانی با افزایش میزان غلظت عصاره در پودر هم‌تبلور افزایش یافت. عصاره ریزپوشانی شده در غلظت ۱۰ درصد بیش‌ترین اثر را در مهار رادیکال DPPH، ABTS، هیدروکسیل و میزان احیاکنندگی داشت (به ترتیب ۵۶/۹، ۶۹/۳۷، ۷۱/۶۳ درصد و ۰/۸۱). تفاوت در اندازه‌ی ذرات پودر ریزپوشانی شده می‌تواند خصوصیات جریان‌پذیری پودر را به گونه‌ای معنی‌دار ($P < 0.05$) تحت تأثیر قرار دهد. به‌طورکلی مقادیر فعالیت آبی، محتوای رطوبتی و جاذب‌الرطوبگی پودرهای هم‌تبلور نشان داد فراورده‌ی تولیدشده پایدار بوده و از خصوصیات مناسبی جهت نگهداری برخوردار است. لذا می‌توان از ریزپوشانی به روش هم‌تبلوری به‌عنوان روشی کارآمد جهت افزایش پایداری عصاره چای سبز در برابر شرایط محیطی استفاده نمود.

کلید واژگان: فعالیت آنتی‌اکسیدانی، عصاره آبی، هم‌تبلوری، چای سبز، جاذب‌الرطوبگی.

* مسئول مکاتبات: Sadeghiaz@gau.ac.ir

۱- مقدمه

چای گیاهی از شاخه نهان‌دانگان یک‌پایه، رده دولپه‌ای‌ها، راسته Parital، خانواده Teaceae و از جنس *Camellia* بانام علمی *Camelliasinensis* می‌باشد. برگ چای از نظر اقتصادی و بهره‌برداری، قسمت اصلی این گیاه را تشکیل می‌دهد. چای‌هایی که برای چای‌سازی کشت می‌شوند دارای سه تیپ می‌باشد: تیپ آسامی^۱، تیپ چینی^۲، تیپ جنوبی^۳. ارقام موجود چای در ایران نوع هیبریدهای چینی-آسامی می‌باشند که سازگاری بیشتری با شرایط آب و هوایی شمال کشور داشته‌اند. نوشیدنی چای به‌صورت گسترده‌ای در سراسر جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد و به انواع چای سفید، سبز و سیاه تقسیم می‌شود که اساس این تقسیم‌بندی میزان تخمیر صورت گرفته در برگ‌های چای است. چای سبز به دلیل عدم تخمیر، حاوی مقادیر فراوانی از ترکیبات فنلی است که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به اپی‌کاتچین، اپی‌کاتچین‌گالات، اپی‌گالوکاتچین و اپی‌گالوکاتچین‌گالات اشاره نمود [۱].

آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی ساختاری فنلی یا پلی‌فنلی داشته و از تشکیل رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کنند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی اساساً به دلیل خصوصیات اکسایشی و کاهش‌ی آن‌هاست. علاوه بر این توانایی شلاته کردن فلزات را نیز دارند. این ترکیبات واکنش‌های اکسایشی روغن‌ها، چربی‌ها و ترکیبات محلول در چربی را نیز به تأخیر می‌اندازند [۲ و ۳]. از روش‌های مختلفی برای استخراج ترکیبات فنلی استفاده می‌شود. استخراج آبی ترکیبات فنلی به دلیل عدم استفاده از حلال‌های آلی به‌عنوان یکی از ایمن‌ترین و بهترین روش‌های استخراج، شناخته شده است [۴]. امروزه محصولات گیاهی سمبل ایمنی هستند و با فیزیولوژی طبیعی انسان نیز سازگاری دارند. افزایش میزان دریافت آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند از بروز بسیاری از بیماری‌ها جلوگیری نماید [۵]. با این حال، پلی‌فنل‌ها به شرایط محیطی حساس بوده و طی فرایند و نگهداری مواد غذایی دستخوش واکنش‌های اپیمریزاسیون، اکسیداسیون و تجزیه شده که منجر به کاهش فعالیت پلی‌فنل‌ها می‌شود [۶ و ۷]. علاوه بر این، پلی‌فنل‌ها دارای مزه گس و تلخی هستند که استفاده از آن‌ها را به‌عنوان مکمل غذایی و یا در ترکیب با مواد غذایی با مشکل همراه

می‌سازد [۸]. ریزپوشانی پلی‌فنل‌ها می‌تواند راهکاری جهت غلبه بر این مشکلات باشد. میکروانکپسولاسیون ترکیبات زیست فعال، آن‌ها را در برابر تنش‌های فیزیکی و شیمیایی حفظ می‌کند در نتیجه مواد زیست فعال حساس را پایدار ساخته و از شرایط محیطی نامناسب مصون می‌دارد و باعث افزایش دسترسی زیستی آن‌ها می‌گردد [۹]. هم‌تبلوری به‌عنوان یکی از روش‌های ساده و اقتصادی ریزپوشانی مطرح شده است که در سال‌های اخیر، شمار اندکی از مطالعات در مورد آن گزارش شده است [۱۰]. در این روش از ریزپوشانی، ساکارز به‌عنوان ماده دیواره، از ساختاری کامل و متراکم در پی تغلیظ شربت ساکارز از طریق تبخیر در دماهای بالا به ساختاری نامنظم تغییر می‌یابد و در نهایت بلورهایی در اندازه میکرو شکل می‌گیرد که در ساختار متخلخل خود، ترکیبات ثانویه را جای می‌دهند [۱۱ و ۱۲]. گرمای نهان تبلور طی این فرایند برای تبخیر رطوبت، به‌اندازه کافی بالا می‌باشد در نتیجه می‌توان به یک فراورده نهایی خشک دست‌یافت [۱۲]. ریزپوشانی ترکیبات فنلی عصاره چای سبز از طریق خشک‌کن انجمادی و خشک‌کن پاششی با استفاده از سه ماده دیواره شامل مالتودکسترین، بتا-سیکلودکسترین و ترکیبی از این دو ماده توسط پاسریجا و همکارانش (۲۰۱۵)، گزارش شد [۱۳]. در پژوهشی دیگر، وانگ و همکاران، (۲۰۱۵) نیز روش خشک‌کن پاششی را برای ریزپوشانی ترکیبات فنلی چای سبز مورد بررسی قرار دادند. هیدروکسی پروپیل متیل سلولز به‌عنوان ماده دیواره در این پژوهش به کار گرفته شد [۱۴]. درحالی‌که نادم و همکاران، (۲۰۱۱) ریز پوشانی عصاره آبی نوعی چای کوهستانی را با خشک‌کن پاششی انجام داده و از مالتودکسترین، بتا-سیکلودکسترین و صمغ عربی به‌عنوان مواد حامل استفاده کردند [۱۵]. هم‌چنین باشانی و همکاران (۲۰۱۷) کاتچین چای سبز را با روش الکترواسپری ریزپوشانی کردند [۱۶].

با توجه به کشت چای در نواحی شمالی ایران استفاده از آن به‌عنوان منبع ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌تواند مزایای اقتصادی زیادی را به دنبال داشته باشد. لذا ریزپوشانی ترکیبات حساس نظیر پلی‌فنل‌ها که در شرایط نامناسب (گرمای، رطوبت و نور) به دلیل وجود گروه هیدروکسیل در ساختار مولکولی خود، به‌راحتی تخریب می‌شوند، توصیه می‌شود [۱۷].

4. Co-crystallization
5. Hydroxypropyl Methylcellulose

1. Assam type: *Camellia assamica* masters
2. China type: *Camellia sinensis*
3. Southen type: *Camellia assamica* sub.s.p lasiocalyx

برای انجام آزمون‌های بعدی نگهداری شد. هم‌چنین محلول فوق‌اشباع ساکارز فاقد عصاره که به روش فوق تهیه شده به‌عنوان نمونه‌ی شاهد برای انجام آزمون‌ها مورد استفاده قرار گرفت [۱۹].

۲-۴- روش‌های انجام آزمون

۲-۴-۱- اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل

میزان کل ترکیبات فنلی با روش رنگ‌سنجی فولین-سیوکالته بر اساس روش سینگلتن و همکاران (۱۹۹۹) اندازه‌گیری شد. یک میلی‌لیتر از عصاره با یک میلی‌لیتر معرف فولین-سیوکالته و ۵ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم ۷/۵ درصد مخلوط شد. بعد از قرار دادن مخلوط به مدت یک ساعت در دمای اتاق، جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در برابر آب به‌عنوان نمونه شاهد در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. جهت رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک استفاده شد. منحنی استاندارد اسیدگالیک با همین طول‌موج در دامنه غلظت ۰/۰۴ تا ۰/۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر رسم گردید [۲۰].

۲-۴-۲- تعیین ظرفیت بارگیری^۱ و بازده فرایند^۲

ظرفیت بارگیری (LC) بر اساس مقدار فنل کل عصاره برگ چای سبز بارگیری شده در یک گرم پودر هم‌متبلور محاسبه شد. بازده فرایند نیز با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\%EY = \left(\frac{L_c}{L_0} \right) \times 100$$

که در این رابطه L_0 مقدار فنل کل عصاره برگ چای سبز در یک گرم مخلوط خام اولیه می‌باشد [۱۹].

۲-۴-۳- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی پودر هم‌متبلور

برای ارزیابی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی پودرهای هم‌متبلور حاوی عصاره چای سبز، مقدار ۱ گرم از هر نمونه پودرهای هم‌متبلور در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شده و برای انجام آزمون‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۴-۱- آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH

توانایی مهار رادیکال آزاد بر اساس روش برند-ویلیام و همکاران (۱۹۹۵) انجام گرفت. یک گرم از فراورده هم‌متبلور در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول به ۳/۹ میلی‌لیتر محلول اتانولی DPPH اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۴۰ دقیقه در دمای محیط و مکان تاریک قرار

در میان روش‌های مورد استفاده جهت ریزپوشانی کردن، روش هم‌تبلوری را به دلیل قیمت نسبتاً پایین ساکارز می‌توان جایگزینی مناسب برای روش‌های مرسوم مانند خشک‌کن پاششی در نظر گرفت. بنابراین هدف از این تحقیق، ریزپوشانی عصاره‌ی آبی چای سبز در ماتریس ساکارز طی فرایند هم‌تبلوری و نیز بررسی خصوصیات فیزیکی شیمیایی پودر حاصله از قبیل پایداری ترکیبات فنولی و حفظ خاصیت آنتی‌اکسیدانی فراورده در شرایط فرایند و نیز خصوصیات جریان‌پذیری و ساختاری پودر می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- آماده‌سازی نمونه‌ها برای استخراج

چای سبز از مزارع رامسر تهیه شد. برگ‌های چای بدون شستشو به مدت پنج روز در دمای محیط و جریان طبیعی هوا خشک شدند. نمونه‌های خشک‌شده، توسط آسیاب خرد شده و پودر حاصل از نمونه‌ها تا زمان استخراج عصاره در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند [۱۸].

۲-۲- تهیه عصاره‌ی آبی برگ چای

به‌منظور عصاره، برگ چای، نسبت‌های ۳/۰: ۱۰، ۵/۰: ۱۰ و ۱: ۱۰ پودر برگ چای به آب به مدت ۴۰ دقیقه در حمام آب (ساخت آلمان، شرکت ممرت، مدل WB14) در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس عصاره حاصل، سانتریفیوژ (ساخت کره جنوبی، شرکت هانیل، مدل Cambi-514R) گردید و پس از صاف شدن در ظروف تیره در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای انجام آزمون‌های بعدی نگهداری شد [۱۹].

۲-۳- تهیه پودر هم‌متبلور

جهت تهیه پودر از ساکارز تجاری استفاده شد. ۱۰ میلی‌لیتر عصاره آبی چای سبز در ظرف فلزی با ۵۰ گرم ساکارز مخلوط و تا رسیدن به دمای ۱۳۲ درجه سانتی‌گراد روی هیتز به‌صورت مداوم همزده شد. با مشاهده کدورت جزئی حرارت دهی متوقف و تا زمان رسیدن مخلوط به دمای محیط عمل همزدن ادامه یافت. سپس فراورده هم‌متبلور، به‌وسیله آون (ساخت آلمان، شرکت ممرت، مدل UFA500) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ساعت خشک گردید، سپس آسیاب و الک شده و در بسته‌های پلاستیکی محافظ به هوا و رطوبت

1. Loading Capacity
2. Entrapment Yield

گرفتند. جذب نمونه‌ها در ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (ساخت انگلستان پی جی اینسترومنت مدل T80) خوانده شد و درصد مهار رادیکال DPPH از معادله زیر محاسبه شد [۱۹].

رابطه (۱):

$$I(\%) = \left(\frac{Abs_b - Abs_s}{Abs_b} \right) \times 100$$

Abs_b جذب نمونه شاهد (بدون ترکیب مؤثر)، Abs_s جذب نمونه می‌باشند.

۲-۴-۳-۲- فعالیت مهار رادیکال ABTS

فعالیت مهار رادیکال ABTS پودرهای هم‌متبلور با استفاده از روش تشریح شده توسط یو و همکاران (۲۰۱۰) با کمی اصلاحات تعیین گردید. محلول رادیکال ABTS با ترکیب نسبت حجمی یکسانی از ABTS در غلظت ۷ میلی‌مولار و ۲/۴۵ میلی‌مولار پتاسیم پرسولفات تهیه گردید. مخلوط در تاریکی و در دمای محیط به مدت ۱۶-۱۲ ساعت قبل از مصرف قرار داده شد. در این مدت، اکسیداسیون و تولید رادیکال $ABTS^+$ به وسیله پتاسیم پرسولفات انجام می‌گیرد. قبل از آزمون، محلول $ABTS^+$ با استفاده از PBS (pH=۷/۴) تا جذب 0.02 ± 0.07 در ۷۳۴ نانومتر رقیق شد. سپس ۴۰ میکرولیتر از هر نمونه به ۴ میلی-لیتر محلول رقیق شده ABTS افزوده شد. مخلوط برای ۳۰ ثانیه به شدت همزده شد و به مدت ۶ دقیقه در تاریکی قرار داده شد. جذب محلول نهایی در ۷۳۴ نانومتر اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد با واکنش ۴۰ میکرولیتر ترولوکس (۱۰۰۰، ۷۵۰، ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۰۰، ۵۰ میکرومولار) با ۴ میلی‌لیتر محلول رقیق شده $ABTS^+$ تهیه شد. درصد مهار رادیکال $ABTS^+$ نمونه‌ها بر اساس معادله زیر محاسبه گردید. همچنین، فعالیت مهار رادیکال $ABTS^+$ بر اساس منحنی استاندارد ترولوکس^۱ به شکل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل ترولوکس (میلی‌مولار TEAC) بیان گردید [۲۱].

رابطه (۲):

$$AA(\%) = [A_{blank} - A_{sample} / A_{blank}] \times 100$$

A_{blank} (جذب نمونه کنترل فاقد ترکیب فعال) و A_{sample} (جذب نمونه حاوی عصاره چای سبز) هستند.

۲-۴-۳-۳- تعیین قدرت احیاکنندگی

برای تعیین قدرت احیاکنندگی، ۰/۵ میلی‌لیتر نمونه حل‌شده در آب مقطر با ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار (pH=۶/۶) و ۰/۵ میلی‌لیتر پتاسیم فری سیانید ۱ درصد وزنی-حجمی مخلوط و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد برای ۲۰ دقیقه انکوبه شد. سپس، ۰/۵ میلی‌لیتر محلول اسید تری‌کلرو استیک ۱۰ درصد به مخلوط اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۵۰۰ rpm سانتریفوژ شد. در نهایت، ۱ میلی‌لیتر سوپرناتانت با ۱ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۲ میلی‌لیتر فریک کلراید ۰/۱ درصد وزنی-حجمی مخلوط گردید. جذب نمونه در ۷۰۰ نانومتر پس از ۱۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط، قرائت شد. حجم یکسانی از آب مقطر به جای نمونه برای تهیه نمونه کنترل استفاده شد. افزایش جذب مخلوط واکنش نشان‌دهنده افزایش قدرت احیاکنندگی است [۲۲].

۲-۴-۳-۴- فعالیت مهار رادیکال هیدروکسیل

فعالیت مهار رادیکال هیدروکسیل با استفاده از اکسیداسیون ۲-داکسی ریبوز بر طبق روش جامدار و همکاران (۲۰۱۰) تعیین شد. برای این آزمون، ۰/۲ میلی‌لیتر از مخلوط ۱۰ میلی‌مولار (FeSO₄-EDTA)، ۰/۵ میلی‌لیتر (۱۰ میلی‌مولار) آلفا داکسی ریبوز، ۰/۲ میلی‌لیتر نمونه، ۰/۹ میلی‌لیتر سدیم فسفات بافر ۰/۲ مولار (pH=۷/۴) و ۰/۲ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن (۱۰ میلی‌مولار) باهم مخلوط شدند. مخلوط در ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای ۱ ساعت انکوبه شد. سپس، ۱ میلی‌لیتر اسید تری‌کلرواستیک (TCA) ۲/۸ درصد برای توقف واکنش به مخلوط افزوده شد. مخلوط برای ۱۵ دقیقه در حمام آب جوش قرار، سپس در یخ سرد شده و جذب آن در ۵۳۲ نانومتر با اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. برای تهیه کنترل، حجم یکسانی آب مقطر استفاده گردید. نتایج به شکل درصد مهار رادیکال هیدروکسیل با استفاده از معادله زیر اندازه‌گیری شدند:

رابطه (۳):

$$\text{Inhibition}(\%) = (1 - A_s/A_b) \times 100$$

در اینجا، A_b جذب نمونه کنترل و A_s جذب نمونه است [۲۳].

۲-۴-۴-۲- دانسیته توده^۲ و دانسیته حاصل از ضربه^۳

برای این منظور مقدار ۲ گرم از پودر توزین و در استوانه‌ای مدرج ۱۰ میلی‌لیتری ریخته شد. دانسیته توده از نسبت جرم پودر به حجم اشغال‌شده در استوانه‌ی مدرج، به صورت (گرم

2. Bulk Density
3. Tapped Density

1. Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)

در این رابطه M درصد رطوبت، W_1 وزن ظرف خالی، W_2 مجموع وزن پودر و ظرف، W_3 مجموع وزن ظرف و پودر خشک شده بعد از آون گذاری می باشد.

۲-۴-۸ - فعالیت آبی پودر

فعالیت آبی پودر نیز با استفاده از دستگاه aw متر (ساخت سوئیس، شرکت نواسینا^۳، مدل AW SPRINT TH-500) تعیین شد. فعالیت آبی نمونه ها در محدوده دمایی 25 ± 0.5 خوانده شد. تمامی آزمون ها در سه تکرار انجام و میانگین آن ها گزارش شد. جهت کالیبراسیون دستگاه یک ساعت قبل از خواندن فعالیت آبی نمونه ها روشن گردید.

۲-۴-۹ - جاذب الرطوبگی^۴

درصد رطوبت جذب شده توسط هر گرم پودر هنگامی که به مدت یک هفته در مجاورت محلول اشباع سدیم کلراید در دمای محیط و رطوبت نسبی $RH = 75\%$ قرار داشتند، اندازه گیری شد و رطوبت هیگروسکوپی بر مبنای گرم رطوبت جذب شده به ازای هر ۱۰۰ گرم ماده جامد پودر بیان شد [۲۸].

۲-۴-۱۰ - حلالیت^۵

جهت تعیین انحلال پذیری پودرهای هم متبلور از روش بریستسن و همکاران (۱۹۹۴) استفاده شد. برای این منظور یک گرم پودر در دمای محیط با استفاده از همزن مغناطیسی (ساخت ایران، شرکت پل ایده آل پارس، مدل PIT300) در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد. نمونه برداری از محلول در زمان های مختلف انجام شده و جرم ساکارز محلول با استفاده از دستگاه رفراکتومتر (ساخت بلژیک، شرکت ستی، مدل ABBE Refractometer) تعیین گردید [۲۹].

۲-۴-۱۱ - میکروسکوپ الکترونی روبشی^۶ (SEM)

به منظور بررسی ساختار میکروسکوپی پودر تولیدی، از میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد. نمونه ها به وسیله ی دستگاه پوشش دهنده (ساخت کشور کره جنوبی، شرکت هیوشن تک مدل HC-21) تحت پوشش طلا قرار گرفتند. سپس با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (ساخت کشور کره جنوبی، شرکت پمترون^۷، مدل PS-230) از سطح

بر میلی لیتر) محاسبه گردید [۲۴]. سپس بعد از وارد کردن حدوداً ۱۰۰ ضربه متوالی به استوانه حاوی پودر با میانگین تقریبی ۶۰ ضربه در دقیقه و در نهایت ثابت شدن تغییرات حجم پودر در استوانه، دانسیته ضربه تعیین گردید. دانسیته ضربه ای از تقسیم وزن بر حجم حاصل محاسبه گردید [۲۵].

۲-۴-۵ - نسبت هاسنر^۱ و شاخص تراکم پذیری^۲

با استفاده از دانسیته ضربه ای و دانسیته توده، نسبت هاسنر و شاخص تراکم پذیری محاسبه شد [۲۶].
رابطه (۴):

$$HR = \frac{TD}{BD}$$

رابطه (۵):

$$CI = \frac{TD - BD}{BD}$$

در این فرمول ها HR (نسبت هاسنر)، CI (شاخص تراکم پذیری)، TD (دانسیته توده حاصل از ضربه) و BD (دانسیته توده) می باشند.

۲-۴-۶ - زاویه ی ریپوز

۲۵ گرم پودر را از درون قیف با قطر مجرای خروجی ۱۲ میلی متر، در ارتفاع ثابت عبور داده تا بر روی یک سطح افقی صاف ریخته شده و تشکیل توده دهد. زاویه ریپوز از طریق زاویه ی تشکیل شده به وسیله ی شیب توده محصول نسبت به سطح مبنا محاسبه می گردد [۹].

۲-۴-۷ - درصد رطوبت پودر

رطوبت پودر ریزپوشانی شده به کمک خشک کردن در آون ۱۰۵ درجه ی سانتی گراد به مدت ۲-۳ ساعت صورت گرفت. پس از آن پودرها در دسیکاتور با سیلیکاژل و در دمای اتاق سرد شدند. مقدار رطوبت از طریق معادله ی زیر محاسبه گردید. [۲۷]

رابطه (۶):

$$M\% = \frac{W_2 - W_1}{W_2 - W_3}$$

3. Novasina

4. Hygroscopicity

5. Solubility

6. Scanning Electron Microscope (SEM)

7. Pmetron

1. Hausner Ratio

2. Compressibility Index

خارجي نمونه هاي آماده شده با بزرگنمايي ۳۰۰ و ۱۰۰۰ با ولتاژ ۳ كيلوولت تصوير تهيه شد [۱۷].

۲-۵- آناليز آمري

تجزيه و تحليل داده ها در قالب طرح كاملاً تصادفي و با استفاده از نرم افزار SPSS ver.19 انجام شد و مقايسه ميانگين ها با استفاده از آزمون دانكن در سطح اطمينان ۹۵ درصد صورت گرفت. رسم نمودارها با نرم افزار اكسل انجام شد.

۳- نتايج و بحث

۳-۱- ظرفيت بارگيري و بازده ريزپوشاني

با توجه به نتايج آناليز واريانس، غلظت عصاره بر ميزان تركيبات فنلي، ظرفيت بارگيري و بازده فرايند تأثير معني داري داشت ($P < 0.05$). غلظت پلي فنل هاي عصاره چاي سبز بارگيري شده در پودر هاي هم متبلور كه حاوي عصاره ۳، ۵ و ۱۰ درصد بودند، به ترتيب در حدود ۰/۶۱۶، ۱/۰۸۰ و ۱/۸۵۵ ميلي گرم اسيد گاليك به ازاي يك گرم پودر تعيين شد. اين امر حاكي از آن است كه با افزايش در غلظت پلي فنل هاي موجود در عصاره، بعد از انجام فرايند هم تبلوري نيز مقادير بيشتر از پلي فنل ها در پودر هم متبلور توليدي، بارگيري شده

است. با توجه به جدول (۱) تفاوت معني داري ($P < 0.05$) براي پودر هم متبلور حاوي عصاره ۳ درصد در مقايسه با فراورده ي حاوي عصاره ۵ درصد و ۱۰ درصد مشاهده شد. وجود تفاوت معني دار در بازده تثبيت براي فراورده ي هم متبلور ۳ درصد در مقايسه با ۵ درصد و ۱۰ درصد ناشي از تخریب بيشتر پلي فنل هاي موجود در عصاره با غلظت کمتر تركيبات فنلي، طی فرايند حرارت دهی می باشد. نتايج به دست آمده با نتايج كاردوبا و همكاران (۲۰۱۵) كه غلظت پلي فنل هاي بارگيري شده در پودر هم متبلور حاوي عصاره ي ۱۰ درصد يربا مته را در حدود ۱/۸ ميلي گرم به ازاي يك گرم پودر هم-متبلور گزارش کرده بودند، مطابقت دارد [۳۰]. به طور ميانگين در اين تحقيق بازده فرايند در حدود ۸۸ درصد با وجود كار كردن در شرايط دمائي بالای ۱۲۵ درجه ي ساتي گراد به دست آمد. كاردوبا و همكاران (۲۰۱۴) بازده تثبيت را در حدود ۸۵ درصد در ريزپوشاني عصاره ي يربا مته در ماتريس ساكارز گزارش کردند. دلادينو و همكاران (۲۰۰۷) نيز بازده تثبيت را در فرايند ريزپوشاني عصاره ليوفيليزه يربا مته و نمك هاي معدني در ماتريس ساكارز در حدود ۷۲ درصد گزارش کردند [۱۷ و ۳۱].

Table 1 Loading capacity (mg gallic acid/ g powder) and entrapment yield of control and co-crystallized products

Co-Crystallized Product	Feed	Loading Capacity	Entrapment Yield
control	0.00 ± 0.00 ^d	0.00 ± 0.00 ^d	0.00 ± 0.00 ^d
3%	0.717 ± 0.12 ^c	0.616 ± 0.15 ^c	85.83 ± 0.46 ^c
5%	1.197 ± 0.16 ^b	1.080 ± 0.13 ^b	90.21 ± 0.91 ^b
10%	2.031 ± 0.12 ^a	1.855 ± 1.10 ^a	91.31 ± 0.752 ^a

*Values are means of 3 determinations ± SD. Same letters within a column indicate no significant difference ($P > 0.05$).

در اين رابطه Y و X به ترتيب معادل جذب نمونه در طول موج ۷۶۵ نانومتر و مقدار كل تركيبات فنلي بر اساس گرم اسيد گاليك در هر ۱۰۰ گرم پودر هم متبلور می باشد. با توجه به جدول (۲) مقايسه ميانگين ميزان تركيبات فنلي در غلظت هاي مختلف پودر هاي ريزپوشاني شده بين ۶۴ تا ۱۸۶ ميلي گرم اسيد گاليك بر ۱۰۰ گرم پودر هم متبلور متغير بوده است. درنتيجه اختلاف معني داري در ميزان تركيبات فنلي و ارتباط آن با

۳-۲- بررسي فعاليت آنتي اكسيداني عصاره

ريزپوشاني شده

۳-۲-۱- اندازه گيري تركيبات فنلي

معادله خط رگرسيوني كه رابطه غلظت محلول اسيد گاليك را با ميزان جذب نمونه ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر نشان می دهد، به صورت زير می باشد:

$$Y = 0.0011 + 0.0196X, R^2 = 0.9862$$

نتایج با افزایش غلظت عصاره، محتوای ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی اکسیدانی افزایش یافت [۳۵].

۳-۲-۳- بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی با آزمون ABTS

رادیکال کاتیون ABTS از رادیکال DPPH فعال تر است و به همین جهت به شکل گسترده‌ای در سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی به کار برده می‌شود. در این آزمون ابتدا اکسیداسیون ABTS در پی واکنش با پتاسیم پرسولفات رخ داده و رادیکال کاتیون‌های ABTS تولید شده که در ادامه با آنتی اکسیدان‌ها یا دیگر گونه‌های رادیکالی که دهنده هیدروژن می‌باشند، واکنش داده و به شکل کاهش یافته درمی‌آید. در نتیجه از طریق تعیین میزان کاهش جذب می‌توان به درصد بازدارندگی آنتی اکسیدان مورد نظر پی برد. فعالیت مهارکنندگی رادیکال در این آزمون بر اساس ظرفیت آنتی اکسیدانی معادل با ترولکس گزارش شد. همان‌طور که از جدول (۲) مشخص است، رابطه مستقیم بین غلظت عصاره چای سبز در پودر ریزپوشانی شده و قدرت آن در مهار رادیکال‌های ABTS وجود داشته و با افزایش غلظت عصاره، قدرت آنتی اکسیدانی آن نیز افزایش یافته است و از این نظر تفاوت معنی داری بین غلظت‌ها در سطح احتمال ۵ درصد وجود دارد. سایلک و همکاران (۲۰۱۲)، ترکیبات فنلی آلبالو را با روش خشک‌کن پاششی ریزپوشانی کردند. آن‌ها تأثیر نسبت‌های مختلف ماده هسته به ماده دیواره (۱۰:۱ و ۲۰:۱) را بر خصوصیات آنتی اکسیدانی عصاره ریزپوشانی شده مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاکی از آن بود که نسبت ۱۰:۱ قدرت بالاتری در مهار رادیکال‌های ABTS دارد و حضور ترکیبات فنلی بیش تر در نسبت ۱۰:۱ در مقایسه با نسبت ۲۰:۱ را علت خاصیت آنتی اکسیدانی بیش تر دانسته‌اند [۳۶].

۳-۲-۴- بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی با آزمون احیاکنندگی

در این روش توانایی عصاره‌ها برای احیاء آهن سه ظرفیتی و تبدیل آن به آهن دو ظرفیتی سنجیده می‌شود. حضور عوامل احیاءکننده منجر به احیاء کمپلکس‌های فری سیانید و تبدیل آن‌ها به فرم فروس می‌گردد. در این روش سنجش فعالیت‌های آنتی اکسیدانی بر اساس جذب نوری صورت می‌گیرد. در واقع توان احیاکنندگی جذب نوری نمونه‌ها رابطه

غلظت عصاره مشاهده شد. نتایج به دست آمده با نتایج کاردوبا و همکاران (۲۰۱۴) هم‌پوشانی داشت [۱۷].

۳-۲-۲- بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی با آزمون DPPH

جدول (۲) میزان مهار رادیکال DPPH را در حضور غلظت‌های مختلف عصاره ریزپوشانی شده نشان می‌دهد. با بررسی نتایج مشخص گردید که غلظت عصاره تأثیر معنی داری روی مهار رادیکال آزاد DPPH داشتند ($P < 0.05$). پودر هم‌متبلور حاوی ۱۰ درصد عصاره چای سبز به‌طور میانگین ۵۶/۹۰ درصد خاصیت مهارکنندگی رادیکال آزاد از خود نشان دادند درحالی‌که برای پودر هم‌متبلور حاوی ۳ درصد عصاره چای سبز به‌طور میانگین ۲۴/۷۹ درصد اندازه‌گیری شد. بین غلظت پلی‌فنل‌ها و فعالیت آنتی اکسیدانی ارتباط مستقیم وجود دارد چراکه در غلظت‌های بالا با افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیلی ترکیبات فنلی مواجه هستیم که احتمال دادن هیدروژن به رادیکال‌های آزاد افزایش یافته و به دنبال آن بر قدرت مهارکنندگی عصاره افزوده می‌شود [۳۲]. اما در غلظت‌های بسیار بالا تغییرات محسوسی در مهار رادیکال‌های آزاد مشاهده نمی‌شود زیرا یک غلظت بحرانی از فنل‌ها برای حداکثر فعالیت آنتی اکسیدانی کافی است و در غلظت‌های بالاتر از غلظت بحرانی به دلیل اشباعیت تأثیری در فعالیت آنتی اکسیدانی مشاهده نمی‌شود [۳۳]. نتایج به دست آمده با گزارشات ارائه شده برای فراورده هم‌متبلور یربا مته که در ماتریس ساکارز ریزپوشانی شد، مطابقت داشت [۱۷]. شجاعی علی‌آبادی و همکاران (۲۰۱۶)، عصاره آبی پوسته سبز گردو را در سه غلظت (۲، ۱، ۰/۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) با مالتودکسترین به عنوان ماده پوشش‌دهنده با روش خشک‌کن پاششی ریزپوشانی کردند. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره پوسته سبز گردو را به روش مهار رادیکال DPPH قبل و بعد از ریزپوشانی مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد کارایی ریزپوشانی با افزایش میزان غلظت عصاره افزایش یافت و عصاره آزاد و ریزپوشانی شده با غلظت ۲ میلی‌گرم/میلی‌لیتر بیش‌ترین اثر را در مهار رادیکال DPPH داشت [۳۴]. هم‌چنین نتایج به دست آمده با نتایج دیپالی و همکاران (۲۰۱۶) هم‌پوشانی داشت. دیپالی و همکاران بهینه‌سازی ریزپوشانی عصاره چای سبز را با روش خشک‌کن پاششی مورد بررسی قرار دادند. طبق

مستقيمي با توان احياءكنندگي دارد يعني جذب نوري بيشتر بيانگر خاصيت احياءكنندگي بيشتر است [37]. نتايج آناليز واريانس حاكي از آن بود كه پودر هاي هم متبلور از نظر غلظت هاي متفاوت عصاره در قدرت احياءكنندگي اختلاف معني داري ($P < 0.05$) با يكدگر دارند. بيشترين و كمترين خاصيت احياءكنندگي به ترتيب مربوط به پودر هم متبلور حاوي 10 درصد عصاره چاي سبز و نمونه شاهد بود. سببگونگي و همكاران (2014) عصاره گياه يانانگ را با روش خشك كن پاششي ريزپوشاني كردند. طبق گزارش آن ها نسبت 1: 4 ماده هسته به ديواره در مقايسه با نسبت 1: 6 داراي قدرت احياءكنندگي بالاتري بود. همچنين قدرت بالاتري در بازدارندگي راديكال هاي ABTS از خود نشان داد [38].

3-2-5- فعاليت مهار راديكال هيدروكسيل

راديكال هيدروكسيل از طريق واكنش Fenton از مولكول O_2 و H_2O_2 توليد مي شود. اگرچه كاملاً آشكار نشده است كه آيا واكنش Fenton مسئول توليد راديكال هيدروكسيل در بافت هاي زنده تحت شرايط بيماري است يا واكنش هاي ديگري اين راديكال را ايجاد مي كند. در هر صورت مهم اين

است كه ظرفيت مهاركنندگي راديكال هيدروكسيل توسط مواد غذايي و دارويي اندازه گرفته شود [39]. در اين روش از بنزوئيك اسيد يا محلول 1-داكسي 1-ريبوز به عنوان منبع توليدكننده فلوئورسنس استفاده مي شود. راديكال آزاد توليدي با مواد توليدكننده فلوئورسنس وارد واكنش شده و شدت تابش آن را کاهش مي دهد. چنان چه در محيط آنتي اكسيدان وجود داشته باشد اين تغييرات را تحت تاثير قرار مي دهد. از اين خاصيت جهت تعيين ظرفيت مهاركنندگي آنتي اكسيدان استفاده مي شود [40]. همان طور كه در جدول (2) مشخص است، رابطه مستقيم بين غلظت عصاره در پودر هم متبلور و قدرت آن در مهار راديكال هاي هيدروكسيل وجود داشته و با افزايش غلظت عصاره، قدرت مهاركنندگي آن نيز افزايش يافته است. به طور كلي ارزيابي فعاليت آنتي اكسيداني پودر هاي حاوي غلظت هاي مختلف عصاره نشان داده با افزايش غلظت عصاره، فعاليت آنتي اكسيداني پودرها به گونه اي معني دار ($P < 0.05$) افزايش مي يابد و يك ارتباط خطي بين خاصيت مهاركنندگي راديكال آزاد و غلظت پلي فنل هاي عصاره اي چاي سبز مشاهده شد.

Table 2 Results of antioxidant activity tests of co-crystallized product

co-crystallized product	Total polyphenols content (mg of gallic acid/ 100 g co-crystallized)	DPPH inhibiting activity (%)	ABTS inhibiting activity (%)	Reducing Power (Absorbance in 700 nm)	Hydroxyl inhibiting activity (%)
control	0.00 ± 0.00^d	3.44 ± 1.44^d	40.80 ± 0.55^d	0.47 ± 0.005^d	11.46 ± 1.33^d
3%	64.00 ± 0.01^c	24.79 ± 1.11^c	60.42 ± 1.88^c	0.66 ± 0.005^c	38.20 ± 2.25^c
5%	105.00 ± 0.02^b	43.11 ± 0.92^b	65.37 ± 1.37^b	0.76 ± 0.006^b	60.08 ± 0.88^b
10%	186.00 ± 0.03^a	56.90 ± 1.15^a	71.63 ± 1.69^a	0.81 ± 0.005^a	69.27 ± 1.03^a

*Values are means of 3 determinations $\pm$ SD. Same letters within a column indicate no significant difference ($P > 0.05$).

0.669/ (گرم/ سانتی متر مکعب) متغیر بود. هم چنین تفاوت معنی داری در میزان چگالی ضربه ای اندازه گیری شده برای نمونه ها با اندازه ی ذرات متفاوت (0.5 و 1 میلی متر) در سطح 5 درصد مشاهده شد. نتایج به دست آمده با دامنه مقادیر گزارش شده توسط بریستین و همکاران (1996) که روغن پوست پرتقال را در ماتریس ساکارز ریزپوشانی کردند، مطابقت داشت [29]. در این مطالعه، همان گونه که در شکل 1 و 2 مشاهده می کنید غلظت های مختلف عصاره به کار برده

3-3- خواص فیزیکی و جریان پذیری پودر

هم متبلور

3-3-1- چگالی توده ای و ضربه ای

در مقایسه ی چگالی توده ای پودر های هم متبلور، به طور کلی پودر هایی که دارای اندازه ی ذرات 0.5 میلی متر بودند از چگالی توده ای بالاتری برخوردار بودند. چگالی توده ای پودرها برای اندازه ذرات 0.5 میلی متر بین 0.717-0.710 (گرم/ سانتی متر مکعب) و برای اندازه ذرات 1 میلی متر بین 0.687-

تمایل پودر به جریان در شرایط معینی (جریان پذیری) بر تعداد زیادی از کاربردهای صنعتی تأثیر می‌گذارد. انجام یک آزمون جریان پذیری، به دلیل تنوع مواد گرانولی قابل اعتماد و به‌طور گسترده‌ای قابل تعمیم نیست [۴۱]. شاخص‌های هاسنر، تراکم پذیری و زاویه ریپوز پارامترهای کاربردی برای ارزیابی خواص جریان پودر و همچنین تعیین قابلیت قرص شوندگی پودرها هستند.

نسبت هاسنر تابعی از چگالی توده‌ای و چگالی ضربه‌ای می‌باشد. این نسبت معمولاً برای بیان سهولت سیال سازی مواد پودری به کار می‌رود. پودرهایی که سیال‌ترند دارای نسبت هاسنر کمتر از ۱/۲۵ می‌باشند درحالی‌که پودرهایی که غیر سیال می‌باشند دارای نسبت هاسنر بیشتر از ۱/۴ می‌باشند [۴۲]. نسبت هاسنر برای اندازه ذرات ۰/۵ میلی‌متر بین ۱/۱۰-۱/۱۳ و برای اندازه ذرات ۱ میلی‌متر بین ۱/۰۴۱-۱/۰۲۹ متغیر بود. همان‌طور که در جدول (۳) مشاهده می‌کنید اندازه ذرات تأثیر معنی‌داری بر مقدار نسبت هاسنر داشتند. نسبت هاسنر معیاری از جریان‌پذیری مواد توده‌ای است لذا کاهش نسبت هاسنر با افزایش اندازه ذرات بیانگر افزایش جریان‌پذیری مواد توده‌ای می‌باشد. هرچه اندازه ذرات ریزتر باشد، تعداد ذرات بیشتری باهم در تماسند که منجر به افزایش فضای خالی بین آن‌ها می‌شود. درواقع ذرات، تشکیل قوس‌های مکانیکی داده که باعث ایجاد فضاهای خالی زیادی در توده مواد می‌شود. حال اگر این توده مواد ریز، تحت ضربه قرار گیرند این فضاهای خالی درهم‌شکسته شده و ذرات در کنار هم قرار می‌گیرند و این باعث می‌شود که دانسیته ضربه‌ای کم و در نتیجه نسبت هاسنر افزایش یابد [۴۳]. با توجه به مقادیر گزارش شده برای نسبت هاسنر، پودرهای به‌دست‌آمده طی فرایند هم‌تبلوری از جریان‌پذیری مناسبی برخوردارند. نتایج مشابهی برای پودرهای هم‌تبلور حاوی عصاره‌ی مته گزارش شده است [۱۷]. نسبت هاسنر و تراکم‌پذیری بالا نشان‌دهنده توانایی فشردگی مواد است درحالی‌که مواد با نسبت هاسنر و تراکم‌پذیری پایین جریان پذیری آزاد دارند [۴۳]. تغییرات شاخص تراکم‌پذیری با افزایش اندازه ذرات دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

۳-۳-۳- زاویه ریپوز

طبق طبقه‌بندی پلگ (۱۹۷۷)، فراورده‌های پودری با زاویه‌ی ریپوز ۵۰° و بالاتر از آن خصوصیات جریان‌پذیری نامناسب و

شده در تولید پودر، تأثیر معنی‌داری بر تغییرات چگالی نداشتند درحالی‌که اندازه ذرات تأثیر معنی‌داری ($P > 0.05$) را از خود نشان داد.

نادم و همکاران (۲۰۱۳)، تغییرات چگالی توده‌ای پودرهای حامل عصاره آبی نوعی چای کوهستانی که با روش خشک‌کن پاششی حاصل شد را بین ۰/۲۹۸-۰/۴۵۰ (گرم/سانتی‌متر مکعب) گزارش کردند. ۱۳ درصد افزایش چگالی توده‌ای با افزایش مواد حامل تا ۵ درصد مشاهده شد. آن‌ها این میزان از افزایش را به افزایش مواد جامد محلول ربط داده‌اند [۱۵].

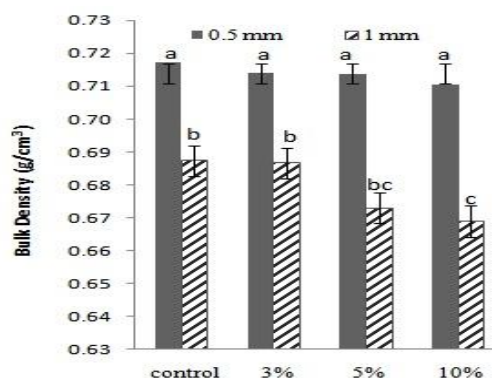


Fig 1 Bulk density of co-crystallized products with different particle size: (■) co-crystallized products retained in a 0.5 mm mesh and (▨) retained in a 1 mm mesh.

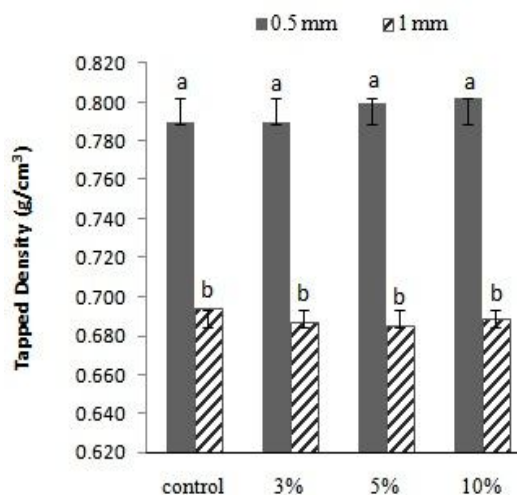


Fig 2 Tapped density of co-crystallized products with different particle size: (■) co-crystallized products retained in a 0.5 mm mesh and (▨) retained in a 1 mm mesh.

۳-۳-۲- نسبت هاسنر و شاخص تراکم‌پذیری

اندازه بر ويژگي هاي جرياني شگر آگلومره شده در اندازه هاي مختلف را مورد مطالعه قرار داده بودند مطابقت داشت. نتايج آن ها نشان داد كه با افزايش اندازه ي ذرات، زاويه ي ريپوز كاهش مي يابد كه اين عمدتاً به دليل كاهش تمايل به جاذب-الرطوبه بودن و چسبندگي ذرات بزرگ تر به يكدگر مي باشد [45]. نتايج حاصل از دانسيته، شاخص تراكم پذيري، زاويه ريپوز و نسبت هاسنر همگي حاكي از مناسب بودن خواص حركتي و جريان يابي پودر هاي هم متبلور مي باشد.

در مقابل فراورده هاي پودري با زاويه ي ريپوز کمتر از 40° داراي خصوصيات جريان پذيري مناسب مي باشند [44]. مقادير زاويه ي ريپوز براي پودر هم متبلور در جدول (3) آورده شده است. نتايج تفاوت معني دار ($P < 0.05$) در مقادير زاويه ي ريپوز اندازه گيري شده براي پودر هاي هم متبلور با اندازه ي ذرات 0.5 و 1 ميلي متر نشان داد. پودر هاي با اندازه ي ذرات 0.5 ميلي متر زاويه ي ريپوز بيش تر در نتيجه جريان پذيري كم تري در مقايسه با پودر ها با اندازه ي ذرات 1 ميلي متر داشتند. نتايج به دست آمده با يافته هاي تنو و همكاران (1995) كه اثر

Table 3 Flowability of control and co-crystallized products with different particle size.

Co-Crystallized Product	Hausner Ratio		Compressibility Index		Repose Angle ($^\circ$)	
	0.5 mm	1 mm	0.5 mm	1 mm	0.5 mm	1 mm
control	1.100 ± 0.20^a	1.041 ± 0.03^b	0.091 ± 0.08^a	0.039 ± 0.40^d	38.66 ± 0.04^a	34.00 ± 0.01^b
3%	1.106 ± 0.01^a	1.031 ± 0.10^b	0.096 ± 0.04^a	0.030 ± 0.20^c	37.00 ± 0.01^a	34.04 ± 0.11^b
5%	1.121 ± 0.05^a	1.030 ± 0.20^b	0.107 ± 0.10^a	0.028 ± 0.25^b	36.33 ± 0.01^a	31.66 ± 0.15^b
10%	1.130 ± 0.20^a	1.029 ± 0.05^b	0.115 ± 0.02^a	0.028 ± 0.20^a	38.33 ± 0.02^a	32.33 ± 0.25^b

*Values are means of 3 determinations $\pm$ SD. Same letters within a column indicate no significant difference

($P > 0.05$).

همكاران (2007) ميزان فعاليت آبي را براي پودر هاي هم متبلور حاوي عصاره ي پربا مته همراه نمك هاي معدني کمتر از 0.47 گزارش كردند. در پژوهشي ديگر محتوای رطوبتي عصاره نوعی چای کوهستانی که با خشک کن پاششی ریزپوشانی شد کمتر از 5 درصد و فعاليت آبی پودر در محدوده $0.294 - 0.253$ براي نمونه کنترل و $0.402 - 0.258$ براي نمونه هاي حاوي مواد حامل گزارش شد. با افزايش ميزان مواد حامل در واقع غلظت هيدروكلويد نيز افزايش يافته و منجر به كاهش فعاليت آبي شد [15 و 3].

3-5- ميزان درصد جذب رطوبت

در جدول (4) ميزان جاذب الرطوبي پودر ها كه مورد آزمون قرار گرفتند مشاهده مي شوند. ميزان درصد جذب رطوبت در نمونه هايي كه داراي درصد بالاتري از عصاره در تركيب خود بودند افزايش يافت كه اين امر را مي توان به افزايش ميزان عصاره ي بارگيري شده در پودر نسبت داد. در تحقيقي مشابه كه توسط دلادينو و همكاران (2007)، بر عصاره پربا مته به روش هم تبلوري انجام شد، با بررسي اثر غلظت هاي متفاوت عصاره بر ميزان جاذب الرطوبي پودر ها مشاهده شد كه با

3-4- مقدار رطوبت و فعاليت آبي

ميانگين محتوای رطوبتي پودر هاي هم متبلور در جدول (4) آمده است. با افزايش درصد عصاره در تركيب ديواره، رطوبت نمونه افزايش يافت اما تفاوت معني داري ($P > 0.05$) در ميزان محتوای رطوبتي براي پودر هاي حاوي مقادير مختلف عصاره مشاهده نشد. بندري و هارتل (2002) كه فرايند هم تبلوري ساكارز را در حضور غلظت هاي بالاي گلوکز و فروكروز موردبررسي قرار دادند، گزارش كردند ميزان رطوبت فراورده ي هم متبلور فاقد تركيبات فعال در نتيجه ي وجود بخش هاي بلوري در فراورده، بسيار پايين است. در صورتي كه با افزايش ميزان گلوکز و فروكروز به دليل افزايش نواحي آمورف در فراورده، محتوای رطوبتي افزايش مي يابد. به طور كلي رطوبت محصول تحت تأثير درجه حرارت و رطوبت بخار هوا قرار دارد [26 و 46]. محتوای رطوبتي پلی فنل هاي ریزپوشانی شده چای سبز با روش خشک کن پاششی و خشک کن انجمادی به ترتيب بين $7.4 - 3.66$ و $11 - 4.85$ درصد توسط پاسريجا و همكاران (2015) گزارش شد [13]. دامنه فعاليت آبي پودر هاي هم متبلور نيز بين $0.290 - 0.322$ بود. دلادينو و

همکاران (۲۰۱۴) مطابقت داشت [۱۷]. پودرهای ریزپوشانی شده عمدتاً تحت تأثیر سطح و ساختار ذرات قرار دارند. اگر میزان جاذب الرطوبگی پودر کمتر از ۱۰ درصد باشد می‌توان به‌عنوان پودر فاقد خاصیت جاذب الرطوبگی در نظر گرفت [۴۷].

افزایش غلظت عصاره توانایی جذب رطوبت پودر ریزپوشانی شده بالا رفته و موجب حساسیت بیشتر نسبت به واکنش‌های تخریبی در طی زمان نگهداری شد [۳۱]. همچنین تفاوت معنی‌داری در میزان جاذب الرطوبگی برای پودرها با اندازه‌ی ذرات مختلف مشاهده نشد که با نتایج کاردوبا و

Table 4 Physical properties of control and co-crystallized products.

Co-Crystallized Product	Hygroscopicity (%)		Moisture Content (%)	Water Activity (%)
	0.5 mm	1 mm		
control	0.120 ± 0.008 ^d	0.120 ± 0.008 ^d	0.133 ± 0.09 ^a	0.29 ± 0.02 ^b
3%	0.147 ± 0.004 ^c	0.133 ± 0.009 ^{cd}	0.140 ± 0.45 ^a	0.302 ± 0.25 ^{ab}
5%	0.217 ± 0.004 ^b	0.207 ± 0.012 ^b	0.153 ± 0.02 ^a	0.322 ± 0.12 ^{ab}
10%	0.347 ± 0.009 ^a	0.340 ± 0.008 ^a	0.157 ± 0.20 ^a	0.316 ± 0.10 ^{ab}

*Values are means of 3 determinations ± SD. Same letters within a column indicate no significant difference ($P > 0.05$).

مدت زمان حلالیت برای همه‌ی نمونه‌ها در حدود ۴۵ ثانیه تعیین شد زیرا بعد از گذشت این زمان تفاوتی در جرم ساکارز خوانده شده توسط دستگاه رفرکتومتر مشاهده نشد. سرعت حلالیت برای ساکارز در مقایسه با نمونه‌ی شاهد هم‌متبلور و نیز فراورده‌ی هم‌متبلور حاوی عصاره‌ی آبی در زمان‌های ۰، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۵۰ ثانیه در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). درواقع فرایند هم‌تبلوری ساختار متراکم و منظم ساکارز را به ساختاری نامنظم تبدیل و ترکیبات فعال در فضای متخلخل ایجاد شده جای می‌گیرند. با توجه به تخلخل، محلول‌های آبی می‌توانند به راحتی به این ساختارها نفوذ کرده و ترکیبات هسته را به منظور حلالیت آزاد کنند [۴۸]. با افزایش غلظت عصاره تفاوت معنی‌داری در سرعت حلالیت پودرهای هم‌متبلور حاوی غلظت‌های مختلف عصاره مشاهده نشد ($P > 0.05$). نتایج به دست آمده با نتایج کاردوبا و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت داشت [۱۷].

۳-۷- میکروسکوپ الکترونی

همان‌طور که در شکل (۳) مشاهده می‌شود، ساختار سطحی همه نمونه‌ها به صورت متخلخل می‌باشد که در نتیجه‌ی شکل‌گیری آگلومره‌های خوشه‌مانند است. ترکیبات فعال طی فرایند هم‌تبلوری در این فضاها قرار می‌گیرند و درواقع کارایی فرایند ریزپوشانی در روش هم‌تبلوری به ایجاد یک ساختار متخلخل وابسته است. مشاهدات مشابهی برای پودرهای هم‌متبلور حاوی عصاره‌ی یربا مته (کاردوبا و همکاران، ۲۰۱۴)، پودر هم‌متبلور حاوی عصاره‌ی یربا مته و نمک‌های معدنی (دلادینو

۳-۶- حلالیت

میزان حلالیت ساکارز، نمونه‌ی شاهد هم‌متبلور و پودرهای هم‌متبلور حاوی عصاره ۳، ۵ و ۱۰ درصد چای سبز در واحد زمان در شکل (۳) آورده شده است.

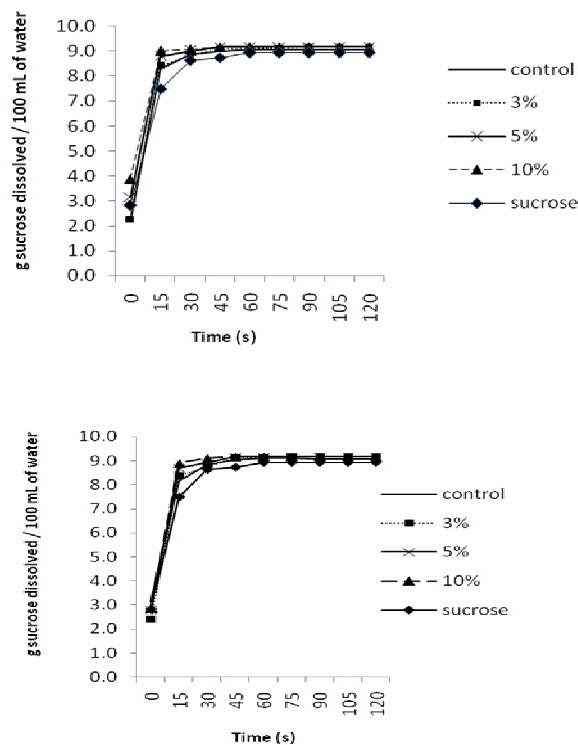


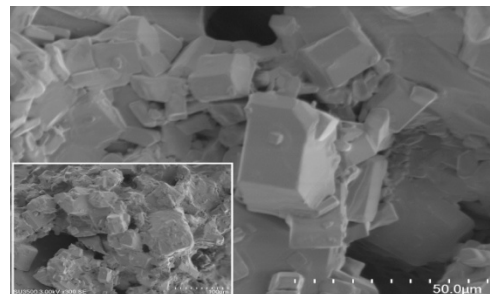
Fig 3 Solubility of co-crystallized products with different particle size: (a) co-crystallized products retained in a 0.5 mm mesh and (b) retained retained in a 1 mm mesh.

خود نشان‌دهنده‌ی قرارگیری ترکیبات در ساختار فراورده هم‌متبلور می‌باشد. در انتها با توجه ویژگی‌های ذکر شده می‌توان گفت این فراورده می‌تواند در محصولات قنادی، دسر و همچنین در آبنبات و شکلات که در فرمولاسیون آن‌ها از مقدار زیادی ساکارز استفاده شده است به کار رود.

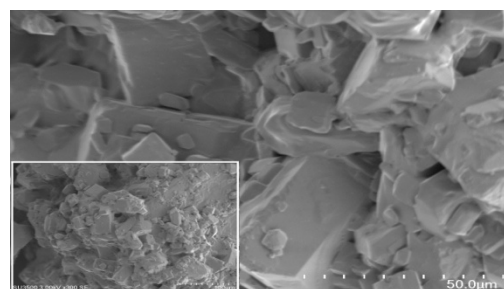
۵- منابع

- [1] Bhagwat, S., Beecher, G. R., Haytowitz, D. B., Holden, J.M., Dwyer, J., Peterson, J. and Gebhardt S. E. 2003. Flavonoid composition of tea: Comparison of black and green teas. Agricultural Research Service. Usda database for the flavonoid content of selected foods. Home Page. Available: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>
- [2] Kumar, A. 2006. Antioxidants: Natural and Synthetic. Amani International Publishers, ISBN-10: 3-938054-05-0.
- [3] Wijngaard, H.H., Rößle, C. and Brunton, N., 2009. A survey of Irish fruit and vegetable waste and by-products as a source of polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 116(1), pp.202-207
- [4] Klein, T., Longhini, R., Bruschi, M.L. and de Mello, J.C., 2015. Microparticles containing guaraná extract obtained by spray-drying technique: development and characterization. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25(3), pp.292-300.
- [5] Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R. and De B. 2010. Free Radicals, Antioxidants, Diseases and Phytomedicines: Current Status and Future Prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 3: 91-100.
- [6] Kim, E.S., Liang, Y.R., Jin, J., Sun, Q.F., Lu, J.L., Du, Y.Y. and Lin, C., 2007. Impact of heating on chemical compositions of green tea liquor. *Food chemistry*, 103(4), pp.1263-1267.
- [7] Ananingsih, V.K., Sharma, A. and Zhou, W., 2013. Green tea catechins during food processing and storage: a review on stability and detection. *Food Research International*, 50(2), pp.469-479.
- [8] Hundre, S.Y., Karthik, P. and Anandharamakrishnan, C., 2015. Effect of whey protein isolate and β -cyclodextrin wall systems on stability of microencapsulated vanillin by spray-freeze drying method. *Food chemistry*, 174, pp.16-24.

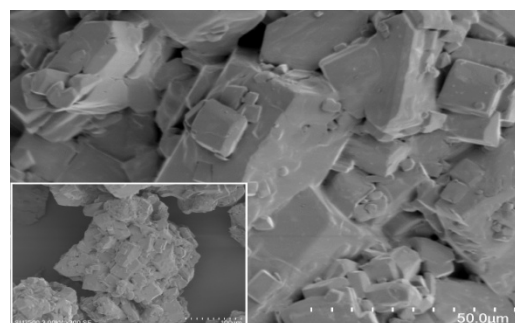
و همکاران، ۲۰۰۷، ۲۰۱۰) و پودرهای هم‌متبلور حاوی فروکتوز و گلوکز (بی‌هاندی و هارتل، ۲۰۰۲) ارائه شده است که با مشاهدات حاصل از این پژوهش مطابقت دارد [۱۷، ۳۱ و ۴۶].



a



b



c

Fig 4 SEM microphotographs of co-crystallized products: (a) sucrose (b) 3% green tea extract (c) 10% green tea extract.

۴- نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان‌دهنده‌ی کارایی فرایند هم‌تبلوری در تولید پودرهای حاوی ترکیبات فنولی عصاره‌ی چای سبز با ویژگی‌های فیزیکی از قبیل مقدار رطوبت پایین، حلالیت و رفتار جریان‌پذیری مناسب بوده و همچنین تعیین محتوای فنل کل در غلظت‌های استفاده شده نشان‌دهنده‌ی اثر مستقیم این شاخص بر مقدار هر یک از شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. ارزیابی تصاویر میکروسکوپ الکترونی بر وجود آگلومره‌های خوشه‌ای متخلخل دلالت داشت که این

- Journal of Food Engineering*, 124, pp.158-165.
- [20] Singleton, V. L., Orthofer, R., and Lamuela-Raventos, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*, 299: 152-178.
- [21] You, L., Zhao, M., Regenstien, J.M. and Ren, J., 2010. Changes in the antioxidant activity of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysates during a simulated gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 120(3), pp.810-816.
- [22] Ahmadi, F., Kadivar, M. and Shahedi, M., 2007. Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaff. in model and food systems. *Food chemistry*, 105(1), pp.57-64.
- [23] Jamdar, S.N., Rajalakshmi, V., Pednekar, M.D., Juan, F., Yardi, V. and Sharma, A., 2010. Influence of degree of hydrolysis on functional properties, antioxidant activity and ACE inhibitory activity of peanut protein hydrolysate. *Food Chemistry*, 121(1), pp.178-184.
- [24] Goula, A.M. and Adamopoulos, K.G., 2005. Spray drying of tomato pulp in dehumidified air: I. The effect on product recovery. *Journal of Food Engineering*, 66(1), pp.25-34.
- [25] Pordesimo, L.O., Onwulata, C.I. and Carvalho, C.W.P., 2009. Food powder delivery through a feeder system: effect of physicochemical properties. *International Journal of Food Properties*, 12(3), pp.556-570.
- [26] Jinapong, N., Supphantharika, M. and Jamnong, P., 2008. Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, 84(2), pp.194-205.
- [27] AOAC. (2005). Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, Vol. II. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists.
- [28] Callahan, J.C., Cleary, G.W., Elefant, M., Kaplan, G., Kensler, T. and Nash, R.A., 1982. Equilibrium moisture content of pharmaceutical excipients. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 8(3), pp.355-369.
- [29] Beristain, C.I., Mendoza, R.E., Garcia, H.S. and Vazquez, A., 1994. Cocrystallization of Jamaica (*Hibiscus*
- [9] Karthik, P. and Anandharamakrishnan, C., 2013. Microencapsulation of docosahexaenoic acid by spray-freeze-drying method and comparison of its stability with spray-drying and freeze-drying methods. *Food and Bioprocess Technology*, 6(10), pp.2780-2790.
- [10] Jackson, L.S. and Lee, K., 1991. Microencapsulation and the food industry. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 24(4), pp.289-297.
- [11] Bhandari, B.R., Datta, N., D'Arcy, B.R. and Rintoul, G.B., 1998. Co-crystallization of honey with sucrose. *LWT-Food Science and Technology*, 31(2), pp.138-142.
- [12] Chen, A.C., Veiga, M.F. and Rizzuto, A.B., 1988. Cocrystallization: an encapsulation process. *Food technology (USA)*.
- [13] Pasrija, D., Ezhilarasi, P.N., Indrani, D. and Anandharamakrishnan, C., 2015. Microencapsulation of green tea polyphenols and its effect on incorporated bread quality. *LWT-Food Science and Technology*, 64(1), pp.289-296.
- [14] Wang, J., Li, H., Chen, Z., Liu, W. and Chen, H., 2016. Characterization and storage properties of a new microencapsulation of tea polyphenols. *Industrial Crops and Products*, 89, pp.152-156.
- [14] Nadeem, H.Ş., Torun, M. and Özdemir, F., 2011. Spray drying of the mountain tea (*Sideritis stricta*) water extract by using different hydrocolloid carriers. *LWT-Food Science and Technology*, 44(7), pp.1626-1635.
- [16] Bhushani, J.A., Kurrey, N.K. and Anandharamakrishnan, C., 2017. Nanoencapsulation of green tea catechins by electrospraying technique and its effect on controlled release and in-vitro permeability. *Journal of Food Engineering*, 199, pp.82-92.
- [17] Jayasekera, S., Molan, A.L., Garg, M. and Moughan, P.J., 2011. Variation in antioxidant potential and total polyphenol content of fresh and fully-fermented Sri Lankan tea. *Food chemistry*, 125(2), pp.536-541.
- [18] Malik, N.S., & Bradford, J.M. 2008. Recovery and stability of oleuropein and other phenolic compounds during extraction and processing of olive (*Olea europaea* L.) leaves. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 6(2): 8-13.
- [19] López-Córdoba, A., Deladino, L., Agudelo-Mesa, L. and Martino, M., 2014. Yerba mate antioxidant powders obtained by co-crystallization: Stability during storage.

- [39] Chung, K., Haddad, L., Ramakrishna, J. and Riely, F., 1997. Identifying the food insecure: The application of mixed method approaches in India. International Food Policy Research Institute, Washington, DC, USA. *Washington, DC, USA*.
- [40] Mandal, P., Misra, T.K. and Ghosal, M., 2009. Free-radical scavenging activity and phytochemical analysis in the leaf and stem of *Drymaria diandra* Blume. *Int J Integr Biol*, 7(2), pp.80-84 [30] Capannesi, C., Palchetti, I., Mascini, M. and Parenti, A., 2000. Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. *Food Chemistry*, 71(4), pp.553-562.
- [41] Santomaso, A., Lazzaro, P. and Canu, P., 2003. Powder flowability and density ratios: the impact of granules packing. *Chemical Engineering Science*, 58(13), pp.2857-2874.
- [42] Geldart, D.N.A.C., Harnby, N. and Wong, A.C., 1984. Fluidization of cohesive powders. *Powder Technology*, 37(1), pp.25-37.
- [43] Bodhimage, A.K., 2006. *Correlation between physical properties and flowability indicators for fine powders* (Doctoral dissertation).
- [44] Peleg, M., 1977. Flowability of food powders and methods for its evaluation—a review. *Journal of Food Process Engineering*, 1(4), pp.303-328.
- [45] Teunou, E., Vasseur, J. and Krawczyk, M., 1995. Measurement and interpretation of bulk solids angle of repose for industrial process design. *Powder Handling and Processing*, 7(3), pp.219-228.
- [46] Bhandari, B.R. and Hartel, R.W., 2002. Co-crystallization of Sucrose at High Concentration in the Presence of Glucose and Fructose. *Journal of food science*, 67(5), pp.1797-1802.
- [47] Bhandari, B.R., Bansal, N., Zhang, M. and Schuck, P. eds., 2013. *Handbook of food powders: Processes and properties*. Elsevier.
- [48] Shahidi, F. and Han, X.Q., 1993. Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 33(6), pp.501-547.
- [49] Mandal, P., Misra, T.K. and Ghosal, M., 2009. Free-radical scavenging activity and phytochemical analysis in the leaf and stem of *Drymaria diandra* Blume. *Int J Integr Biol*, 7(2), pp.80-84.
- sabdarifa L.) granules. *LWT-Food Science and Technology*, 27(4), pp.347-349.
- [30] López-Córdoba, A., Matera, S., Deladino, L., Hoya, A., Navarro, A. and Martino, M., 2015. Compressed tablets based on mineral-functionalized starch and co-crystallized sucrose with natural antioxidants. *Journal of Food Engineering*, 146, pp.234-242.
- [31] Deladino, L., Anbinder, P.S., Navarro, A.S. and Martino, M.N., 2007. Co-crystallization of yerba mate extract (*Ilex paraguariensis*) and mineral salts within a sucrose matrix. *Journal of food engineering*, 80(2), pp.573-580.
- [32] Zhang, Z., Liao, L., Moore, J., Wu, T. and Wang, Z., 2009. Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia* L.). *Food chemistry*, 113(1), pp.160-165.
- [33] Rumbaoa, R.G.O., Cornago, D.F. and Geronimo, I.M., 2009. Phenolic content and antioxidant capacity of Philippine potato (*Solanum tuberosum*) tubers. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(6), pp.546-550.
- [34] Shojaee-aliabadi, S. and Hosseini, S.M., 2016. A Comprative Study of Antimicrobial and Antioxidant Properties of Walnut Green Husk Aqueous Extract before and after Microencapsulation. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 11(2), pp.113-124.
- [35] Tengse, D.D., Priya, B. and Kumar, P.A.R., 2017. Optimization for encapsulation of green tea (*Camelliasinensis* L.) extract by spray drying technology. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(1), pp.85-92.
- [36] Cilek, B., Luca, A., Hasirci, V., Sahin, S. and Sumnu, G., 2012. Microencapsulation of phenolic compounds extracted from sour cherry pomace: effect of formulation, ultrasonication time and core to coating ratio. *European Food Research and Technology*, 235(4), pp.587-596.
- [37] Jayaprakasha, G.K., Singh, R.P. and Sakariah, K.K., 2001. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food chemistry*, 73(3), pp.285-290.
- [38] Singthong, J., Oonsivilai, R., Oonmetta-Aree, J. and Ningsanond, S., 2014. Bioactive compounds and encapsulation of Yanang (*Tiliacora triandra*) leaves. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 11(3), pp.76-84.

Physiochemical properties and antioxidant activities of green tea extract microencapsulated by co-crystallization technique

Akbari, M.¹, Sadeghi Mahoonak, A.^{2*}, Sarabandi, Kh.³, Ghorbani, A.¹

1. MSc, Faculty of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
2. Associate Professor, Faculty of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
3. Ph.D, Faculty of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

(Received: 2018/02/04 Accepted:2018/05/20)

Green tea leaf is a non-fermented product which contains many phenolic compounds. Green tea polyphenols are natural compound with antioxidants and anti-carcinogenic potential. Polyphenols are sensitive to environmental conditions. To improve the stability of polyphenols, green tea extract was microencapsulated by co-crystallization technique. Entrapment yield, loading capacity, antioxidant activity, characteristics of co-crystallized product such as moisture, water activity, bulk and tapped density, solubility and hygroscopicity, morphology as well as flow ability properties of powder (carr index, hausner ratio and angle of repose) were characterized. It was revealed that the effect of concentration on total phenolic compounds of co-crystallized products was significant ($p<0.05$). Encapsulation efficiency was increased by raising the extract concentration. The 10% concentration of microencapsulated extract showed the highest DPPH scavenging activity, ABTS and hydroxyl radicals inhibition activity, and reducing power (56.90, 69.37, 71.63% & 0.81, respectively). The difference in particle size of co-crystallized product was significantly ($p<0.05$) influenced the flow properties. In general, the values of water activity, moisture content and hygroscopicity showed that co-crystallized product was stable and it had good characteristics during storage. Therefore, microencapsulation by co-crystallization technique can be used as an efficient method for increasing the stability of green tea extract against the environmental conditions.

Keywords: Antioxidant activity, Aqueous extract, Co-crystallization, Green tea, Hygroscopicity.

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