مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی پایداری نانوکپسول هیدرولیزات زئین - ویتامین D_3 در آب پرتقال با استفاده از فراصوت و تأثیر آن بر ویژگی‌های آب پرتقال

بهاره صدر[۱]، آینازعلیزاده [۲*]، مهناز طبیبی آذر[۳]، حامد همیشه کار[٤] ، لیلا روفه گری نژاد[۲]

۱-دانشجوی دکتری تخصصی گروه علوم وصنایع غذایی، واحد تبریز ،دانشگاه آزاداسلامی، تبریز، ایران

۲-دانشیار گروه علوم وصنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاداسلامی تبریز، تبریز، ایران

۳-دانشیار گروه علوم وصنایع غذایی، دانشکده تغذیه وعلوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

٤- استاد مرکز تحقیقات کاربردی داروئی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۲۲

کلمات کلیدی:

هیدرولیزات زئین،

ویتامین D_3،

نانوکمپلکس،

فراصوت،

آب پرتقال.

DOI: 10.22034/FSCT.19.131.17

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.131.2.3

* مسئول مکاتبات:

A.alizadeh@iaut.ac.ir

چکیده

ویتامین D_3 یک ویتامین محلول در چربی و از مهم‌ترین ویتامین‌های موردنیاز بدن می‌باشد. غنی‌سازی مواد غذائی و خصوصاً آب‌میوه‌ها با این ویتامین به دلیل مشکلات پراکندگی و حساسیت به اکسیداسیون و نور نیازمند ریزپوشانی هست تا به اشکال محلول در آب تبدیل‌شده و از اکسیداسیون و نور محافظت گردد. بنابراین، در تحقیق حاضر اثر استفاده از هیدرولیزات زئین و اثر فرکانس التراسونیک (٤٠ کیلوهرتز) روی ساختار نانوکمپلکس حامل ویتامین D_3 و پایداری آن به مدت ۳۰ روز در آب پرتقال انجام گرفت. راندمان کپسولاسیون و بارگیری و همچنین اندازه نانوذرات تهیه‌شده اندازه‌گیری گردید و در طی روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ آزمایش‌های فیزیکوشیمیائی، میکروبی و حسی روی آب‌میوه انجام گرفت. کارائی انکپسولاسیون و بارگیری برای نانوذرات حامل ویتامین D_3 در اثر پیش تیمار التراسونیک به ترتیب در حدود ۱۲/۲ (۷۰ در برابر ٦۲/٤) و ١٤/٧٣ درصد (۱۰/٦۹ در برابر ۹/۳۲) افزایش نشان داد. اندازه ذرات و پتانسیل زتا برای تیمارهای مختلف در محدوده ٤۹/٥۹-٥۸/٤۹ نانومتر و ۲٤/٥-۳٦/٦۲- به دست آمد و استفاده از نانوکمپلکس منجر به کاهش اندازه ذرات و پتانسیل زتا نسبت به ویتامین D_3 آزاد در آب پرتقال گردید. با توجه به نتایج فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی به دست آمده برای آب پرتقال غنی‌شده، نانوکمپلکس هیدرولیزات زئین پتانسیل استفاده به‌عنوان یک حامل مناسب و ارزشمند جهت غنی‌سازی آب‌میوه‌ها با مواد زیست فعال و خصوصاً ویتامین D_3 را دارا می‌باشد و می‌تواند بدون داشتن اثرات مخرب در سامانه‌های مایع نظیر آب‌میوه‌ها مورد استفاده قرار گیرد.

۱-مقدمه

امروزه به دلیل کاهش سهم چربی در رژیم غذائی کمبود مواد مغذی ضروری محلول در چربی نظیر انواع ویتامین‌های محلول در چربی، اسیدهای چرب ضروری و ویتامین‌هایی محلول در چربی در حال افزایش می‌باشد [۱] که این موضوع لزوم غنی‌سازی محصولات غذائی کم‌چرب نظیر آب‌میوه‌ها را با این مواد برجسته‌تر می‌نماید. از طرف دیگر، طی سال‌های اخیر علاقه‌مندی مصرف‌کنندگان و تولیدکنندگان برای توسعه غذاهای فراسودمند حاوی مواد مغذی حیاتی و زیست فعال در حال افزایش می‌باشد [۲].

ویتامین D یک ویتامین محلول در چربی است که به شکل‌های متعددی در مواد غذائی وجود دارد. رایج‌ترین شکل‌های این ویتامین کولی کلسیفرول (D_3) و ارگوکلسیفرول (D_2) می‌باشند. نقش اصلی ویتامین D در بدن افزایش جذب کلسیم و فسفر در روده و بازجذب آن در کلیه می‌باشد [۳, ٤]. منبع اصلی ویتامین D موردنیاز انسان، ۷ دهیدروکلسترول موجود در سلول‌های پوست است که در اثر تابش فرابنفش به ویتامین D_3 تبدیل می‌شود. ویتامین D بیشتر در منابع حیوانی (تخم‌مرغ، شیر، کره، روغن کبد ماهی) یافت می‌شود و منابع گیاهی از این لحاظ منابع فقیری هستند. کارشناسان تغذیه معتقدند که تعداد بسیار کمی از افراد ویتامین D خود را از طریق غذا تأمین می‌کنند و به‌منظور تأمین ویتامین D موردنیاز افراد باید در معرض نور آفتاب قرار بگیرند. از طرف دیگر، قرار گرفتن بیش از اندازه در مقابل آفتاب به دلیل اثرات مضر پرتو فرابنفش زیان‌آور است. درون‌پوشانی ویتامین D و غنی‌سازی مواد غذائی به‌ویژه نوشیدنی‌ها می‌تواند راه‌حل مناسبی برای تأمین این ویتامین در نظر گرفته شود [۵]. از آنجائی که ویتامین D_3 چربی‌دوست و نامحلول در فرآورده‌های کم‌چربی یا بدون چربی می‌باشد، غنی‌سازی سامانه‌های آبی با ویتامین D_3 به‌شدت چالش‌برانگیز است.

در میان مواد مورد استفاده به‌عنوان حامل ترکیبات مغذی، پروتئین‌های غذائی گروه مهم و ارزشمندی می‌باشند که می‌توان به‌صورت میکرو و نانوذره، فیلم و هیدروژل ها مورد استفاده قرار گیرند [٦, ۷]. امروزه استفاده از اجزاء پروتئین یا هیدرولیزات پروتئینی به‌عنوان حامل مواد ارزشمند در محصولات مختلف یک نوع کوشش جدید می‌باشد. برخی هیدرولیزات پروتئین به‌صورت موفق به‌عنوان حامل مواد تغذیه ایی-داروی (nutraceutical) نظیر هیدرولیزات پروتئین ماهی برای آهن، هیدرولیزات زئین برای کورکومین و هیدرولیزات پروتئین ماهی کپور برای روی اشاره کرد [٦, ۸, ۹]. در حقیقت، هیدرولیزات پروتئین می‌تواند به‌عنوان یک حامل مناسب برای رساندن ترکیبات زیست فعال مورد استفاده قرار گیرد. در مقایسه با پروتئین‌ها مزیت استفاده از هیدرولیزات پروتئین‌ها به‌عنوان یک حامل، آلرژی کمتر و خصوصیات جذب راحت‌تر آن‌ها می‌باشد. علاوه بر این، هیدرولیزات پروتئین دارای یک سری خصوصیات دیگر نظیر آنتی‌اکسیدانی، کاهنده فشارخون و ضد سرطانی می‌باشند که در شکل طبیعی پروتئین‌ها وجود ندارد [۱۰-۱۲].

آب‌میوه‌ها دارای مواد مغذی مفیدی مانند مواد معدنی، ویتامین‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشند. این مواد از پتانسیل بالایی برای غنی‌سازی برخوردار می‌باشند زیرا خود فراورده‌ای سلامت بخش هستند، توسط گستره وسیعی از مردم مصرف می‌شوند، از نظر حسی مقبول عام بوده و برخلاف فراورده‌های لبنی فاقد ترکیبات ناسازگار با بدن نظیر لاکتوز هستند و موردقبول اکثر مردم هستند [۱۳, ۱٤].

پرتقال بعد از سیب دومین میوه پرمصرف در جهان است که مورد مصرف عموم مردم است که بومی شمال شرقی هند و نواحی مرکزی چین است [۱۵]. همچنین، آب پرتقال یکی از محصولات پرمصرف در جهان است که به‌صورت‌های مختلف فرآوری و به فروش می‌رسد. مصرف آب پرتقال در سال‌های اخیر افزایش قابل‌ملاحظه‌ائی داشته به‌طوری‌که در حال حاضر۵۰٪ آب‌میوه مصرفی در سراسر جهان با تولید ٦۳ میلیون تن در سال مربوط به این نوشیدنی می‌باشد [۱٦, ۱۷]. از طرف دیگر مطالعات نشان داده است که پرتقال فراوان‌ترین منبع ویتامین C بوده و شامل مقادیر قابل‌توجهی کربوهیدرات، فلاونوئیدها، روغن‌های اسانسی و مواد معدنی است. محتوای بالای ویتامین C و پلی فنول باعث افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی آب پرتقال شده است [۱۸, ۱۹]. با غنی‌سازی این محصول توسط مواد ارزشمند مغذی، می‌توان بخش بزرگی از جامعه را از نظر ترکیبات فراسودمند تحت پوشش قرار داد.

هدف مطالعه حاضر غنی‌سازی آب پرتقال با ویتامین D_3 با

استفاده از حامل هیدرولیزات زئین می‌باشد. همچنین، اثر فرکانس التراسونیک روی کارائی کپسولاسیون و بارگیری، اندازه ذرات و پتانسیل زتا نانوحامل بررسی خواهد شد.

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱-مواد

زئین، آلکالاز و ویتامین D_3 از شرکت سیگما آلدریچ آمریکا و بقیه مواد شیمیائی از شرکت مرک آلمان تهیه گردید.

۲-۲-هیدرولیز آنزیمی زئین

برای فرآیند هیدرولیز آنزیمی، زئین را در غلظت (وزنی-حجمی) ۵٪ در بافر فسفات ۰/۲ مولار (pH=9) حل نموده و امکان هیدراته شدن کامل آن در حین همزدن مداوم به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط فراهم شد. سپس محلول اولیه آنزیم آلکالاز در بافر فوق و در نسبت آنزیم به پروتئین سوبسترا ۲/۵ درصد (وزنی-وزنی) به محلول حاوی زئین افزوده شد. دمای واکنش برای آلکالاز 50^oC و زمان واکنش در شرایط همزدن مداوم (۲۰۰rpm) حدود ۹۰ دقیقه در نظر گرفته شد. پس از اتمام فرآیند هیدرولیز، برای غیرفعال کردن واکنش و فعالیت آنزیم، محلول در حمام آب 95^oC به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. پس‌ازآن، محلول تا دمای محیط خنک گردید. محلول در دور 5000rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی جدا، با خشک‌کن انجمادی (Christ، آلمان) در دمای -20^oC و فشار ۰/۱ میلی‌بار، لیوفیلیزه و تا زمان استفاده در دمای -20^oC نگهداری گردید [۲۰]. برای مطالعه اثر فراصوت روی زئین ۲۰۰ سی‌سی سوسپانسیون زئین به کیسه نمونه ۵۰۰ سی‌سی منتقل گردید و فوراً در یک تانک فراصوت تحت تیمار فراصوت (۴۰ کیلوهرتز) قرار گرفت و یک نمونه نیز بدون تیمار فراصوت آماده گردید. تیمارهای مورد استفاده در تحقیق حاضر به‌صورت جدول زیر می‌باشد.

Table 1 Used treatment in the study

Treatment	Liposome structure
Control	Orange juice without vitamin D3
T1	Orange juice enriched with free vitamin D3
T2	Vitamin D3-enriched orange juice contains zein hydrolysate without ultrasonic treatment
T3	Vitamin D3-enriched orange juice contains ultrasonic-treated zein hydrolysate

۲-۳-تهیه نانوکمپلکس هیدرولیزات زئین-ویتامین D_3

۰/۱ سی‌سی محلول ویتامین دی با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در اتانول به ۲ سی‌سی از محلول زئین با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (نسبت ۱ به۲۰) به‌صورت قطره‌ای اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه همزدن ادامه یافت سپس نمونه‌ها برای ته‌نشین شدن ویتامین D اضافی به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ٤ درجه و g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد و سوپرناتانت برای انجام آزمایش‌ها با خشک‌کن انجمادی خشک گردید.

۲-٤-تهیه آب پرتقال غنی‌شده با ویتامین D_3

پرتقال در فصل پاییز از بازار تهیه و همان روز به آزمایشگاه منتقل شد. به‌منظور تهیه آب پرتقال، میوه‌ها شسته و با استفاده از آب‌میوه‌گیری دستی، آب آن‌ها گرفته شد. برای غنی‌سازی آب پرتقال، برای هر وعده نوشیدنی (۲۰۰ سی‌سی)، ۲ میلی‌لیتر سوسپانسیون نانوکمپلکس-ویتامین D_3 اضافه گردید. بعد از غنی‌سازی آب‌میوه‌های غنی‌شده در دمای ٦٥ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه پاستوریزه شدند. سپس آب پرتقال غنی‌شده در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ماه نگهداری شد. یک نمونه حاوی ویتامین D_3 آزاد (بدون نانوکمپلکس) و یک نمونه شاهد بدون هیچ ویتامینی تهیه گردید. بعد از یک ماه آزمایش‌های راندمان کپسولاسیون و بارگیری و اندازه ذرات و پتانسیل زتا و همچنین خصوصیات میکروبی و حسی آب‌پرتقال‌های تهیه‌شده ارزیابی شد.

۲-۵-تعیین راندمان کپسولاسیون و بارگیری

کارائی انکپسولاسیون مطابق روش لیو و همکاران (۲۰۰۵) با اندکی تغییرات انجام گرفت [۱۲]. به‌طور خلاصه ۱۰ میلی‌گرم از نانوکمپلکس خشک‌شده به روش انجمادی با ۱ سی‌سی اتیل استات با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ بار شسته شد. سپس اتیل استات حاوی ویتامین D_3 آزاد، خشک‌شده و سپس

ویتامین D_3 با هگزان استخراج و با استفاده از اسپکتروفتومتری ماوراءبنفش در ۲٦٤ نانومتر اندازه‌گیری شد. پودر باقی‌مانده بعد از صاف کردن با جریان نیتروژن خشک و توزین شد. راندمان انکپسولاسیون و کارائی بارگیری نمونه‌ها با استفاده از فرمول‌های زیر به دست آمد [۲۱].

$$\text{درصد کارائی کپسولاسیون} = \frac{(\text{ویتامین } D_3 \text{ کل} - \text{ویتامین } D_3 \text{ آزاد})}{\text{ویتامین } D_3 \text{ کل}} \times 100$$

$$\text{درصد بارگیری} = \frac{(\text{ویتامین } D_3 \text{ کل} - \text{ویتامین } D_3 \text{ آزاد})}{\text{نانوکپسول}} \times 100$$

۲-٦-بررسی اندازه نانوذرات تهیه‌شده و پتانسیل زتا

به‌منظور بررسی اندازه ذرات نانو ذرات تهیه‌شده از روش پراش نور لیزر DLS استفاده گردید. بدین منظور ابتدا نانو ذرات تهیه‌شده با استفاده از آب دیونیزه فیلتر شده ۱۰ برابر رقیق شده و اندازه ذرات، بار سطحی و شاخص دیسپرسیون با استفاده از دستگاه زتا سایزر (نانوسایزر ۳۰۰۰، شرکت مالورن انگلستان) مورد ارزیابی قرار گرفت.

pH-۷-۲

برای اندازه‌گیری pH آب پرتقال، از هرکدام از نمونه‌ها مقدار ۲۵ میلی‌لیتر در ارلن ریخته شده و با استفاده از pH متر (JENWAY ساخت انگلستان) این پارامتر اندازه‌گیری شد. عدد قرائت‌شده به‌صورت منفی لگاریتم غلظت یون هیدروژن در محلول بیان گردید [۲۲].

۲-۸-شاخص رنگی

بررسی کمی رنگ آب پرتقال غنی‌شده با روش تصویربرداری دیجیتال انجام شد. به‌این‌ترتیب که پس از تصویربرداری با استفاده از دوربین عکاسی دیجیتال از نمونه‌های آب پرتقال و انتقال تصاویر به کامپیوتر، با استفاده از نرم‌افزار فتوشاپ شاخص‌های اصلی (L^* و a^* و b^*) اندازه‌گیری شدند [۲۳].

۲-۹-شمارش میکروبی

آب‌میوه‌های تهیه‌شده بعد از پاستوریزه‌کردن و نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد در روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ از نظر کپک و مخمر و شمارش کلی مورد ارزیابی قرار گرفتند و بر مبنای cfu در میلی لیتر گزارش شدند [۲٤].

۲-۱۰-خواص حسی

خواص حسی آب‌میوه پرتقال شامل طعم و مزه، رنگ و پذیرش کلی بعد از پاستوریزاسیون و نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی-گراد در روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ با استفاده از روش هدونیک ۵ نقطه ایی مورد ارزیابی قرار گرفت [۲۵].

۲-۱۱-آنالیز آماری

تمام آزمون‌های انجام‌شده در سه تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. آنالیز واریانس نیز با استفاده از مدل خطی و نرم‌افزار آماری SPSS (ورژن ۲۵) در سطح احتمال ۹۵ درصد ($p<0.05$) و آزمون چند دامنه‌ائی دانکن نیز برای تائید وجود اختلاف بین میانگین‌ها انجام گرفت.

۳-نتایج و بحث

۳-۱-راندمان کپسولاسیون و بارگیری

بعد از تهیه آب‌میوه‌های حاوی ویتامین D_3 و نگهداری آن‌ها به مدت یک ماه میزان راندمان کپسولاسیون تهیه‌شده با تیمارهای ۲ و ۳ به ترتیب در حدود ٦۲/۲۵ و ٦۹/٦ درصد بود که حاکی از اثر معنی‌دار التراسونیک در افزایش راندمان کپسولاسیون بود. معنی‌دار بودن اثر التراسونیک را می‌توان به افزایش درجه هیدرولیز پروتئین نسبت داد که منجر به تغییر وزن مولکولی و افزایش تماس سطح آب‌گریز با فاز آبی اطراف شده است [۲٦]. قابل‌ذکر است که کارائی کپسولاسیون به دست آمده در تحقیق حاضر بالاتر از کارائی کپسولاسیون ویتامین D_3 با ایزوله پروتئین سویا (۵۰/۱۹ درصد) و زئین خالص (۵۲/۲ درصد) بود [۲۷]. میزان بارگیری برای تیمار ۲ و ۳ به ترتیب در حدود ۹/۷ و ۱۰/۳ ارزیابی شد و استفاده از التراسونیک منجر به افزایش معنی‌دار ($p<0.05$) در راندمان بارگیری شد. نتایج به دست آمده همخوان با نتایج لیو و پارک بود که گزارش کردند با کاهش اندازه لیپوزوم حامل ویتامین C منجر به افزایش راندمان بارگیری گردید که علت آن را به افزایش درصد حامل نسبت دادند [۲۸].

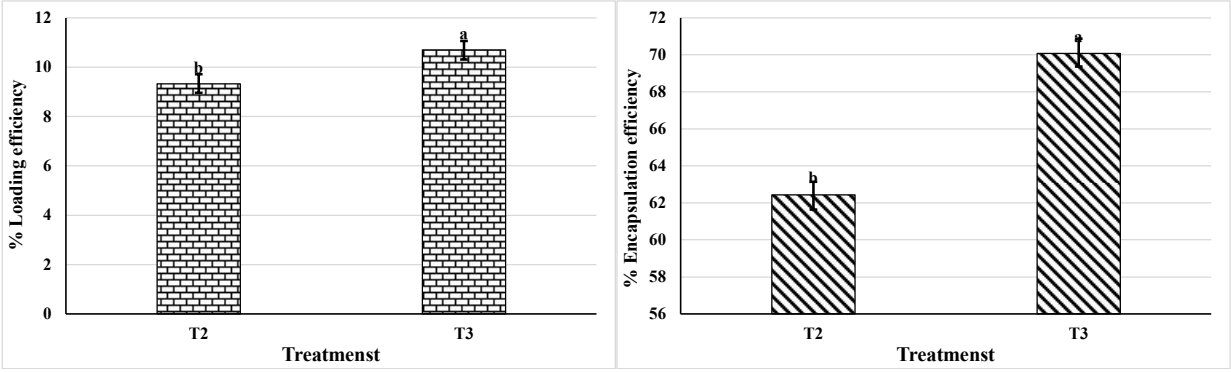

Fig 1 Ultrasonic effect on the encapsulation (left) and loading efficiency (right) of nanocomplexes containing vitamin D3 (different letters represent significant differences at $p < 0.05$ probability) T2: Vitamin D3-enriched orange juice contains zein hydrolysate without ultrasonic treatment T3: Vitamin D3-enriched orange juice contains ultrasonic-treated zein hydrolysate

۳-۲-اندازه ذرات و پتانسیل زتا

اندازه ذرات ویتامین D_3 آزاد در آب پرتقال در حدود ۵۸/۵۳ نانومتر تخمین زده شد در حالیکه به‌صورت انکسپوله شده برای تیمار ۲ و ۳ به ترتیب ۵۲/۳٤ و ٤۹/۸٦ اندازه‌گیری شد. ویتامین D_3 می‌تواند در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در یک محلول آبی حالت تجمع تشکیل دهد و غلظت بحرانی در آب برای این پدیده در حدود ۰/۰۰۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر تخمین زده‌شده است [۲۹]. غلظت ویتامین D_3 استفاده‌شده در تحقیق حاضر (۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بسیار بالاتر از غلظت بحرانی تجمعی برای ویتامین D_3 بوده و بنابراین امکان تجمع یافتن ویتامین D_3 در حالت آزاد دور از انتظار نمی‌باشد. به‌هرحال، زمانی که ویتامین D_3 به‌وسیله حامل پروتئینی (هیدرولیزات زئین) به آب‌میوه اضافه گردید اندازه ذرات کوچک‌تری در محدوده ٤۹/۸٦-۵۲/۳٤ نانومتر را تشکیل داد. همانطوریکه مشخص است استفاده از التراسونیک منجر به کاهش اندازه ذرات گردیده است که این کاهش در حدود ۵ درصد می‌باشد. بنابراین می‌توان گفت که تجمع خودبه‌خود ویتامین D_3 به دلیل حضور هیدرولیزات زئین (تیمار شده و نشده توسط التراسونیک) تا حدودی ممانعت می‌شود. شاخص دیسپرسیون برای هر سه تیمار در حدود ۰/۱۳ به دست آمد.

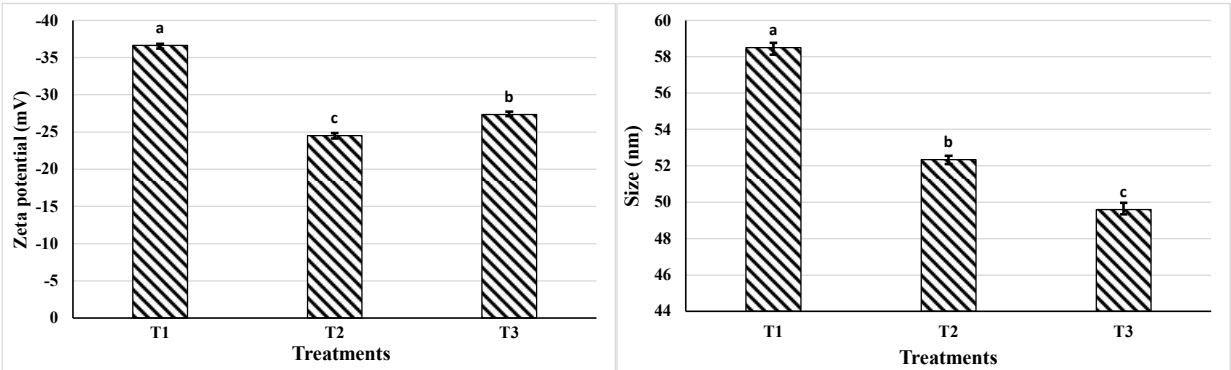

Fig 2 Effect of ultrasonic pretreated zein hydrolysates on size (left) and zeta potential (right) of the $VitD_3$ loaded nanoparticles (different letters represent significant differences at $p<0.05$ probability). T1: Orange juice enriched with free vitamin D3, T2: Vitamin D3-enriched orange juice contains zein hydrolysate without ultrasonic treatment T3: Vitamin D3-enriched orange juice contains ultrasonic-treated zein hydrolysate

نتایج تحقیق حاضر با تحقیق تنگ و همکاران همخوانی نداشت که بیان کرده بودند با افزایش اندازه ذرات نانوکمپلکس پروتئین سویا-کیتوزان میزان کارائی کپسولاسیون ویتامین D_3 افزایش می‌یابد که دلیل آن را افزایش میزان ظرفیت حمل ویتامین توسط

نانو حامل به دلیل افزایش اندازه قطر بیان نمودند [۳۰].
اندازه‌گیری پتانسیل زتا ویتامین D_3 آزاد در حدود ۳۶/۶- میلی ولت به دست آمد در حالیکه برای تیمار حاوی هیدرولیزات زئین التراسوند نشده و شده به ترتیب در حدود ۲۴/۵- و ۲۷/۱- میلی ولت به دست آمد. پتانسیل زتا ی منفی ویتامین D_3 به دلیل گروه‌های هیدروکسیل و مولکول‌های آب موجود در سطح کریستالی آن نسبت داده می‌شود [۳۱]. پتانسیل زتا نانوکمپلکس‌های حاوی هیدرولیزات زئین کمتر از ویتامین D_3 آزاد به دست آمد که نشان می‌دهد پایداری الکترواستاتیک نقش اساسی و حیاتی در پایداری کمپلکس‌های کلوئیدی ندارد [۳۲, ۳۳]. پایداری ذرات کلوئیدی وابسته به پتانسیل زتا و همچنین ممانعت فضائی می‌باشد [۳۳].

pH-۳-۳

اندازه‌گیری pH آب‌پرتقال‌های تهیه‌شده حاکی از وجود اختلاف بین تیمارهای مختلف حتی در روز اول تهیه آن‌ها بود که در شکل ۳ نشان داده‌شده است. با توجه به شکل کمترین و بیشترین مقدار pH در روز اول به ترتیب متعلق به تیمار حاوی ویتامین D_3 آزاد و آب پرتقال حاوی ویتامین D_3 حمل شده توسط نانولیپوزوم تیمار شده با التراسونیک بود. به‌عبارتی‌دیگر، استفاده از ویتامین D_3 به‌صورت آزاد و نانولیپوزوم تیمار شده توسط التراسونیک منجر به تغییر معنی‌دار pH آب پرتقال گردید در حالیکه بین نمونه التراسونیک نشده (T2) و نمونه شاهد اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید. با توجه به شکل در همه تیمارها باگذشت زمان میزان pH آب‌میوه‌ها افزایش نشان داد و در روز آخر آب پرتقال حاوی نانولیپوزوم التراسونیک شده نسبت به بقیه بالاترین pH را نشان داد. با توجه به شکل قسمت عمده افزایش pH در روز ۱۵ اتفاق افتاد و از روز ۱۵ به بعد افزایش pH برای همه تیمارها جزئی اما معنی‌دار بود. یکی از دلایل افزایش pH باگذشت زمان را می‌توان به فساد میکروبی نسبت داد که در مطالعات مختلفی به آن اشاره‌شده است [۳۴, ۳۵]. pH آب‌پرتقال‌های تحقیق حاضر در محدوده ۳/۳۵-۴/۵ اندازه‌گیری شد در حالیکه در تحقیق مارتین دیانا و همکاران (۲۰۰۹) در محدوده ۴/۱ – ۴/۳ برای آب پرتقال نگهداری شده به مدت ۱۰ روز گزارش شد [۲۲]. در مطالعات دیگری نیز مقادیر متفاوتی توسط محققین گزارش گردیده است [۳۵, ۳۶]. دلیل این اختلافات می‌تواند به واریته پرتقال استفاده‌شده و همچنین زمان برداشت پرتقال نسبت داده شود که می‌تواند روی pH آب پرتقال تأثیرگذار باشد.

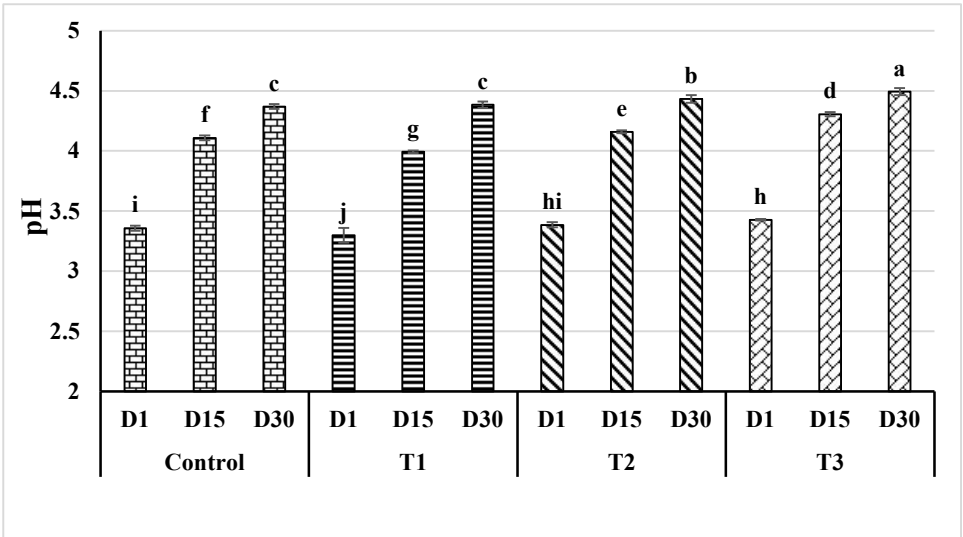

Fig 3 pH changes of orange juice contained VitD3 loaded nanoparticles during storage. Control: Orange juice without vitamin D3, T1: Orange juice enriched with free vitamin D3, T2: Vitamin D3-enriched orange juice contains zein hydrolysate without ultrasonic treatment T3: Vitamin D3-enriched orange juice contains ultrasonic-treated zein hydrolysate

با توجه به نتایج به دست آمده غنی‌سازی آب پرتقال با ویتامین D_3 آزاد و همچنین سیستم نانولیپوزومی منجر به تغییر در pH آب‌پرتقال‌ها در همه روزهای نگهداری گردید. به‌عبارتی‌دیگر، غنی‌سازی آب پرتقال با ویتامین D_3 باعث یکسری تغییرات در

توازن هیدروژن آزاد (H^+) خواهد شد که در نهایت روی pH تاثیرگذار بود. هیدرولیزات زئین به دلیل ساختار پروتئینی دارای گروه‌های بازی و اسیدی (خاصیت آمفوتری) می‌باشد که به‌راحتی می‌تواند pH آب‌میوه را تغییر دهد که در مطالعه حاضر این پدیده مشاهده گردید. اعمال التراسونیک نیز منجر به تغییر pH گردید (اختلاف بین تیمار T_3 و T_4) که دلیل این پدیده احتمالاً به خاطر باز شدن ساختار هیدرولیزات زئین و اینکه گروه‌های بازی بیشتری در تماس با آب پرتقال قرار خواهند گرفت [۳۷] که می‌توانند منجر به افزایش pH شوند.

۳-٤-شاخص رنگی

اندازه‌گیری شاخص‌های رنگی مختلف که در شکل ٤ نشان داده‌شده است حاکی از وجود اختلاف بین تیمارهای مختلف و همچنین روزهای نگهداری می‌باشد. با توجه به شکل میزان روشنایی آب‌پرتقال‌ها در همه تیمارها باگذشت زمان کاهش یافت که این کاهش روشنایی باگذشت زمان به رسوب ذرات ناپایدار در آب پرتقال حین نگهداری و همچنین تجزیه پیگمان‌های رنگی نظیر لیکوپن و کاروتنوئیدها نسبت داده شد [۳۸-٤۱]. میزان کاهش روشنایی در تیمارهای حاوی ویتامین D_3 در سیستم لیپوزومی نسبت به نمونه شاهد و نمونه حاوی ویتامین D_3 آزاد کمتر بود که این اختلاف را می‌توان به هیدرولیزات زئین و اعمال خاصیت امولسیفایری آن نسبت داد که در مطالعات متعددی به خاصیت امولسیفایری هیدرولیزات‌های پروتئین اشاره‌شده است [٤۲-٤٤]. با توجه به شکل شاخص روشنایی در روز اول برای آب پرتقال شاهد بالاترین و آب پرتقال غنی‌شده با ویتامین D3 آزاد کمترین میزان بود در حالیکه در روز آخر بالاترین روشنایی برای آب پرتقال غنی‌شده با ویتامین D_3 توسط سیستم نانولیپوزومی بدون التراسونیک (T2) به دست آمد.

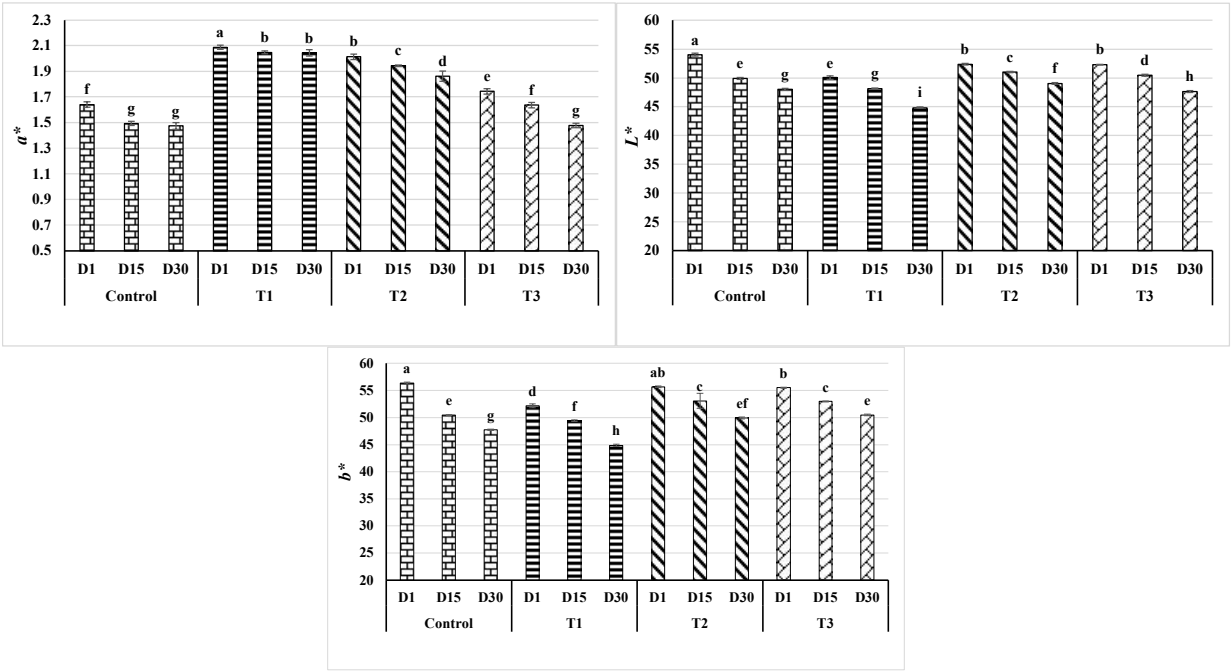

Fig 4 Color indexes changes (*L*, a*, b**) of orange juice contained $VitD_3$ loaded nanoparticles during storage. Control: Orange juice without vitamin D3, T1: Orange juice enriched with free vitamin D3, T2: Vitamin D3-enriched orange juice contains zein hydrolysate without ultrasonic treatment T3: Vitamin D3-enriched orange juice contains ultrasonic-treated zein hydrolysate

شاخص a^* که معرف سبزی-قرمزی آب‌میوه‌ها بود در طی نگهداری برای همه تیمارها کاهش نشان داد و از شدت قرمزی آب‌میوه‌ها کاسته شد. کاهش در مقدار a^* می‌تواند به دلیل افزایش واکنش‌های قهوه‌ائی‌شدن آنزیمی و غیر آنزیمی‌باشد [۲۲]. همچنین آب پرتقال شاهد در همه روزها کمترین مقدار قرمزی را نسبت به بقیه تیمارها نشان داد و تیمارهای حاوی ویتامین D_3 به‌صورت آزاد و نانولیپوزوم قرمزی بیشتری نشان دادند. به‌عبارتی‌دیگر، ویتامین D_3 منجر به افزایش قرمزی و کاهش

سبزی آب‌پرتقال‌ها گردید که البته این اثر به‌صورت فرم آزاد نسبت به لیپوزومی بیشتر بود. علاوه بر این، استفاده از التراسونیک (T3) منجر به کاهش شاخص a^* گردید.

با توجه به نتایج به دست آمده ویتامین D_3 منجر به افزایش معنی‌دار قرمزی آب‌پرتقال‌ها گردید که احتمالاً به دلیل ممانعت از واکنش‌های قهوه‌ائی‌شدن (خصوصاً آنزیمی) بوده است. آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند با اکسیژن واکنش دهند و از قهوه‌ائی شدن ممانعت کنند. همچنین آنتی اکسیدان‌ها می‌توانند با محصولات واسطه تولیدشده واکنش دهند و از انجام واکنش‌های زنجیره‌ای و تولید ملانین ممانعت کنند [٤٥]. اگرچه ویتامین‌های E، A و C دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالائی هستند اما سایر ویتامین‌ها نظیر ویتامین D و K نیز دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند و در مطالعات زیادی به این خاصیت اشاره‌شده است که احتمالاً در مطالعه حاضر نیز این خاصیت آنتی‌اکسیدانی ویتامین D مانع از قهوه‌ائی‌شدن بیشتر آب پرتقال شده است [٤٦-٤٩]. روند تغییرات شاخص b^* (میزان زرد بودن) آب‌پرتقال‌ها که شاخص مهمی در آب پرتقال می‌باشد حاکی از آن بود که باگذشت زمان از میزان زردی آب‌پرتقال‌ها کاسته شد و این روند در همه تیمارها مشاهده گردید. با توجه به نتایج به دست آمده بعد از گذشت ۳۰ روز نگهداری، تیمارهای حاوی ویتامین D_3 به‌صورت نانولیپوزوم دارای b^* بالاتری نسبت به بقیه تیمارها بود و کمترین مقدار برای ویتامین D_3 آزاد به دست آمد. همانطوریکه مشخص است در همان روز اول تهیه آب پرتقال استفاده از ویتامین D_3 به‌صورت آزاد منجر به افت معنی‌دار در میزان زردی آب‌میوه گردید. کاهش زردی آب پرتقال باگذشت زمان در تحقیقات مشابهی گزارش گردیده است [۳۵, ۵۰, ۵۱]. احتمالاً دلیل کاهش زردی آب‌پرتقال‌ها همان رسوب ذرات معلق در آب پرتقال باشد که نمونه‌های حاوی نانولیپوزوم به دلیل خاصیت امولسیفایری مانع رسوب ذرات و کاهش زردی بیشتر آب پرتقال گردیده‌اند در حالیکه در تیمار شاهد و تیمار یک زردی آب‌میوه‌ها با سرعت بیشتری در طی مدت‌زمان نگهداری افت پیدا نمود.

۳-۵-شمارش میکروبی

شمارش میکروبی آب‌میوه بدون ویتامین D_3 و حاوی ویتامین D_3 آزاد و نانوکمپلکس هیدرولیزات زئین-ویتامین D_3 در روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰، گویای عدم رشد هر نوع میکروبی در آب پرتقال بودند. نتایج به دست آمده همخوان با نتایج مارساناسکو و همکاران (۲۰۱۱) بودند که گزارش کردند بعد از ۳۷ روز نگهداری آب پرتقال حاوی سیستم نانولیپوزوم هیچ نوع رشد میکروبی گزارش نگردید [۵۲]. این عدم رشد میکروبی گویای این واقعیت بود که تیمار حرارتی استفاده‌شده به‌اندازه کافی بوده است که با افزودن ویتامین D_3 و نانوکمپلکس هیچ‌گونه رشد میکروبی در آب‌پرتقال‌ها حتی بعد از ۳۰ روز نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی مشاهده نگردید. باید توجه شود که کیفیت پرتقال‌های انتخاب‌شده، pH آب پرتقال و همچنین شرایط شستشو فاکتورهای اساسی در آلودگی میکروبی به شمار می‌روند [۵۳]. علاوه بر رعایت بهداشت و حرارت دهی مناسب آب‌میوه‌ها، در مطالعات مختلفی به خاصیت ضد میکروبی پپتیدهای گوناگون اشاره‌شده است که زئین نیز از این قاعده مستثنا نیست و می‌تواند نقش ضد میکروبی داشته باشد [٥٤, ٥٥].

۳-٦-خواص حسی

ارزیابی حسی آب پرتقال تهیه‌شده حاوی ویتامین D_3 (T1-T3) و آب پرتقال شاهد که بدون ویتامین D_3 بود نشان داد ازلحاظ طعم و مزه فقط تیمار ۱ در روزهای ۱۵ و ۳۰ با تیمارهای دیگر اختلاف آماری معنی‌دار داشت و در بین بقیه روزها برای تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید و طعم و مزه پرتقال دچار تغییرات معنی‌دار نگردید. ازلحاظ رنگ نیز فقط تیمار یک در روز ۳۰ امتیاز معنی‌دار کمتری نسبت به بقیه تیمارها کسب نمود و بین بقیه روزها برای همه تیمارها اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نگردید. نتایج پذیرش کلی نیز مشابه نتایج طعم و مزه ارزیابی شد و ازلحاظ پذیرش کلی غیر از تیمار ۱ در روزهای ۱۵ و ۳۰ بین بقیه تیمارها اختلاف معنی‌دار توسط پنلیست‌ها گزارش نگردید. به‌طورکلی ارزیابی حسی نشان داد غنی‌سازی آب پرتقال با ویتامین D_3 توسط نانوکمپلکس و نگهداری آن به مدت ۳۰ روز تغییر حسی خاصی ازلحاظ طعم و مزه و رنگ و پذیرش کلی در آب‌میوه‌ها مشاهده نگردید و مشابه تیمار بدون ویتامین D_3 ارزیابی شد ولی غنی‌سازی ساده و بدون حامل منجر به تغییر خواص حسی در روز ۱۵ و ۳۰ گردید. ازلحاظ حسی استفاده از التراسونیک تأثیری در خواص حسی

نشان نداد و اختلاف معنی‌داری بین نمره پنلیست‌ها برای تیمار ۲ و ۳ مشاهده نگردید.

Table 2 Sensory evaluations of orange juice contained $VitD_3$ loaded nanoparticles.

Treatment	Day	Taste	Color	Overall acceptability
Control	1	4.8±0.44a	4.8±0.44a	5±0a
	15	5±0a	4.8±0.44a	5±0a
	30	4.8±0.44a	4.8±0.44a	5±0a
T1	1	4.8±0.44a	5±0a	5±0a
	15	4±1b	4.8±0.44a	4.2±0.83b
	30	4±1b	4.2±0.44b	4±0.7b
T2	1	4.8±0.44a	5±0a	4.8±0.44a
	15	4.8±0.44a	4.8±0.44a	4.8±0.44a
	30	5±0a	4.8±0.44a	5±0a
T3	1	4.8±0.44a	5±0a	4.8±0.44a
	15	5±0a	5±0a	5±0a
	30	5±0a	5±0a	4.8±0.44a

Different letters represent significant differences at $p<0.05$ probability. Control: Orange juice without vitamin D3, T1: Orange juice enriched with free vitamin D3, T2: Vitamin D3-enriched orange juice contains zein hydrolysate without ultrasonic treatment T3: Vitamin D3-enriched orange juice contains ultrasonic-treated zein hydrolysate

نتایج تحقیق حاضر همخوان با نتایج مارساناسکو و همکاران بود که گزارش کردند غنی‌سازی آب پرتقال با ویتامین C و E توسط سیستم لیپوزومی تأثیر منفی روی خواص حسی آب‌میوه‌های غنی‌شده طی نگهداری ۳۷ روزه نداشت [۵۲].

٤-نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر هیدرولیزات زئین به‌طور موفقیت‌آمیزی به‌عنوان یک سیستم نانویی جدید برای غنی‌سازی آب پرتقال با ویتامین D_3 استفاده شد. سیستم نانوکمپلکس استفاده‌شده نشان داد که بدون داشتن اثر مخرب روی خواص فیزیکوشیمیائی، میکروبی و حسی پتانسیل غنی‌سازی آب‌میوه را دارد. همچنین استفاده از التراسونیک در هیدرولیزات زئین اثر سودمندی روی کارائی راندمان و بارگیری ذرات کپسوله‌شده نشان داد. علاوه‌براین، نتایج نشان داد که نانوکمپلکس حاوی هیدرولیزات زئین می‌تواند به‌عنوان یک سیستم حفاظتی مناسب و نویدبخش برای غنی‌سازی ویتامین‌های حساس نظیر ویتامین D_3 در نوشیدنی‌های مختلف استفاده گردد.

٥-منابع

[1] P. Anvith and R. Sankar, "The Comprehensive Review on Fat Soluble Vitamins," pp. 12-28, 11/01 2015.

[2] I. Siro, E. Kápolna, B. Kápolna, and A. Lugasi, "Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—A review," *Appetite,* vol. 51, no. 3, pp. 456-467, 2008.

[3] L. Ovesen, C. Brot, and J. Jakobsen, "Food contents and biological activity of 25-hydroxyvitamin D: a vitamin D metabolite to be reckoned with?," *Annals of Nutrition and Metabolism,* vol. 47, no. 3-4, pp. 107-113, 2003.

[4] L. Ovesen, R. Andersen, and J. Jakobsen, "Geographical differences in vitamin D status, with particular reference to European countries," *Proceedings of the Nutrition Society,* vol. 62, no. 4, pp. 813-821, 2003.

[5] T. Considine, H. A. Patel, H. Singh, and L. K. Creamer, "Influence of binding conjugated linoleic acid and myristic acid on the heat-and high-pressure-induced unfolding and aggregation of β-lactoglobulin B," *Food chemistry,* vol. 102, no. 4, pp. 1270-1280, 2007.

[6] Y.-H. Wang, J.-M. Wang, X.-Q. Yang, J. Guo, and Y. Lin, "Amphiphilic zein hydrolysate as a novel nano-delivery vehicle for curcumin," *Food & Function,* vol. 6, no. 8, pp. 2636-2645, 2015.

[7] G. Israeli-Lev and Y. D. Livney, "Self-assembly of hydrophobin and its co-assembly with hydrophobic nutraceuticals in aqueous solutions: Towards application as delivery systems," *Food Hydrocolloids,* vol. 35, pp. 28-

chemical properties of Valencia and Navel orange juice," *Innovative Food Science & Emerging Technologies,* vol. 5, no. 2, pp. 135-149, 2004.

[18] P. G. Micucci, M. d. R. Alonso, S. A. Turner, R. C. Davicino, and C. A. Anesini, "Antioxidant and antimicrobial activities of Larrea divaricata Cav. aqueous extract on vitamin C from natural orange juice," 2011.

[19] J. A. S. Suryawanshi, "An overview of Citrus aurantium used in treatment of various diseases," *African Journal of Plant Science,* vol. 5, no. 7, pp. 390-395, 2011.

[20] Y. Li, B. Kong, Q. Liu, X. Xia, and H. Chen, "Improvement of the emulsifying and oxidative stability of myofibrillar protein prepared oil-in-water emulsions by addition of zein hydrolysates," *Process Biochemistry,* vol. 53, pp. 116-124, 2017.

[21] Y. Lin, Y.-H. Wang, X.-Q. Yang, J. Guo, and J.-M. Wang, "Corn protein hydrolysate as a novel nano-vehicle: Enhanced physicochemical stability and in vitro bioaccessibility of vitamin D3," *LWT-Food Science and Technology,* vol. 72, pp. 510-517, 2016.

[22] A. B. Martín-Diana, D. Rico, J. M. Barat, and C. Barry-Ryan, "Orange juices enriched with chitosan: Optimisation for extending the shelf-life," *Innovative food science & emerging technologies,* vol. 10, no. 4, pp. 590-600, 2009.

[23] T. Rahnama and R. Abbaszade, "Effects of cold plasma on color changes, anthocyanins content and microbial quality of barberry juice," *Journal of food science and technology (Iran),* vol. 15, no. 82, pp. 373-385, 2018.

[24] S. MollaieTavani, E. Dehghanifard, A. Mehrali, G. A. SharifiArab, and A. Dehmanesh, "Survey the Bacteriological Quality of Juice in the Juice Shop of Shahrood City and its Relationship with Food Safety Knowledge and Performance of Vendors in 2013-2014: A Case Study," *Journal of Environmental Health Enginering,* vol. 4, no. 3, pp. 196-185, 2017.

[25] M. Z. Islam, S. Tabassum, M. Harun-ur-Rashid, G. E. Vegarud, M. S. Alam, and M. A. Islam, "Development of probiotic beverage using whey and pineapple (Ananas comosus) juice: Sensory and physico-chemical properties and probiotic survivability during in-vitro gastrointestinal digestion," *Journal of Agriculture and Food Research,* vol. 4, p. 35, 2014.

[8] L. Jiang, B. Wang, B. Li, C. Wang, and Y. Luo, "Preparation and identification of peptides and their zinc complexes with antimicrobial activities from silver carp (Hypophthalmichthys molitrix) protein hydrolysates," *Food research international,* vol. 64, pp. 91-98, 2014.

[9] H. Wu *et al.*, "Enhancement of non-heme iron absorption by anchovy (Engraulis japonicus) muscle protein hydrolysate involves a nanoparticle-mediated mechanism," *Journal of agricultural and food chemistry,* vol. 62, no. 34, pp. 8632-8639, 2014.

[10] H. Guo, Z. Hong, and R. Yi, "Core□shell collagen peptide chelated calcium/calcium alginate nanoparticles from fish scales for calcium supplementation," *Journal of Food Science,* vol. 80, no. 7, pp. N1595-N1601, 2015.

[11] M. Zarei, B. Forghani, A. Ebrahimpour, A. Abdul-Hamid, F. Anwar, and N. Saari, "In vitro and in vivo antihypertensive activity of palm kernel cake protein hydrolysates: Sequencing and characterization of potent bioactive peptides," *Industrial Crops and Products,* vol. 76, pp. 112-120, 2015.

[12] C.-F. Chi, F.-Y. Hu, B. Wang, T. Li, and G.-F. Ding, "Antioxidant and anticancer peptides from the protein hydrolysate of blood clam (Tegillarca granosa) muscle," *Journal of Functional Foods,* vol. 15, pp. 301-313, 2015.

[13] T. Luckow and C. Delahunty, "Consumer acceptance of orange juice containing functional ingredients," *Food research international,* vol. 37, no. 8, pp. 805-814, 2004.

[14] S. Hekmat and G. Reid, "Sensory properties of probiotic yogurt is comparable to standard yogurt," *Nutrition research,* vol. 26, no. 4, pp. 163-166, 2006.

[15] J. Adubofuor, E. A. Amankwah, B. S. Arthur, and F. Appiah, "Comparative study related to physico-chemical properties and sensory qualities of tomato juice and cocktail juice produced from oranges, tomatoes and carrots," *African Journal of Food Science,* vol. 4, no. 7, pp. 427-433, 2010.

[16] M. F. Neves, P. Zuurbier, and M. C. Campomar, "A model for the distribution channels planning process," *Journal of Business & Industrial Marketing,* 2001.

[17] M. K. Bull *et al.*, "The effect of high pressure processing on the microbial, physical and

100144, 2021.
[26] A. H. Saberi, M. Kadivar, and J. Keramat, "Improvement of functional properties of glutens extracted from two Iranian wheat varieties (Sardari and Mahdavi) employing chemical and enzymatic modifications," 2008.
[27] Y. Luo, Z. Teng, and Q. Wang, "Development of zein nanoparticles coated with carboxymethyl chitosan for encapsulation and controlled release of vitamin D3," *Journal of agricultural and food chemistry,* vol. 60, no. 3, pp. 836-843, 2012.
[28] N. Liu and H.-J. Park, "Factors effect on the loading efficiency of Vitamin C loaded chitosan-coated nanoliposomes," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces,* vol. 76, no. 1, pp. 16-19, 2010.
[29] S. C. Meredith, M. J. Bolt, and I. H. Rosenberg, "The supramolecular structure of vitamin D3 in water," *Journal of colloid and interface science,* vol. 99, no. 1, pp. 244-255, 1984.
[30] Z. Teng, Y. Luo, and Q. Wang, "Carboxymethyl chitosan–soy protein complex nanoparticles for the encapsulation and controlled release of vitamin D3," *Food chemistry,* vol. 141, no. 1, pp. 524-532, 2013.
[31] L. Rossi, J. W. M. S. ten Hoorn, S. M. Melnikov, and K. P. Velikov, "Colloidal phytosterols: synthesis, characterization and bioaccessibility," *Soft Matter,* vol. 6, no. 5, pp. 928-936, 2010.
[32] A. R. Patel, J. S. ten-Hoorn, J. Hazekamp, T. B. J. Blijdenstein, and K. P. Velikov, "Colloidal complexation of a macromolecule with a small molecular weight natural polyphenol: implications in modulating polymer functionalities," *Soft Matter,* vol. 9, no. 5, pp. 1428-1436, 2013.
[33] A. R. Patel, J. Nijsse, and K. P. Velikov, "Novel polymer–polyphenol beads for encapsulation and microreactor applications," *Soft Matter,* vol. 7, no. 9, pp. 4294-4301, 2011.
[34] A. Del Caro, A. Piga, V. Vacca, and M. Agabbio, "Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage," *Food chemistry,* vol. 84, no. 1, pp. 99-105, 2004.
[35] C. Cortés, M. J. Esteve, and A. Frigola, "Color of orange juice treated by high intensity pulsed electric fields during refrigerated storage and comparison with pasteurized juice," *Food control,* vol. 19, no. 2, pp. 151-158, 2008.
[36] H. Kelebek, A. Canbas, and S. Selli, "Determination of phenolic composition and antioxidant capacity of blood orange juices obtained from cvs. Moro and Sanguinello (Citrus sinensis (L.) Osbeck) grown in Turkey," *Food Chemistry,* vol. 107, no. 4, pp. 1710-1716, 2008.
[37] B. Kong and Y. L. Xiong, "Antioxidant activity of zein hydrolysates in a liposome system and the possible mode of action," *Journal of agricultural and food chemistry,* vol. 54, no. 16, pp. 6059-6068, 2006.
[38] D. B. Genovese, M. P. Elustondo, and J. E. Lozano, "Color and cloud stabilization in cloudy apple juice by steam heating during crushing," *Journal of food science,* vol. 62, no. 6, pp. 1171-1175, 1997.
[39] J. Shi and M. L. Maguer, "Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing," *Critical reviews in food science and nutrition,* vol. 40, no. 1, pp. 1-42, 2000.
[40] V. B. Vikram, M. N. Ramesh, and S. G. Prapulla, "Thermal degradation kinetics of nutrients in orange juice heated by electromagnetic and conventional methods," *Journal of food engineering,* vol. 69, no. 1, pp. 31-40, 2005.
[41] A. J. Meléndez-Martínez, I. M. Vicario, and F. J. Heredia, "Application of tristimulus colorimetry to estimate the carotenoids content in ultrafrozen orange juices," *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* vol. 51, no. 25, pp. 7266-7270, 2003.
[42] Y. Cheng, Y. L. Xiong, and J. Chen, "Antioxidant and emulsifying properties of potato protein hydrolysate in soybean oil-in-water emulsions," *Food Chemistry,* vol. 120, no. 1, pp. 101-108, 2010.
[43] Y. Li, H. Liu, Q. Han, B. Kong, and Q. Liu, "Cooperative antioxidative effects of zein hydrolysates with sage (Salvia officinalis) extract in a liposome system," *Food chemistry,* vol. 222, pp. 74-83, 2017.
[44] Y. Li, H. Liu, Q. Liu, B. Kong, and X. Diao, "Effects of zein hydrolysates coupled with sage (salvia officinalis) extract on the emulsifying and oxidative stability of myofibrillar protein prepared oil-in-water emulsions," *Food Hydrocolloids,* vol. 87, pp. 149-157, 2019.

[45] M. G. Lindley, "The impact of food processing on antioxidants in vegetable oils, fruits and vegetables," *Trends in Food Science & Technology,* vol. 9, no. 8-9, pp. 336-340, 1998.
[46] O. O. Sinbad, A. A. Folorunsho, O. L. Olabisi, O. A. Ayoola, and E. J. Temitope, "Vitamins as antioxidants," *Journal of Food Science and Nutrition Research,* vol. 2, no. 3, pp. 214-235, 2019.
[47] S. Tagliaferri, D. Porri, R. De Giuseppe, M. Manuelli, F. Alessio, and H. Cena, "The controversial role of vitamin D as an antioxidant: results from randomised controlled trials," *Nutrition research reviews,* vol. 32, no. 1, pp. 99-105, 2019.
[48] W. Z. Mostafa and R. A. Hegazy, "Vitamin D and the skin: Focus on a complex relationship: A review," *Journal of advanced research,* vol. 6, no. 6, pp. 793-804, 2015.
[49] E. W. Wang, P. M. Siu, M. Y. Pang, J. Woo, A. R. Collins, and I. F. F. Benzie, "Vitamin D deficiency, oxidative stress and antioxidant status: Only weak association seen in the absence of advanced age, obesity or pre-existing disease," *British Journal of Nutrition,* vol. 118, no. 1, pp. 11-16, 2017.
[50] D. Rodrigo *et al.*, "Physicochemical characteristics and quality of refrigerated Spanish orange-carrot juices and influence of storage conditions," *Journal of food science,* vol. 68, no. 6, pp. 2111-2116, 2003.
[51] M. J. Esteve, A. Frígola, C. Rodrigo, and D. Rodrigo, "Effect of storage period under variable conditions on the chemical and physical composition and colour of Spanish refrigerated orange juices," *Food and Chemical Toxicology,* vol. 43, no. 9, pp. 1413-1422, 2005.
[52] M. Marsanasco, A. L. Márquez, J. R. Wagner, S. d. V. Alonso, and N. S. Chiaramoni, "Liposomes as vehicles for vitamins E and C: An alternative to fortify orange juice and offer vitamin C protection after heat treatment," *Food research international,* vol. 44, no. 9, pp. 3039-3046, 2011.
[53] G. Müller, P. Lietz, and H.-D. Munch, *Microbiología de los alimentos vegetales*. Acribia Zaragoza, 1981.
[54] Y.-J. Kang, S.-D. Yi, G.-H. Lee, and M.-J. Oh, "Antibacterial Activity of Zein Hydrolysate with Pepsin," *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition,* vol. 35, 01/01 2006, doi: 10.3746/jkfn.2006.35.2.127.
[55] N. S. Said and N. M. Sarbon, "Protein-Based Active Film as Antimicrobial Food Packaging: A," *Active Antimicrobial Food Packaging,* vol. 53, 2019.

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Evaluation of the stability of VitD3 loaded zein hydrolysate nanocapsules in orange juice by ultrasound and its effect on the properties of orange juice

Sadr, B. [1], Alizadeh, A. [2*], Tabibiazar, M. [3], Hamishehkar, H. [4], Roufegarinejad, L. [2]

1. PhD Student, Department of Food Science and Technology, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of nutrition and food sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.
4. Professor, Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2021/ 11/ 03
Accepted 2022/ 11/ 13

Keywords:

Zein hydrolysate,
Vitamin D_3,
Nanocomplex,
Ultrasound,
Orange juice.

DOI: 10.22034/FSCT.19.131.17
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.131.2.3

*Corresponding Author E-Mail:
A.alizadeh@iaut.ac.ir

ABSTRACT

Vitamin D_3 is a fat-soluble vitamin and one of the most important vitamins for body. Enriching foods, especially juices, with this vitamin requires encapsulation due to dispersion problems and sensitivity to oxidation and light. Therefore, in the present study, the effect of using zein hydrolysate and the effect of ultrasonic frequency (40 kHz) on the structure of nanocomplex carrying vitamin D_3 and its stability in orange juice were investigated. The encapsulation and loading efficiency as well as the size of the prepared nanoparticles were measured and physicochemical, microbial and sensory evaluations were performed on the juice during days 1, 15 and 30. Encapsulation and loading efficiency for nanoparticles containing vitamin D_3 by ultrasonic pretreatment increased by about 12.2 (70 vs. 62.4) and 14.73% (10.69 vs. 9.32), respectively. Particle size and zeta potential for different treatments were respectively obtained in the range of 49.59–58.49 nm and -24.5 – -36.62 and the use of nanocomplexes reduced the particle size and zeta potential compared to free vitamin D_3 in orange juice. Regarding the physicochemical, microbial and sensory results obtained for fortified orange juice, zein hydrolysate nanocomplex has the potential to be used as a suitable and valuable carrier for enriching fruit juices with bioactive substances, especially vitamin D_3, without any harmful effects.