

# محله علوم و صنایع غذایی ایران

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



مقاله علمی\_پژوهشی

## تولید نوشیدنی عملگرا برپایه ترکیبات زیست فعال چای سبز و قهوه سبز درهمتنیده در ساختار کیتوزوم

کریم مرادی کشکسر<sup>۱</sup>، حمید توکلی پور<sup>۲\*</sup>، محسن مختاریان<sup>۳</sup>

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

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

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

### چکیده

### اطلاعات مقاله

با هدف بهبود ارزش تغذیه‌ای (کاهش شکر)، پایداری ترکیبات زیست‌فعال، تولید فرآورده نوین و مبتنی بر دانش روز (بکارگیری فناوری ریزپوشانی) و کاهش ضایعات بالقوه بخش کشاورزی (نظیر چای سبز و قهوه سبز)، نوشیدنی عملگرا برپایه شیرین‌کننده استویا با افزودن  $g/L$  ۸۴ ریزدرات کیتوزوم درهم‌تنیده شده با ترکیبات زیست‌فعال چای سبز و قهوه سبز، غنی‌سازی شد و ویژگی‌های فیزیکوشیمیابی ( $pH$ ، اسیدیته، کدورت، ترکیبات فنولی کل و قدرت آنتی‌اکسیدانی) و حسی و چشمابی (طعم و مزه، رنگ، رایحه، احساس دهانی و پذیرش کلی) فرآورده در طول دوره نگهداری (۱، ۹، ۲۷، ۳۶ و ۴۵ روز) و در دماهای (۵ و  $25^{\circ}C$ ) ارزیابی گردید. با وجود اینکه، پارامتر نرخ رهایش ترکیبات فنولی نوشیدنی در درجه حرارت  $45^{\circ}C$ ، بعد از ۲۷ روز نگهداری، به طور معنی‌دار ( $p < 0.05$ )،  $\sim 50\%$  افزایش یافت، پارامتر یاد شده به ترتیب با نرخ‌های  $\sim 36\%$  و  $\sim 46\%$  در درجه حرارت‌های ۵ و  $25^{\circ}C$  در شرایط مشابه افزایش یافت. همچنین نتایج نشان داد که پارامتر نسبت بهره‌وری آنتی‌اکسیدان (TPC/EC<sub>50</sub>) نوشیدنی بعد از ۲۷ روز نگهداری (در درجه حرارت  $25^{\circ}C$ )، در نمونه‌های کنترل و غنی شده با ریزدرات کیتوزوم به ترتیب  $0.06$  و  $0.71$  بود. به طور کلی، ساختار کیتوزومی به دلایل زیست‌تخرب پذیری، زیست‌سازگاری و عدم سمیت، به عنوان گزینه‌ای مناسب برای پایداری ترکیبات زیست‌فعال و طراحی سیستم‌های مؤثر تحویل دارو پیشنهاد می‌شود.

تاریخ های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۰۷

کلمات کلیدی:

نوشیدنی فراسودمند،

کیتوزوم،

رهایش ترکیبات زیست‌فعال،

ترکیبات فنولی،

خصوصیات فیزیکوشیمیابی و ارزیابی حسی.

DOI: 10.22034/FSCT.19.133.79

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.133.7.2

\*مسئول مکاتبات:

h.tavakolipour@gmail.com

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

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

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

## ۱- مقدمه

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

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

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

3. (–) Epicatechin (EC)

4. (–) Epicatechin-3-gallate (ECG)

5. (–) Epigallocatechin (EGC)

6. (–) Epigallocatechin-3-gallate (EGCG)

7. (+) Catechin

8. (+) Gallocatechin (GC)

9. Hepatoprotective

1. Bioavailability  
2. Oolong tea

پلیمری، با افزایش برهمنش‌ها با محیط‌های زیستی در مقایسه مولکولی، ضمن پایداری مواد مؤثرة بارگیری شده، به‌دلیل چسبیدن راحت به سطح روده، با رهایش هدفمند و کنترل شده ترکیبات زیست‌فعال همراه خواهد بود [۱۳]. از طرف دیگر، بسته به نوع پوسته و یا لایه فعال سطحی (سورفاکtant) احاطه‌کننده پوسته نهایی، به‌دلیل افزایش سطح به حجم و افزایش برهمنش‌های بین مولکولی، حلالیت در محیط‌های مختلف (آب‌گریز و یا آب‌دوست) افزایش می‌یابد [۱۴]. تاکنون پژوهش‌های مختلفی درخصوص بکارگیری ترکیبات زیست‌فعال در پوشش‌های پلیمری، صورت گرفته است. سیدآبادی و همکاران (۲۰۲۱) فرآیند تولید و ویژگی‌های نانولیپوزوم درهم‌تنیده شده با کیتوزان برای ریزپوشانی کافین را بررسی نمودند. نتایج نشان داد که راندمان ریزپوشانی نانولیپوزوم‌های حاوی کافین در محدوده ۷۷–۹۵٪ قرار داشت. نتایج دستگاهی نشان داد که تقریباً ۵۰٪ قطر ذرات  $^{10}$  کیتوزوم تهیه‌شده کمتر از  $90\text{ nm}$  بوده است ( $\text{PD} < 90\text{ nm}$ ). تصاویر به‌دست آمده از آزمون SEM و TEM و AFM به‌خوبی شکل ظاهری و مورفولوژی کروی لیپوزوم و کیتوزوم را تأیید نمود. به‌طورکلی، پوشش‌دهی کافین در ساختار کیتوزوم سبب کاهش نرخ رهایش شد. نانوساختار کیتوزوم در شرایط سامانه شبیه‌سازی شده دستگاه گوارشی و مدل‌های غذایی (سامانه‌های شبیه‌ساز شیر و آبمیوه) رهایش کنترل شده‌ای را خود نشان داد [۱۵]. به‌علاوه، گزارش‌های متعددی در زمینه ریز(نانو)پوشینه کدن انسانس زنجیل [۱۶]، پلی‌فنول‌های انگور [۱۷]، کورکومین [۱۸] و کوئریتین [۱۹] برای بکارگیری در کاربردهای خاص ارائه شده‌اند که از آوردن جزئیات آنها به‌دلیل طولانی شدن مقدمه جلوگیری می‌شود.

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

10. Particle diameter (PD)

تلخی دارند و در مقابل عوامل محیطی مانند نور، رطوبت و اکسیژن به‌شدت حساس هستند. این ترکیبات علی‌رغم دارا بودن ویژگی آب‌دوستی به‌دلیل حضور گروه‌های هیدروکسیل (OH<sup>-</sup>)، حلالیت اندکی در حلال‌های قطبی از جمله آب (به‌دلیل حضور گروه‌های آروماتیک و حلقه‌های گلیکوزیدی) دارند. مجموعه این عوامل، بکارگیری این ترکیبات را در صنایع غذایی به عنوان ترکیبات زیست‌فعال در غنی‌سازی مواد غذایی و تولید فرآورده‌های فراسودمند، محدود می‌نماید. یکی از روش‌های غالب به‌این مشکلات، قرارگیری در یک پوشش پلیمری (نظیر سیستم لیپریدی لیپوزوم-کیتوزان یا کیتوزوم) است.

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

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

تبخیرکننده چرخان تحت خلاء (در دما و فشار بهترین  $40^{\circ}\text{C}$  و  $0.1 \text{ MPa}$ )، حلال حذف گردید تا یک لایه‌نازک (تشکیل ویزیکو چند لایه لیپیدی لیپوزوم) در کف بالن ایجاد شود. سپس بالن در دسیکاتور قرار داده شد تا باقیمانده حلال نیز خارج شود. در ادامه با استفاده از هیتر مغناطیسی، لایه لیپیدی تشکیل شده، در بافر فسفات حاوی  $\text{ppm} 152$  از ترکیبات فعال زیستی حل شد (غالظت یاد شده بعد از اختلاط دو ترکیب زیست‌فعال چای سبز و قهوه سبز به نسبت  $30$  به  $70$  بدست آمد، که این نسبت نیز به دلیل بالاتر بودن ترکیبات زیست‌فعال قهوه‌سبز انتخاب شد). تیمار فراصوت در دامنه  $75\%$  به مدت  $10 \text{ min}$  اعمال شد تا فرآیند ریزپوشینه‌سازی بهبود یابد. در مرحله بعد محلول کیتوزان با غلظت  $7\% \text{ W/V}$ ، به محلول قبلی به صورت قطره قطره (تنزیریق با استفاده از سرنگ و با سرعت بسیار کم صورت گرفت) اضافه شد.

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

جهت تولید نوشیدنی رژیمی فراسودمند برپایه استویا، ابتدا اجزاء فرمولاسیون پایه تهیه شد. اجزاء مورد استفاده در تولید نوشیدنی شامل: پودر گلیکوزیدی استویا (*Stevia rebaudiana*) گونه ربادیوزید A (برگ استویا شامل  $9.1\%$  استویوزید و  $38\%$  ربادیوزید A است) ( $0.15 \text{ g/L}$ )، اسید سیتریک ( $0.10 \text{ g/L}$ )، بنزووات سدیم ( $0.03 \text{ g/L}$ )، اسید آسکوربیک ( $0.08 \text{ g/L}$ )، سیترات سدیم ( $0.03 \text{ g/L}$ ، صمغ عربی ( $0.25 \text{ g/L}$ ) و آب می‌باشد. به منظور تولید نوشیدنی حاوی ریزکپسول کیتوزوم، ابتدا مقدار مطلوب ریزکپسول کیتوزوم مشخص شد (میزان افزودن ریزکپسول کیتوزوم، براساس آزمون‌های حسی و چشایی مقدماتی تعیین شد و مقدار مطلوب آن ( $84 \text{ g/L}$ ) گزارش شد) و به فرمولاسیون پایه نوشیدنی فراسودمند اضافه گردید [۲۵-۲۷].

## ۵- آزمون رهایش ترکیبات زیست‌فعال و شرایط نگهداری

جهت بررسی نرخ رهایش ترکیبات زیست‌فعال طی دوره نگهداری (به مدت حداقل  $45$  روز)، نوشیدنی‌های تولید شده در

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۱- آماده‌سازی مواد اولیه

مقادیر مورد نیاز برگ‌چای سبز و دانه قهوه سبز از بازار محلی (استان تهران) خریداری شد. طبق روش متداول AOAC به شماره  $931.04$ ، میزان رطوبت هر نمونه در دمای  $105^{\circ}\text{C}$  برای مدت  $24 \text{ h}$  اندازه‌گیری شد [۲۰]. میزان رطوبت برگ‌چای سبز و دانه قهوه سبز به ترتیب  $9/5$  و  $11/5\%$  (مبانی مرطوب) بود. همچنین، ترکیبات شیمیایی مورد استفاده در اجرای این پژوهش از شرکت‌های سیگما آلدريچ (آمریکا) و مرک (آلمان) خریداری شد.

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

استخراج ترکیبات زیست‌فعال چای سبز و دانه قهوه سبز با استفاده از سیستم پراب اولتراسوند (Sonopuls ultrasonic  $150 \text{ W}$ ,  $40 \text{ kHz}$ ,  $HD3200$ , homogenizer گرفت [۲۱-۲۲]. بدین منظور، ابتدا استخراج ترکیبات زیست‌فعال چای سبز و قهوه سبز به ترتیب تحت شرایط عملیاتی ( $53^{\circ}\text{C}$  و  $50^{\circ}\text{C}$  و  $26 \text{ min}$  و  $35 \text{ min}$ ) صورت گرفت (دامنه امواج فرماصوت در هر دو حالت ثابت و معادل  $100\%$  در نظر گرفته شد). از نسبت  $1$  به  $30$  ماده خشک به حلال (آب مقطر) برای فرآیند استخراج استفاده شد [۲۲]. عصاره استخراج شده در دما و فشار (به ترتیب  $40^{\circ}\text{C}$  و  $0.1 \text{ MPa}$ ) توسط دستگاه تبخیرکننده چرخان (IK، آلمان) تا رسیدن به وزن ثابت، حلال‌زدایی گردید. سپس عصاره تغییل شده توسط خشک‌کن انجامدادی (Dena-Sanat، تهران، ایران) در دما و فشار به ترتیب  $40^{\circ}\text{C}$  و  $0.001 \text{ mbar}$  خشک گردید [۲۳].

### ۳- ریزپوشینه‌سازی ترکیبات زیست‌فعال در ساختار کیتوزوم

ریزپوشینه‌سازی ترکیبات زیست‌فعال بدست آمده از عصاره‌های چای سبز و قهوه سبز، توسط روش تان و همکاران (۲۰۱۶) صورت گرفت [۲۴]. بدین منظور، ابتدا لسیتین سویا پودر شده در حلال اتانول ( $1\%$  وزنی/حجمی) حل شد. در مرحله بعد توسط

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

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- اسیدیته و pH

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تأثیر متقابل دمای نگهداری (۵، ۲۵ و ۴۵°C) و زمان نگهداری (صفر، ۱۸، ۲۷، ۳۶ و ۴۵ روز) روی عدد pH (اسیدیته) نوشیدنی عملگرا حاوی ترکیبات زیست‌فعال (عصاره‌های چای سبز و قهوة سبز) ریزپوشینه شده در ساختار کیتوزوم معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) است. همانطور که در جدول (۱) مشاهده می‌شود، بیشترین میزان عدد pH (متناظر با کمترین میزان اسیدیته) مربوط به نمونه‌های نگهداری شده در درجه حرارت ۴۵°C و در روز ۵ آم نگهداری است (۷٪ افزایش pH و در روز ۵ آم نگهداری ایست). این نتایج مدل خطی همبستگی پیرسون بین عدد pH و اسیدیته نوشیدنی عملگرا یافته‌های بدست آمده را تأیید می‌نماید ( $R = -0.9809$  و  $r = -0.9621$ ). به علاوه، نتایج نشان داد که، نگهداری نمونه‌ها در ماهای ۵ و ۲۵°C (در یک زمان نگهداری مشابه)، به ترتیب سبب تغییر عدد pH (اسیدیته) به میزان ۹٪ افزایش (کاهش) و ۸٪ افزایش (کاهش) نسبت به روز اول شد. احتمالاً این حالت به دلیل شکسته شدن دیواره کیتوزوم و آزاد شدن ترکیبات آبین دار موجود در بلی مر زیستی کیتوزان است که با خشی کردن اسید موجود در محیط نوشیدنی، سبب افزایش جزئی pH شده است [۳۲]. در پژوهشی، سیدآبادی و همکاران (۲۰۲۱) نرخ رهایش ترکیبات زیست‌فعال (کافئین) درهم‌تنیده شده در ساختار کیتوزوم را در شرایط مختلف (سامانه شبیه‌سازی شده دستگاه گوارشی و آبمیوه) مورد بررسی قرار دادند. با این حال، در پژوهش صورت گرفته خصوصیات کیفی آبمیوه مورد بررسی قرار نگرفته است [۱۵]. همچنین، بررسی منابع پیشین نشان داد که تاکنون پژوهشی در خصوص پایش تغییرات عدد pH (اسیدیته) طی دوره نگهداری در مدل غذایی، در اثر تخریب ساختار کیتوزومی صورت نگرفته است. با این حال، پاویا و همکاران (۲۰۱۵) گزارش نمودند که، ارتعاشات کششی

شرایط دمایی مختلف (۵، ۲۵ و ۴۵°C) به صورت استاتیک (ساکن) نگهداری شدند. سپس میزان نرخ رهایش ترکیبات زیست‌فعال، طی دوره نگهداری در فواصل زمانی ۵ روز، از طریق سنجش ترکیبات فنولی کل (TPC) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (EC<sub>50</sub>) پایش گردید. لازم به ذکر است که، آزمون‌های یاد شده به ترتیب طبق روش‌های فولین سیوکالتیو<sup>۱۱</sup> و رویش رادیکال آزاد (DPPH<sup>۱۲</sup>) مورد ارزیابی قرار گرفت [۲۸-۲۹].

#### ۶- آزمون‌های کترل کیفی نوشیدنی

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

#### ۷- ارزیابی حسی و چشایی

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

#### ۸- تجزیه و تحلیل آماری

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

۱۱. Folin-Ciocalteu

(متناظر با کاهش کدورت نوشیدنی). در حالی‌که، در دمای ۲۵°C، بهدلیل رهایش آهسته‌تر ترکیبات فنولی، میزان کدورت به تدریج افزایش یافت. همبستگی (مثبت و قوی) بین نرخ رهایش ترکیبات فنولی و کدورت نوشیدنی عملگرا (در دمای ۲۵°C، دلایل مورد ادعا را تأیید می‌نماید ( $t=+0/9199$  و  $R=0/846$ ).

### ۳-۳- ترکیبات فنولی کل (TPC)، قدرت آنتی‌اکسیدانی (EC<sub>50</sub>) و نرخ رهایش ترکیبات فنولی

ترکیبات زیست‌فعال (شامل کاروتینوئیدها، روغن‌های ضروری، آنتی‌اکسیدان‌ها یا طعم‌دهنده‌ها) گروهی از مواد شیمیایی با ویژگی‌های سلامتی‌بخش، دارویی و تغذیه‌ای بوده که به طور گسترده‌ای در فرآورده‌های غذایی به منظور ارتقاء ویژگی‌های حسی یا توسعهٔ خصوصیات غذاداری<sup>۱۲</sup> آنها به کار می‌رود [۲۳]. نتایج تجزیه واریانس تغییرات شاخص ترکیبات فنولی کل (قدرت آنتی‌اکسیدانی یا EC<sub>50</sub> نوشیدنی عملگرا) حاوی ترکیبات زیست‌فعال (عصاره‌های چای سبز و قهوه سبز) ریزپوشینه شده در ساختار کیتوزوم طی حدوداً ۷ هفته نگهداری در درجه حرارت‌های گوناگون (۵، ۲۵ و ۴۵°C) در جدول (۱) ارائه شده است. با توجه به نتایج گزارش شده مشاهده شد که، درجه حرارت‌نگهداری و زمان نگهداری (صفر، ۹، ۱۸، ۲۷، ۳۶ و ۴۵ روز) تأثیر قابل ملاحظه و چشمگیری (۰/۰۵ < p) روی این شاخص‌های تغذیه‌ای داشتند. بالاترین میزان ترکیبات فنولی کل (متناظر با بیشترین نرخ رهایش ترکیبات فنولی و کمترین مقدار EC<sub>50</sub> موجود در محیط نوشیدنی، در ارتباط با نوشیدنی) نگهداری شده در دمای ۴۵°C مشاهده شد، که با افزایش ۰/۵۴٪ (متناظر با کاهش ۱۷٪ ~ قدرت آنتی‌اکسیدانی) بعد از ۲۷ روز نگهداری، همراه بود. احتمالاً این حالت بهدلیل کاهش مقاومت دیواره کیتوزوم (متناظر با کاهش سیالیت غشاء) و در نتیجه رهایش ترکیبات فنولی می‌باشد [۳۴]. به منظور مطالعه این تغییرات با جزئیات بیشتر، همبستگی پیرسون بین دو پارامتر یاد شده به روش آمار توصیفی مورد آزمون قرار گرفت (در نمونه

(متوسط-قوی) مشاهده شده در فرکانس  $1087\text{ cm}^{-1}$ ، حضور گروه‌عاملی C-N را که مربوط به آمین‌های (بهویژه آمین‌های نوع اول و دوم) موجود در گروه‌های استامید (-NHCOCH<sub>3</sub>) و آمین (-NH<sub>2</sub>)، در ساختار کیتوزان است، را تأیید می‌کند؛ که احتمالاً علت افزایش pH طی دوره نگهداری، تخریب ساختار پلی‌مری بوده که با آزاد شدن آمین‌ها همراه است [۳۳].

### ۲-۳- کدورت

یکی از پارامترهای مهم در تولید نوشیدنی‌ها، کدورت است. نتایج تجزیه واریانس تغییرات شاخص کدورت نوشیدنی عملگرا حاوی ترکیبات زیست‌فعال (عصاره‌های چای سبز و قهوه سبز) ریزپوشینه شده در ساختار کیتوزوم طی حدوداً ۷ هفته نگهداری در دماهای مورد بررسی (۵، ۲۵ و ۴۵°C) در جدول (۱) آمده است. با توجه به نتایج بدست آمده مشاهده شد که، درجه حرارت نگهداری و زمان نگهداری تأثیر قابل ملاحظه و چشمگیری (۰/۰۵ < p) روی شاخص یاد شده داشت. بالاترین میزان شاخص کدورت در تمام مدت نگهداری در ارتباط با نوشیدنی نگهداری شده در درجه حرارت ۲۵°C مشاهده شد (~۲۲٪ افزایش نسبت به روز اول نگهداری). در پاسخ به علت این پدیده، می‌بایست تغییرات پایش شده کدورت را طی دوره نگهداری با جزئیات بیشتری بررسی نمود (به جدول ۱ مراجعه شود). با توجه به یافته‌های ارائه شده مشاهده شد که در روز نهم نگهداری (تقریباً یک هفته بعد از تولید نوشیدنی)، بیشترین میزان کدورت (یک تغییر چشمگیر) در دمای ۴۵°C گزارش گردید و با افزایش زمان نگهداری (تا روز ۴۵) از شدت آن کاسته شد. احتمالاً این حالت بهدلیل رهایش سریع ترکیبات فنولی در دماهای بالاتر است. مختاریان و همکاران (۱۳۹۳) گزارش نمودند که ترکیبات اصلی در تشکیل کرم چای سبز (به عنوان معیار از کدورت)، ترکیبات فنولی (بهویژه کاتچین‌ها) و کافئین است. همچنین آنها بیان نمودند که برهمکنش کافئین-پلی‌فنول یک عامل اصلی در تشکیل کرم چای سبز بوده که با افزایش ظاهر آبری در عصاره همراه است [۴]. با توجه به اینکه نرخ رهایش ترکیبات فنولی از ساختار کیتوزومی به محیط نوشیدنی در دمای ۴۵°C نسبت به دمای ۲۵°C، سریع‌تر است، لذا با تخریب سریع‌تر ترکیبات فنولی نیز طی دوره نگهداری همراه خواهد بود

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

نگهداری شده در درجه حرارت ۴۵°C در تمامی روزهای نگهداری) و همبستگی بالا و منفی ( $R^2=0.9292$  و  $-0.9640$ ) بین صفات ترکیبات فنولی کل و  $EC_{50}$  نوشیدنی عملگرگزارش شد (که بیانگر واپستگی قوی و غیرهمسو دو صفت است) که یافته‌های فوق را تأیید می‌نماید. همچنین، نرخ رهایش ترکیبات فنولی کل در مدت زمان نگهداری مشابه (۲۷ روز)، در درجه‌حرارت‌های ۵ و ۲۵°C به ترتیب  $\sim 51\%$  و  $\sim 37\%$  پایین‌تر است. به علاوه، گردید که نسبت به دمای نگهداری ۴۵°C پایین‌تر است. نتایج نشان داد که بعد از ۲۷ روز نگهداری (در تمامی درجه حرارت‌های مورد مطالعه)، به تدریج میزان ترکیبات فنولی کل موجود در محیط نوشیدنی شروع به کاهش نمود. احتمالاً این حالت به‌دلیل تخریب ترکیبات پلی‌فنولی رهایش یافته در محیط

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

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

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

دارد [۴].

#### ۴- نتیجه‌گیری

در این پژوهش، نوشیدنی عملگرا برپایه شیرین‌کننده رژیمی استویا، توسط ریزذرات کیتوزوم در هم‌تنیده شده با ترکیبات زیست‌فعال (چای سبز و قهوة سبز)، غنی‌سازی شد و خصوصیات فیزیکی (کدورت)، شیمیایی (pH، اسیدیته)، ترکیبات فنولی کل و قدرت آنتی‌اسیدانی) و ویژگی‌های حسی و چشایی (طعم و مزه، رایحه، رنگ، احساس دهانی و پذیرش کلی) فرآورده (تولید شده طی ۴۵ روز نگهداری در شرایط دمایی مختلف، ۲۵ و ۴۵°C) پایش شد. با وجود اینکه، افزودن ۸۴ g/L ریزذرات کیتوزوم به فرمولاسیون نوشیدنی عملگرا به ترتیب سبب افزایش معنی دار ( $P < 0.05$ ) پارامتر ترکیبات فنولی کل (۲/۶~۰/۱۶ مرتبه) نسبت به نمونه کنترل (نمونه فاقد ریزذرات کیتوزوم) در روز تولید شد، پارامتر قدرت آنتی‌اسیدانی رفتاری معکوس (مرتبه کاهش) را در شرایط مشابه نشان داد. به طور کلی، با توجه به یافته‌ها می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که ساختار کیتوزومی یک بسته‌بندی بالقوه برای ریزپوشینه‌سازی ترکیبات زیست‌فعال بوده که افزودن آن به فرآورده‌های غذایی (به‌ویژه نوشیدنی‌ها) نه تنها سبب پایداری ترکیبات زیست‌فعال می‌شود، بلکه می‌توان ویژگی‌های تغذیه‌ای، حسی-چشایی و غذادارویی فرآورده را نیز بهبود دهد و به تولید یک فرآورده جدید و دانش بنیان منتج شود.

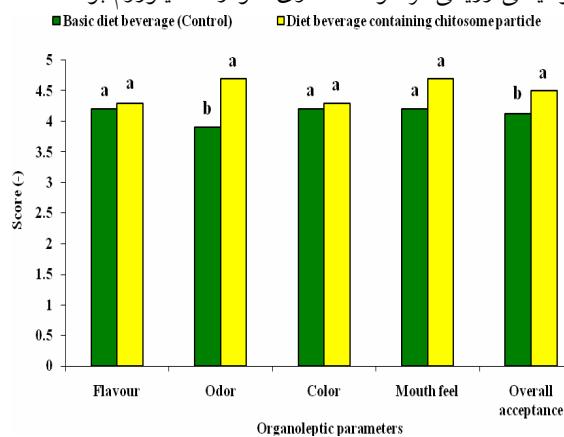
#### ۵- منابع

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

نتایج رهایش فیلم متیل سلولز حاوی آلفا-کوفروول نانوریزپوشانی شده در پلی‌کاپرولاتکتون در محیط شبیه‌ساز چربی ۹۵٪ نشان داد که پس از گذشت یک روز، نرخ رهایش به‌دلیل متورم شدن ناشی از نفوذ آب به داخل ساختار فیلم، شبیه صعودی داشت [۳۶]. در پژوهشی دیگر، رهایش لیمومن موجود در فیلم کیتوزان غنی شده با روغن برگاموت در محیط‌های شبیه‌ساز غذایی اتانول صفر تا ۹۵٪ نشان داد که روند رهایش تدریجی بود و با افزایش نسبت الکل، به‌دلیل ماهیت غیرقطبی لیمومن، نرخ رهایش سریع‌تر بود [۳۷].

#### ۳-۵- خصوصیات حسی-چشایی

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



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

مختراریان و همکاران (۲۰۱۴) تولید نوشابه فراسودمند چای سبز برپایه شیرین‌کننده سوکرالوز را بررسی نمودند که نتایج آنها نشان داد، نوشیدنی فراسودمند رضایت مصرف‌کننده بالاتری نسبت به نوشیدنی کنترل داشت که با یافته‌های پژوهش حاضر همخوانی

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

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

**Journal of Food Science and Technology (Iran)**Homepage:[www.fsct.modares.ir](http://www.fsct.modares.ir)**Scientific Research****Production of functional beverage based on cross-linked bioactive compounds of green tea and green coffee in chitosome structure****Moradi Kashksara, K.<sup>1</sup>, Tavakolipour, H.<sup>2\*</sup>, Mokhtarian, M.<sup>3</sup>**

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

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

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

**ABSTRACT****ARTICLE INFO**

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

**Article History:**

Received 2022/ 07/ 01

Accepted 2022/ 10/ 29

**Keywords:**

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

**DOI:** 10.22034/FSCT.19.133.79**DOR:** 20.1001.1.20088787.1401.19.133.7.2

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