

مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir



مقاله علمی-پژوهشی

بهینه سازی عصاره کاکل ذرت نانو ریزپوشانی شده به روش سطح پاسخ و ارزیابی خواص ریزپوشینه های حاوی عصاره پایدار شده با صمغ دانه ریحان و ایزوله پروتئین کنجد

ذاکر آفاکشی پور^۱، زینب رفتی امیری^{۲*}، رضا اسماعیل زاده کناری^۳

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی

ساری، ساری، ایران.

۲- استاد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری،

ساری، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

در این مطالعه از صمغ دانه ریحان (BSG) بصورت منفرد و در ترکیب با ایزوله پروتئین کنجد (SPI) به نسبت های ۱:۰ و ۱:۱ به منظور انکپسوله کردن عصاره کاکل ذرت (CTE) با استفاده از روش سطح پاسخ در قالب طرح مرکب مرکزی استفاده شد. همچنین به منظور بهینه سازی و بررسی اثر متغیرهای غلظت عصاره کاکل و زمان هموژنیزاسیون بر پاسخ اندازه ذرات و راندمان از معادله درجه دوم استفاده شد. در ابتدا محتوای فنلی کل (TPC)، محتوای فلاونوئید کل (TFC)، فعالیت آنتی اکسیدانی اکسیدانی و فعالیت ضد میکروبی عصاره کاکل ذرت بررسی شد. علاوه بر این، فعالیت آنتی اکسیدانی (DPPH & FRAP) اندازه گیری شده، پتانسیل بسیار بالایی از این ترکیبات ($FRAP=288/11$)، $DPPH=85/05$ را برای انکپسوله کردن نشان داد. محتوای فنل کل و فلاونوئید حاصل از نتایج آزمون به ترتیب $1968/23$ و $1346/20$ بود. نتایج حاصل از آنالیز نشان داد نانو ذرات حاصل از ریزپوشانی توسط صمغ دانه ریحان کمترین اندازه ذرات ($494/4\text{nm}$) را داشتند. همچنین بیشترین کارایی درون پوشانی ($76/2$ درصد) نیز متعلق به نمونه ریزپوشانی شده با صمغ دانه ریحان بود. مقدار پتانسیل زتا در استفاده از پوشش ترکیبی افزایش ($44/57$) یافت و به بالاترین مقدار خود رسید. در طی نگهداری نانومولسیون های ریزپوشانی در بازه زمانی صفر، $21, 15, 7, 3$ روز، با گذشت زمان پایداری نانومولسیون ها کاهش یافت به نحوی که بالاترین پایداری مربوط به عصاره نانو ریزپوشانی شده در پوشش ترکیبی ($94/85$ برای روز صفر و $33/8$ برای روز 21) را به خود اختصاص داد. نتایج این مطالعه نشان داد که نانو ریزپوشانی عصاره کاکل ذرت با صمغ دانه ریحان کارایی بیشتری از پوشش ترکیبی دارد اما با بررسی سایر پارامترها مانند پایداری، پیشنهاد می گردد این صمغ در ترکیب با سایر مواد دیواره از جمله ایزوله پروتئین کنجد مورد استفاده قرار گیرد تا نتایج مطلوب حاصل شود.

تاریخ های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۵/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۷/۲۷

کلمات کلیدی:

عصاره کاکل،
ریزپوشانی،
اندازه ذرات،
مواد دیواره،
بهینه سازی

DOI: 10.22034/FSC.21.149.81.

* مسئول مکاتبات:

zramiri@gmail.com

z.raftani@sanru.ac.ir

۱- مقدمه

جالب توجه است که هر دو نوع ترکیب(فنولی و کاروتونئیدی) در غلاظت‌های بالا در سرتاسر گیاه ذرت، به ویژه در گل، غلاف، برگ، کاکل و پوست آن یافت شده‌اند. به طور کلی کاکل و غلاف از ضایعات پس از برداشت گیاه ذرت هستند. به دلیل محتوای بالای ترکیبات زیست فعال در بخش‌های مختلف گیاه، علاقه مندی برای استفاده بالقوه از این ترکیبات فیتوشیمیایی وجود دارد[6]. عبارتی از کاکل می‌توان محصولات با ارزش مانند روغن‌های فرار، گلیکوزیدهای فلاونول کامفرونول، ایزورهمنتین و کورستین و لیپیدها تولید کرد چرا که همانطور که گفته شد این بخش از ذرت حاوی فلاونئید، آلکالوئید، آلانتوئین، پتوسان، اینوزیتول، پلی ساکارید، ویتامین K و C، چندین نوع اسیدآمینه آلی و استروول می‌باشد[7]. همچنین عصاره کاکل ذرت دارای ظرفیت آنتی اکسیدانی است و توانایی بالایی در مهار تکثیر سلول‌های سرطانی معده دارد. با افزایش آگاهی مصرف کنندگان از عوارض سوء نگهدارنده‌های شیمیایی بر سلامت انسان، گرایش در به کارگیری نگهدارنده‌های طبیعی به ویژه انسان‌ها و عصاره‌های گیاهی در فراورده‌های غذایی افزایش یافته است. به کارگیری عصاره‌های گیاهی دارای ویژگی ضدیکروبی و آنتی اکسیدانی به صورت ریزپوشانی شده راهکاری کاربردی در رسیدن به فراورده‌های غذایی این‌تر با کیفیت بالاتر و عمر انبارمانی بیشتر بوده، در نتیجه کاهش ضایعات را سبب می‌گردد. بنابراین کاکل ذرت دارای خاصیت زیست فعال قابل توجهی است و ممکن است به عنوان ماده خام در تولید بسیاری از محصولات با ارزش در مقیاس صنعتی استفاده شود[8].

ریزپوشانی کردن عصاره‌های گیاهی با استفاده از دیواره‌های بیوپلیمری به علت افزایش پایداری مواد ریزپوشانی شده بوسیله محافظت آن‌ها از تغییرات محیطی، آنزیمی و شیمیایی، فراهم کردن حالت بافری در برابر تغییرات pH.

با توجه به افزایش آگاهی و تقاضای مصرف کنندگان برای دریافت مواد غذایی سالم و طبیعی بدون افزودنی‌های مصنوعی، در سالیان اخیر، صنایع غذایی بیشتر به استفاده از افزودنی‌های طبیعی پرداخته است. عصاره‌های گیاهی و انسان‌ها طیف وسیعی از نگهدارنده‌های غذایی طبیعی هستند که عموماً این شناخته شده‌اند. عصاره‌های گیاهی و انسان‌ها عطر و طعم مشخصی دارند و فعالیت آنتی اکسیدانی خوب و همچنین خواص ضدیکروبی از خود نشان میدهند. با توجه به طبیعت فرار و واکنش پذیری شیمیایی آنها، ترکیبات زیست فعال گیاهی را نمیتوان در بیشتر سیستم‌های غذایی با موفقیت استفاده کرد. قدرت اختلاط ضعیف و دو فازه شدن یکی از مشکلاتی است که در اثر افزودن مستقیم عصاره‌ها و انسان‌ها به کمپلکس‌های غذایی پدید می‌آید. تخریب حرارتی، شیمیایی و نوری ترکیبات زیست فعال از دیگر معضلاتی هستند که این مواد افزودنی طبیعی ایجاد می‌کنند[1].

ذرت (Zea mays L.) منبع غنی از مواد مغذی است و به همین دلیل، به طور گسترده برای خوراک انسان استفاده می‌شوند[2]. علاوه بر این، دانه‌های ذرت به دلیل محتوای ترکیبات فنولی و کاروتونئیدی دارای ظرفیت آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به دانه‌های گندم، جو و برنج هستند[3]. مطالعات اپیدمیولوژیک ارتباطی بین مصرف رژیم غذایی کاروتونئیدها و پیشگیری از بیماری‌های مزمن را نشان داده است که در برخی موارد با فعالیت آنتی اکسیدانی این ترکیبات مرتبط است. فنول‌ها گروه بسیار متنوعی از فیتوکمیکال‌ها هستند. آنها در دانه‌های غلات به صورت آزاد و باند شده یافت می‌شوند [4]. ترکیبات فنولی در گل‌ها، میوه‌ها، دانه‌ها و سایر قسمت‌های گیاه یافت می‌شود. ترکیبات فنولی گیاهان به دلیل اثرات ضدالتهابی، ضد سرطانی و کاهش قند خون دارای اثرات مفید بر سلامت انسان شناخته می‌شوند[5].

کاهش سمیت است همانطور که گفته شد پلی فنول ها ترکیبات طبیعی هستند که خواص ضد التهابی و آنتی اکسیدانی دارند. چندین مطالعه تأیید کردند که خوردن غذایی غنی از پلی فنول می تواند اثرات محافظتی قلبی و کلیوی را در برابر بیماری های مختلف بدون کاهش فعالیت ضد سرطانی آن ها ایجاد کند. با این حال، پایداری، فراهمی زیستی و اندازه پلی فنل ها، انتقال آنها را در سراسر غشاء سلولی و در نتیجه فعالیت بیولوژیکی در داخل بدن را محدود می کند. برای گذر از این مشکلات؛ محققان حامل های نانوذرات را توسعه داده اند. گزارش شده است که نانوذرات باعث افزایش پایداری پلی فنول ها، فراهمی زیستی، انتقال در سراسر سلول و فعالیت بیولوژیکی می شوند [12].

هیدروکلوبنیدها عمدها کربوهیدراتهای پیچیدهای هستند که برای بهبود قوام و ویژگیهای بافتی مواد غذایی مایع و نیمه مایع استفاده می شوند. فعالیت آنها بستگی به نوع و غلاظت هیدروکلوبنیدها، دما و شرایط فرآیند و همچنین محتوای مواد جامد و ترکیب شیمیابی مواد غذایی دارد در میان انواع هیدروکلوبنیدها، آنهایی که از منابع گیاهی به دست می آیند، به دلیل فراوانی و راحتی بیشتر در استخراج، در بخشهای صنعتی مورد توجه بسیاری قرار گرفته اند. علاوه بر این، با داشتن ویژگیهای زیستی و تجزیه بیولوژیکی هیدروکلوبنیدهای گیاهی، می توان از آنها با موفقیت در زمینه های مختلف مانند صنایع غذایی و دارویی استفاده کرد. دانه ریحان از گیاه ریحان است که یک عضو از خانواده Labiatae میباشد. این گیاه در اصل بومی ایران، ترکیه، هند و دیگر مناطق گرمسیری آسیا، آفریقا و اروپا است. برگ های تازه یا خشک شده ریحان به عنوان چاشنی در سراسر جهان و انسانس های آن در داروسازی و طعم دهنده ها استفاده می شوند. دانه های ریحان هنگام خیساندن در آب ژل تولید میکنند و به طور سنتی در نوشیدنی ها و دسرهای آسیابی مانند فالوده و شربت استفاده می شوند صمغ دانه ریحان هیدروکلوبنیدی با وزن مولکولی بالا (۲۳۲۰ کیلو دالتون) و

مقابله با تغییرات حرارتی و تغییرات یونی، محافظت در برابر طعم ها و بوهای ناخوشایند و آزاد شدن کترل شده ماده ریزپوشانی شده می تواند به عنوان روشی برای افزایش عمر ماندگاری مورد استفاده قرار بگیرد [9]. امروزه از پوشش های مختلفی جهت ریزپوشانی کردن مواد استفاده می شود که ممکن است ساختار پلی ساکاریدی، پروتئینی و یا لیپیدی داشته و از منابع گیاهی، دریابی، حیوانی و میکروبی تهیه گردند. در انتخاب دیواره بایستی به ویژگیهای اولیه از جمله ترکیب و ساختار شیمیابی، وزن مولکولی و همچنین خواص ثانویه نظیر حلالیت، رفتار رئولوژیکی، توانایی تشکیل فیلم، کیفیت فیلم، فعالیت سطحی، دوام و تجزیه پذیری، نقطه ذوب و جوش توجه شود. در فرآیند ریزپوشانی انواع مختلف کربوهیدرات (نشاسته، کیتوزان، مالتودکسترین، دکسترین، ساکارز، دکسترین های حلقوی)، سلولز (کربوهیدرات سلولز، متیل سلولز، اتیل سلولز)، صمغ ها (صمغ عربی، آگار، آلثینات سدیم، کاراگینان و....) چربی ها (لیپوزوم، واکس، مونوگلیسریدها، روغنها)، پروتئین ها (کازئین، آب پنیر، ژلاتین، آلبومین و....) و پلیمرهایی با درجه غذایی (پلی پروپیلن، پلی وینیل استات و ...) غالباً به عنوان ماده هی دیواره یا حامل استفاده می شود. پوشش ها ممکن است به صورت منفرد و یا ترکیبی مورد استفاده قرار گیرند [10].

برای ریزپوشانی عصاره ها روش های مختلفی وجود دارد که مهمترین آنها استفاده از روش تولید امولسیون است. یک امولسیون از فاز آبی، فاز روغنی و امولسیفار یا سورفاکtant تشکیل شده است [11]. نانوتکنولوژی توانایی کترل ماده در مقیاس اتمی و استفاده از خواص و ویژگی های نوظهور ماده در ابعاد ۱-۱۰۰ نانومتر است. کپسوله کردن مواد فعال زیستی یک رویکرد عملی و کارامد برای تنظیم رهایش دارو، افزایش پایداری فیزیکی مواد فعال، محافظت از آن ها از واکنش با محیط، کاهش فراریت، افزایش زیست فعالی،

کنجد به عنوان یک منبع پروتئین و به عنوان یک عنصر در صنایع غذایی استفاده می‌شود. ایزوله‌ها یا کنسانتره‌های پروتئین کنجد معمولاً با رسوب ایزوالکتریک تهیه می‌شوند. کنجاله کنجد و پروتئین جدا شده سرشار از متیونین (۲۵/۳-۴ درصد) و اسیدهای آمینه حاوی گوگرد (۵/۸-۳/۸ درصد) هستند. پروتئین کنجد از α -گلوبولین و β -گلوبولین تشکیل شده است. خواص عملکردی و فیزیکوشیمیایی کنسانتره پروتئین کنجد، ایزوله و همچنین استفاده از آن به عنوان مکمل غذایی برای نوشیدنی و نان تاکنون گزارش شده است [15].

به طور کلی هدف از این پژوهش: ۱- تعیین محتوای فنولی کل و فلاونوئیدی عصاره کاکل ذرت ۲- ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره کاکل ذرت ۳- بهینه سازی به روش سطح پاسخ و انتخاب غلاظت بهینه برای ریزپوشانی عصاره با پوشش دیواره‌های متفاوت

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

ذرت دانه ای واریته سینگل کراس ۷۰۴ از مزرعه در شهر هشتگرد استان البرز تهیه شد. صمغ دانه ریحان از شرکت ریحان گام پارسیان، ایزوله پروتئین کنجد بعد از استخراج روغن کنجد دانه سیاه خریداری شده از شهرستان خداآفرین، طبق روش قلیایی Onsaard et al. (2010)، با کمی تغییرات استخراج گردید، تمامی مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده از شرکت سیگما آلدريچ تهیه گردید. آب دوبار تقطیر برای تمام نمونه‌های مورد استفاده قرار گرفت [16].

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- تهیه عصاره کاکل

کاکل ذرت (۳۰ یا ۴۵ روز بعد از گل دهی) برای استخراج عصاره مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا کاکل به مدت ۵ روز در هوای معمولی (دمای اتاق) خشک شد و سپس به منظور

ویسکوزیته ذاتی (۳/۹۱۷ متر مکعب بر کیلوگرم) است. که تحت عنوان هتروپلی ساکارید آنیونی حاوی گلوكومانان شناخته می‌شود [13].

پلی ساکاریدها در تماس با مایعات سلولی تمايل دارند به سرعت احاطه^۱ و سپس تجزیه شوند، بنابراین امکان آزادسازی داخل سلولی را فراهم می‌کنند. علاوه بر این، وجود گروه‌های آبدوست در ساختار آنها، مانند گروه‌های هیدروکسیل، کربوکسیل و آمینوگروه‌ها یک استراتژی مفید برای بهبود فراهمی زیستی ترکیبات هسته است. بنابراین، پلی ساکاریدها آینده امیدوارکننده ای به عنوان ترکیبات بیوپلیمری برای تهیه نانوذرات دارند و یافتن منبع جدیدی از پلیمرهای زیست تخریب پذیر به ویژه پلیمرهای مشتق شده از گیاه با خواص مناسب، یک حوزه فعال تحقیقاتی است. صمغ دانه ریحان (BSG^۲) یک هیدروکلورید با وزن مولکولی بالا مشتق شده از گیاه است. صمغ دانه ریحان محلول ویسکوزیته بالا و رفتار رقیق شونده با برشی ایجاد می‌کند و به عنوان یک تثبیت کننده، امولسیفایر، جایگزین چربی، فیلم خوراکی و کتربل کننده رشد کریستال یخ است [14].

کنجد (Sesamum indicum L.) یکی از اولین محصولات زراعی مورد استفاده است که برای استفاده از روغن آن کشت می‌شود. کشورهای عمده تولید کنجد هند، سودان، چین و برمه هستند که حدود ۶۰ درصد از کل تولید را تشکیل می‌دهند. تقریباً ۵۰ درصد روغن و ۲۵ درصد پروتئین در دانه کنجد وجود دارد. روغن از دانه کنجد به روش استخراج با حلal و پرس مکانیکی استخراج می‌شود. محصول جانبی که پس از استخراج روغن باقی می‌ماند کنجاله کنجد نامیده می‌شود و حاوی تقریباً ۵۰ درصد پروتئین است. متیونین و تریپتوфан در دانه کنجد به میزان زیادی وجود دارد که آن را در بین سایر دانه‌های روغنی برجسته می‌کند. هر پروتئین با ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی منحصر به فرد خود مشخص می‌شود که بر فرآیند تأثیر بیشتری می‌گذارد. بنابراین، کنجاله

بود، مخلوط گردید. سپس ۴ میلی لیتر سدیم کربنات (مولار) به آن اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آبی با دمای ۴۵ درجه سانتیگراد قرار گرفت تا فاز آبی گسترش یابد و سپس جذب آن در ۷۶۰ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر-UV قرائت شد. مقدار ترکیبات فنولی کل عصاره بر اساس Vis میلی گرم اکی والان اسید گالیک بر ۱۰۰ گرم نمونه بیان گردید [6]. فلاونوئید عصاره بر اساس روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد و بر حسب اکی والان روتین بیان شد [19].

۲-۴-۲-۱- فعالیت آنتی اکسیدانی بر حسب DPPH

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها، مطابق با روش کاپوچی و همکاران (۲۰۱۷) عمل شد. ۰/۳ میلی لیتر از عصاره با غلاظت‌های مختلف با ۲/۷ میلی لیتر محلول متانولی (۱۰-۱۰×۵) DPPH مخلوط و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق در مکان تاریک نگهداری شد و جذب در ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. نمونه شاهد حاوی تمام ترکیبات و شرایط ذکر شده بدون افزودن عصاره است. آنتی اکسیدانی سنتزی TBHQ به میزان ۱۰۰ ppm به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید [5].

$$\text{جذب} = \frac{\text{DPPH} - \text{DPPH}}{\text{DPPH}} \times 100\%$$

۲-۴-۲-۲-۱- فعالیت آنتی اکسیدانی بر حسب FRAP

برای تعیین قدرت احیاکنندگی آهن، در لوله آزمایش به ۰/۰۲ میلی لیتر عصاره (با غلاظت‌های مختلف بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر) یا محلول استاندارد آبی سولفات آهن (غلاظت ۰/۱۸۵-۰/۱۸۵ میکرومول)، ۱ میلی لیتر از محلول کاری اضافه و مخلوط شد. مخلوط فوق ۵ دقیقه در دمای محیط قرار داده و سپس جذب نوری نمونه‌ها قرائت شد. فعالیت احیاکنندگی عصاره بر حسب میکرو مول آهن در میلی گرم محاسبه شد. آنتی اکسیدانی سنتزی TBHQ به میزان ۱۰۰ ppm به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید [20].

خروج بیشتر محتوای رطوبت آن، با استفاده از آون هوای داغ در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت خشک گردید و سپس با استفاده از آسیاب به اندازه تقریبی ۱ میلی متر پودر و از الک با مش ۵۰ عبور داده شد، برای استخراج عصاره کاکل از حلال اتانولی با درجه غذایی استفاده شد. مطابق روش ارائه شده توسط یونس و همکاران (۲۰۲۲)، با کمی تغییرات، حدود ۱۰ گرم پودر کاکل ذرت خشک به ۲۰ میلی لیتر محلول اتانول-آب ۶۰ درصد (وزنی/وزنی) اضافه شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور تکان دهنده در دمای اتاق قرارداده شد. و در ادامه با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر و عصاره حاصله تا زمان انجام آزمایش در دمای ۱۸ درجه سانتی گراد نگهداری شدند [17].

۲-۲-۲-۱- تهیه نانومولسیون

برای تهیه نانومولسیون، عصاره در سه سطح ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد به فاز روغنی که حاوی توئین ۸۰ و روغن سویا است، اضافه گردید و به مدت ۳ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد به هم زده شد. سپس در زمان‌های مختلف به مدت ۵، ۱۰، ۱۵ دقیقه با استفاده از اولتراتوراکس و در دمای ۱۰ درجه سانتیگراد هموژن شد. صمع دانه ریحان به صورت منفرد و در ترکیب با ایزوله پروتئینی کنجد در غلاظت ۳۰ درصد و در نسبت‌های ۰/۱:۱:۰ تهیه و به مدت ۳۰ دقیقه بر روی همزن مغناطیسی هم زده شد. ۲ نمونه بهینه با بهترین اندازه برای پوشش دهی استفاده شد. محلولهای پوششی به آرامی در نسبت محلول به امولسیون ۵ به ۱ و ۵ به ۲ به امولسیون تهیه شده اضافه شد. برای کاهش بیشتر اندازه امولسیون‌های تهیه شده به مدت ۳ دقیقه در معرض اولتراسوند نوع پروبی قرار گرفت و به این ترتیب نانومولسیون مورد نظر تهیه گردید [18].

۲-۲-۳-۱- تعیین محتوای فلاونوئیدی و فنول تام

مقدار ۱۲۵ میکرولیتر از عصاره با ۲۵۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالچو که به نسبت ۱ به ۱۰ با آب مقطر رقیق شده

اسکن شد. خواص نوری پراکنده‌گی در امتداد لوله شیشه‌ای در زمان‌های مختلف، منحنی را به عنوان "اثر انگشت ماکروسکوپی" در نظر گرفته شد. داده‌های حاصل از پراکنده‌گی برگشتی نانومولسیون در ۰، ۳، ۷، ۱۵ و ۲۱ روز در طول نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد به دست آمد [23].

۳- تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش از نرم افزار Design Expert 11.1.1 به منظور طراحی آزمایش، تحلیل داده‌ها، مدل سازی، بهینه کردن پارامترها و رسم نمودارهای مربوط به روش سطح پاسخ در قالب طرح مرکب مرکزی استفاده گردید. همچنین برای بررسی پارامترهای نظری ارزیابی اندازه ذرات، راندمان ریزپوشانی و تجزیه تحلیل سایر پارامترهای آماری از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ و آزمون آنوفا و با استفاده از روش طرح کاملاً تصادفی استفاده شد.

۴- نتایج و بحث

۴-۱- طرح آزمایشی و بهینه سازی داده‌ها
تیمارها در ۱۳ آزمایش بر اساس طرح مرکب مرکزی چیده شد. متغیرهای مستقل مورد استفاده شامل غلظت عصاره و زمان هموژنیزاسیون بود و پاسخ‌های اندازه گیری شده شامل اندازه ذرات و بازدهی بودند. غلظت‌های تعیین شده توسط نرم افزار برای فاکتورهای مورد نظر در جدول ۱ و نشان داده شده است. همچنین تاثیر هریک از فاکتورها بر روی پاسخ‌ها به شکل فرمول زیر محاسبه می‌گردد.
فرمول(۱): عصاره کاکل نانوریزپوشانی شده با پوشش ترکیبی (BSG:SPI):

$$\text{Yield} = +78.31 + 2.50A + 6.33B - 14.09A^2 - 17.59B^2$$

$$\text{Particle Size} = +693.38 + 24.17A + 52.50B - 66.33A^2 - 138.33B^2$$

A: Concentration B: Homogenization Time

فرمول(۲): عصاره کاکل نانوریزپوشانی شده با پوشش صمغ دانه ریحان

$$\text{Yield} = +94.72 + 2.50A + 6.94B - 21.67A^2 - 18.33B^2$$

$$\text{Particle Size} = +624.33 - 0.8333A + 19.92B - 131.00A^2 - 48.75B^2$$

۶-۲-۲- فعالیت ضد میکروبی عصاره کاکل ذرت به منظور تعیین فعالیت آنتی میکروبی عصاره از حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) با استفاده از روش سری‌های رقت استفاده شد. ابتدا در هر یک از پنج لوله آزمایش، ۲ میلی‌لیتر محیط کشت مولر هیتوتون براث ریخته شد. سپس به اولین لوله، ۲ میلی‌لیتر از عصاره افزوده و توسط شیکر لوله کاملاً با محیط کشت مخلوط شد. با کمک سمپلر، ۲ میلی‌لیتر از لوله اول به لوله دوم اضافه شده و پس از هم زدن، نیمی از آن به لوله بعدی انتقال یافت. به همین ترتیب تا لوله پنجم رقیق سازی ادامه یافت و از لوله پنجم ۲ میلی‌لیتر برداشته و دور ریخته شد. با این روش غلظت‌های ۱۲/۵ تا ۱۰۰ میلی‌لیتر تهیه گردید. سپس به همه لوله‌ها میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی (در حد نیم مک فارلنده) اضافه شد. دهانه همه لوله‌ها با پنبه بسته شده و برای ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. در انتها، لوله‌ها از لحاظ کدورت بررسی شدند و کمترین سری رقت فاقد کدورت به عنوان کمینه غلظت مهاری ترکیب عصاره‌ها گزارش گردید [21].

۷-۲-۲- تعیین خواص نانو ذرات

ویژگی‌های نانوذرات شامل اندازه ذرات و پتانسیل زتا با استفاده از روش پراکنده‌گی نور دینامیک با کمک دستگاه زتابایزر انجام شد. نمونه‌ها با آب دیونیزه به نسبت ۱:۱۰۰:۱ رقیق شدند.

۷-۲-۱- راندمان ریزپوشانی

راندمان ریزپوشانی به وسیله‌ی اندازه گیری نسبت فنول‌های ریزپوشانی شده به کل فنول‌ها که برای تهیه نانوذرات استفاده شد، محاسبه گردید [22].

۷-۲-۲- پایداری فیزیکی نانومولسیون

جهت تعیین پایداری فیزیکی نانومولسیون‌ها، ۷ میلی‌لیتر از نانومولسیون‌های مختلف به یک لوله شیشه‌ای استوانه‌ای با کف تخت اضافه و از پایین به بالا توسط یک منبع نور

علامت مثبت در مقابل عبارت ها نشان دهنده اثر سینرژیستی و علامت منفی نشان دهنده اثر آنتاگونیستی است.

A: Concentration B: Homogenization Time

Table1- Independent variables and Nano emulsion responses of encapsulated corn tassel extract with composite coating by central composite design(CCD) method

Std	Run	Factor 1	Factor 2	Response 1		Response 2	
		A:Concentration	B:Homogenization Time	Yield(%)		Particle Size(nm)	
		%	Min	Actual	Predicted	Actual	Predicted
12	1	20	10	80	78.31	700	693.38
6	2	30	10	65	66.72	659	651.22
3	3	10	15	50	50.47	520	517.06
5	4	10	10	60	61.72	612	602.89
4	5	30	15	55	55.47	568	565.39
2	6	30	5	45	42.80	450	460.39
10	7	20	10	80	78.31	700	693.38
1	8	10	5	40	37.80	400	412.06
8	9	20	15	68	67.06	602	607.55
13	10	20	10	80	78.31	700	693.38
7	11	20	5	50	54.39	525	502.55
11	12	20	10	80	78.31	700	693.38
9	13	20	10	75	78.31	650	693.38

Table2- Independent variables and Nano emulsion responses of encapsulated corn tassel extract with basil seed gum coating by central composite design(CCD) method

Std	Run	Factor 1	Factor 2	Response 1		Response 2	
		A:Concentration	B:Homogenization Time	Yield		Particle Size	
		%	min	Actual	Predicted	Actual	Predicted
7	1	20	5	70	67.99	555	555.67
2	2	30	5	50	50.28	430	423.83
4	3	30	15	65	64.17	450	463.67
1	4	10	5	45	45.28	420	425.50
10	5	20	10	95	94.72	620	624.33
3	6	10	15	60	59.17	475	465.33
11	7	20	10	95	94.72	620	624.33
8	8	20	15	80	83.33	575	595.50
5	9	10	10	70	70.56	490	494.17
9	10	20	15	85	83.33	620	595.50
12	11	20	10	95	94.72	627	624.33
6	12	30	10	75	75.56	500	492.50
13	13	20	10	95	94.72	627	624.33

پروتئین گوش ماهی mantle بهبود می یابد. Osman gul et al. 2023 گزارش کردند که تیمار پروتئین های کنجد با اولتراسوند منجر به کاهش معنی دار اندازه ذرات (کمتر از ۴۰ میکرومتر) در مقایسه با نمونه شاهد(۱۲۰ میکرومتر) گردید که علت این امر نیز کاهش فعل و انفعالات بین ذره ها می باشد[26]. همچنین آنان در مطالعات خود اعلام کردند که افزایش در زمان اولتراسوند تغییرات محسوسی ایجاد نمی کند که علت این امر احتمالا ساختار توده ای بالای ترکیبات نامحلول ایزوله پروتئین می باشد. حسینی و همکاران ۱۳۹۵ در بررسی پایداری نانومولسیون روغن ماهی پایدارشده با ایزوله پروتئین آب پنیر (تهیه شده به روش فراصوت) طی نگهداری گزارش کردند که در اثر تیمار محلول با اولتراسوند در زمان های مختلف، اندازه ذرات بطور معنی دار(از ۶۰ نانومتر به زیر ۱۰۰ نانومتر) کاهش یافت. افزایش زمان طی فرایند اولتراسوند باعث می شود که ذرات شکسته شده روغن فرصت بیشتری پیدا کنند تا توسط امولسیفایر پوشیده شده و سبب جلوگیری از افزایش قطر ذرات گردند و فقط ساختار را ریز نگردد بلکه خود پروتئین نیز در حال ریز شدن می باشد[27]. اندازه ذرات نانومولسیون هایی که تحت تاثیر اولتراسوند قرار گرفتند به عواملی مانند زمان، درجه حرارت، قدرت و شدت اولتراسوند، خصوصیات مکانیکی و فیزیکی صمغ، نوع ماده ضدمیکروب و انتی اکسیدان و خواص نوری پوشش دارد. [28]. پورشایگان و همکاران ۱۳۹۸ در مطالعه خود اندازه ذرات نانومولسیون صمغ دانه ریحان و قدومه شیه‌ی حاوی عصاره پوست کیوی را در محدوده ۸۱/۵۳ تا ۱۷/۱۷ گزارش کردند [29]. همچنین به منظور بررسی اثر متقابل متغیرهای مستقل بر صفات مورد آزمایش، نمودار پاسخ سطحی رسم شد. در هر نمودار اثر دو متغیر بررسی گردید. شکل ۱۰ تصویر سه بعدی اثر غلاظت و زمان هموژنیزاسیون بر اندازه ذرات نانومولسیون عصاره کاکل ذرت ریزپوشانی شده با صمغ دانه ریحان به صورت منفرد و در ترکیب با ایزوله پروتئین کنجد را نشان می دهد.

۴-۲- اندازه ذرات و پتانسیل زتا متوسط اندازه نانو ذرات ریزپوشانی شده در جدول ۳ ارائه شده است. همانطور که مشاهده می شود هر دو نوع پوشش مورد استفاده از نظر اندازه در محدوده نانومتر قرار دارند. نانوپوشش ترکیبی بزرگترین (SPI:BSG- 533.28nm) و (BSG-494.45nm) کوچکترین اندازه را داشت که هر دو پوشش باهم اختلاف آماری معنی داری داشتند. به عبارتی نتایج نشان داد که تغییر در مواد دیواره بر اندازه نانوریزپوشانی تاثیر معنی داری دارد. با بررسی جدول ۳ ملاحظه می شود کاهش اندازه ذرات نانوپوشش تهیه شده با صمغ دانه ریحان بیشتر از پوشش ترکیبی است که با یافته های خرمی و همکاران ۱۳۹۸ مطابقت دارد[24]. بررسی مطالعات آنان نشان می دهد که افزودن غلاظت کمی از صمغ ریحان به امولسیون سدیم کازئینات باعث تغییر معنی داری اندازه ذرات و کاهش آن شده است. کاهش اندازه ذرات به علت جذب پلی ساکاریدهای آئیونی بر روی سطح قطرات پوشیده شده از پروتئین ها می باشد. همچنین اندازه ذرات یک پارامتر کلیدی است که خواص عملکردی پروتئین ها مثل حلالیت، امولسیفایری و قابلیت تشکیل کف را تحت تاثیر قرار می دهد که طبق یافته های Ding et al. 2021. تیمار پروتئین های mantle حاصل از گوش ماهی با اولتراسوند، اندازه ذرات را بطور معنی دار کاهش داد (بطور میانگین در ۳۰۰ وات، ۳۱۴/۶۰ نانومتر) [25]. که این کاهش با افزایش شدت اولتراسوند، بیشتر شد. که علت کاهش اندازه ذرات در اثر تیمار با اولتراسوند احتمالا مربوط به این واقعیت است که فعل و انفعالات غیرکوالانسی و کنش های شدید بین توده های پروتئین توسط اثر توربولانت، کاویستاسیون و نیروی برشی قوی ناشی از شدت اولتراسوند آسیب دیده است. همچنین آنان گزارش کردند که بعلت کاویستاسیون و نیروی برشی ناشی از تیمار با اولتراسوند، ساختار پروتئین کاهش یافته و در نتیجه برخی از گروه های سولفیدریل آزاد در معرض، به راحتی پیوندهای دی سولفیدی تشکیل می دهند بنابراین پایداری ساختار

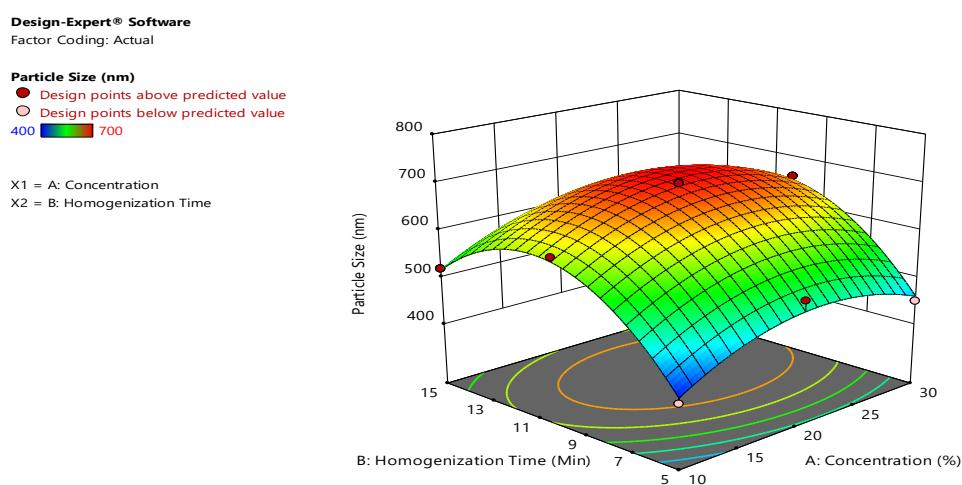


Figure1. Three-dimensional diagram, the simultaneous effect of concentration- homogenization time on Nano emulsion particle size corn tassel extract encapsulated with basil seed gum and sesame protein isolate

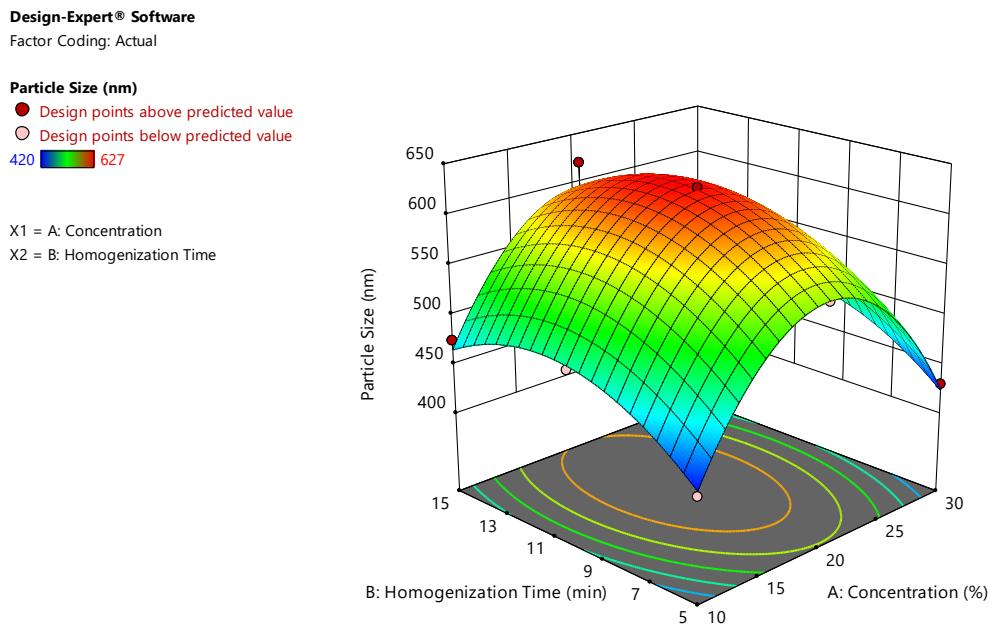


Figure2. Three-dimensional diagram, the simultaneous effect of concentration- homogenization time on Nano emulsion particle size corn tassel extract encapsulated with basil seed gum

ریزپوشانی شده با صمغ دانه ریحان و زمان هموژنیزاسیون ۵ دقیقه به دست آمده است. مطابق مطالعات انجام شده، عصاره، به علت خواص ویسکوزیته تاثیر مهمی در اندازه ذرات و کارایی نانومولسیون دارد لذا ماده محصور شده با ویسکوزیته کم می تواند تجزیه قطرات نانومولسیون را تسهیل کند و منجر به کاهش اندازه ذرات گردد. همچنین غلطت بالای نمونه نه تنها ویسکوزیته را افزایش می دهد بلکه باعث افزایش ترسیب نمونه شده و منجر به اندازه

همان طور که در شکل ۱ می بینید با افزایش غلطت عصاره کاکل ذرت با پوشش ترکیبی و زمان هموژنیزاسیون، اندازه ذرات افزایش یافت. با توجه به اینکه یکی از اهداف نانومولسیون رسیدن به کوچکترین حد اندازه ذرات است لذا با بررسی نمودار سه بعدی مشاهده می شود که کمترین مقدار اندازه ذرات در غلطت ۱۰٪ و زمان ۵ دقیقه حاصل شده است. همچنین با بررسی شکل ۲ مشاهده می شود که کمترین مقدار اندازه ذرات در غلطت ۱۰٪ عصاره کاکل ذرت

نشان داد که کارایی درون پوشانی عصاره کاکل درون کپسول ها با تغییر مواد دیواره به طور معنی دار تغییر می یابد. نوع دیواره و اندازه ذره از عوامل تاثیرگذار در راندمان انکپسولاسیون هستند. همچنین ویسکوزیته از عوامل تاثیرگذار بر راندمان انکپسولاسیون می باشد. چون با افزایش ویسکوزیته حرکت مواد فرار کاهش یافته و در نتیجه راندمان انکپسولاسیون افزایش می یابد[33]. همچنین فشار هموژنیزاسیون بالاتر از ۵۰۰ بار، تأثیر مثبت روی راندمان انکپسولاسیون داشته و باعث افزایش آن میشود، اما بالاتر از این مقدار، افزایش فشار هموژنیزاسیون باعث کاهش راندمان انکپسولاسیون میگردد[34]. با بررسی جدول ۳ مشاهده می شود میزان راندمان نانوریزپوشانی عصاره کاکل در پوشش صمغ دانه ریحان ۷۷/۲٪ و در پوشش ترکیبی ۵۸/۲٪ می باشد. بعارتی بیشترین میزان راندمان مربوط به استفاده از صمغ دانه ریحان بصورت منفرد است. به طور کلی دلیل افزایش راندمان وجود صمغ در ماتریس دیواره است که با ایجاد پوشش محافظ در سطح عصاره کاکل این حالت را ممکن می سازد. همچنین علت پایین بودن راندمان در حالت ترکیبی احتمالاً به دلیل بالا رفتن فشار اسمزی در اثر افزایش مقدار پروتئین باشد [35] که نتایج حاصله با تحقیقات عباسی گزنق و همکاران ۱۴۰۱ مطابقت دارد[36]. دلیل تفاوت در درصد نانوریزپوشانی را می توان به اندازه ذرات نانومولسیون های تهیه شده نسبت داد. لذا هرچه اندازه ذرات امولسیون کوچکتر باشد راندمان ریز پوشانی افزایش می یابد. که نتایج حاصله از این پژوهش نشان داد که با توجه به کوچکتر بودن اندازه ذرات نانومولسیون پوشش داده شده با صمغ دانه ریحان نسبت به پوش ترکیبی، راندمان ریزپوشانی با پوشش صمغ بیشتر است. نتایج مطالعات ما با یافته های جمشیدی و همکاران ۲۰۲۰ مطابقت دارد[37].

Cطرات بزرگتر می شود. که نتایج حاصله با یافته های Li et al. 2017 مطابقت دارد[30].

پتانسیل زتا معمولاً برای تعیین پایداری سیستم محلول استفاده می شود. بالابودن پتانسیل زتابی ذرات امولسیون موجب بالا رفتن نیروی دافعه الکترواستاتیک و در نتیجه افزایش پایداری فیزیکی سیستم می گردد.[31]. همانطور که در جدول ۳ نشان داده شده است پتانسیل زتابی محلول نانومولسیون حاوی عصاره کاکل در پوشش صمغ دانه ریحان و همچنین در پوشش ترکیبی، مثبت است. که نشان دهنده اسیدهای آمینه با بارمثبت بیشتر از بار منفی در سطح پروتئین است. پتانسیل زتابی مثبت پوشش های مورد استفاده (صمغ دانه ریحان و پروتئین ایزوله کنجد) نشان می دهد که آن برای افزایش پایداری محلول به دلیل دافعه الکترواستاتیک خوب، مقید است. که مقادیر آن برای پوشش ترکیبی (۴۵/۵٪) بیشتر از پوشش در صمغ دانه ریحان (۴۱/۸٪) می باشد. نتایج حاصله با یافته های Osman gul et al., 2023 مطابقت دارد[26]. آنان گزارش کردند که تیمار پروتئین کنجد با اولتراسوند منجر به افزایش پتانسیل زتابی (۳۹/۸mV) و در نتیجه پایداری امولسیون می شود. که علت این افزایش ممکن است به دلیل نیروهای مکانیکی مانند کاویتاسیون باشد که در طول اولتراسوند رخ می دهد. گروه های قطبی در ناحیه داخلی پروتئین بعلت اثر کاویتاسیون به سطح مولکول های پروتئین حرکت می کنند بنابراین بار خالص بیشتری در محلول پروتئین اصلاح شده وجود دارد که برهم کنش های الکترواستاتیکی کمپلکس های محکم تری را تشکیل می دهند که پایداری و توزیع محلول را بهبود می بخشنند[32].

۴-۳- کارایی درون پوشانی
کارایی درون پوشانی میزان به دام افتادن عصاره کاکل ذرت درون کپسولها را نشان می دهد. نتایج حاصله در جدول ۳

Table 3- Particle size, Zeta potential and encapsulation efficiency of Nano emulsion encapsulated with different wall materials

Type of Nano emulsion	Mean particle size(nm)	Zeta potential (mv)	Encapsulation efficiency (%)
BSG	494.45 ^b	+41.85 ^b	76.2 ^a
BSG:SPI	533.28 ^a	+45.57 ^a	58.27 ^b

Dissimilar letters showed a statistically significant difference at the level of $P < 0.05$

BSG: Basil seed gum, SPI: Sesame protein isolate

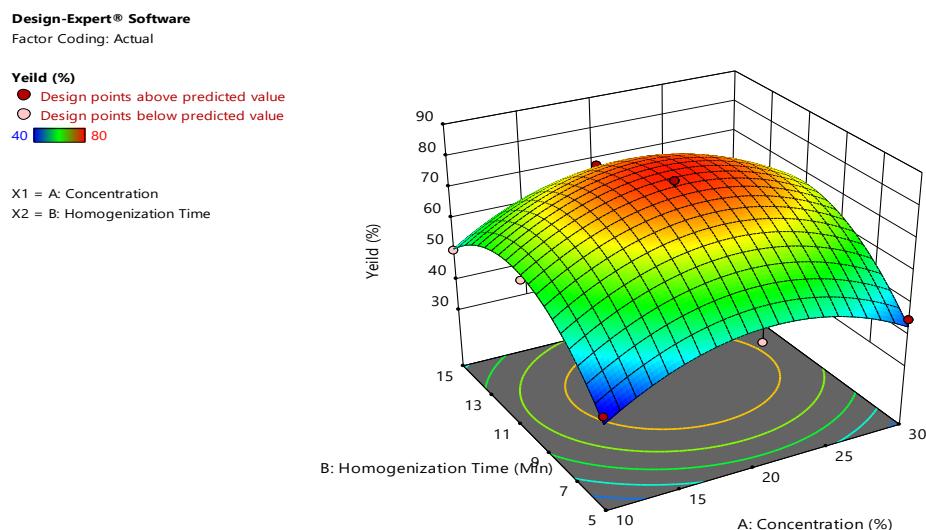


Figure3. Three-dimensional diagram, the simultaneous effect of concentration- homogenization time on Nano emulsion efficiency corn tassel extract encapsulated with basil seed gum and sesame protein isolate

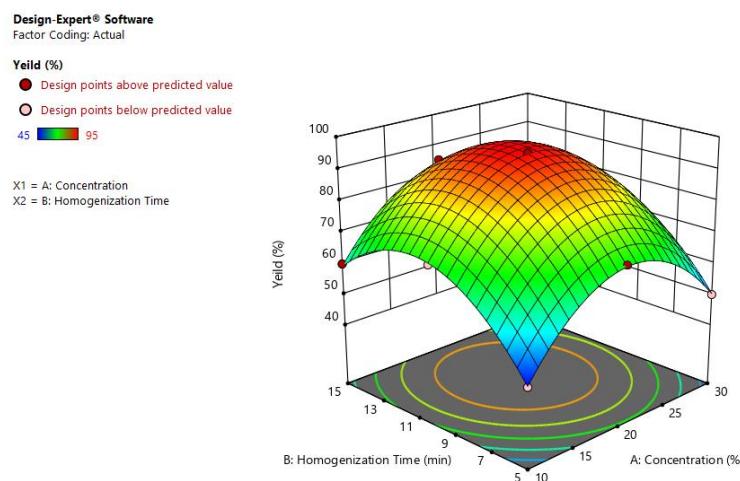


Figure4. Three-dimensional diagram, the simultaneous effect of concentration- homogenization time on Nano emulsion efficiency corn tassel extract encapsulated with basil seed gum

با افزایش غلظت عصاره و زمان هموژنیزاسیون بازدهی افزایش یافت(شکل ۴). همانطور که در شکل ۴ می بینید آنجایی که غلظت عصاره به علت خواص ویسکوزیته تاثیر مهمی در اندازه ذرات و کارایی نانومولسیون دارد لذا ماده

همان طور که در شکل ۳ می بینید با افزایش غلظت عصاره کاکل ذرت با پوشش ترکیبی و زمان هموژنیزاسیون، بازدهی افزایش یافت. در بررسی تاثیر غلظت-زمان هموژنیزاسیون بر راندمان عصاره کاکل ذرت با پوشش صمغ دانه ریحان نیز

ارائه شده برای نمونه ها با یکدیگر اختلاف معنی داری دارند. که بیشترین پایداری مربوط به نانومولسیون عصاره کاکل ریزپوشانی شده با پوشش ترکیبی در روز صفر و کمترین پایداری آن مربوط به نانومولسیون عصاره کاکل ریزپوشانی شده با صمع دانه ریحان در روز ۲۱ می باشد. با بررسی نتایج حاصله، پوشش ترکیبی پایداری بیشتری دارد که نشان از تاثیر نوع دیواره بر پایداری دارد که نتایج به دست آمده از پتانسیل زتا نیز نشان داد که نانومولسیون حاوی عصاره ترکیبی پایداری بیشتری دارد. حسینی و همکاران ۱۳۹۵ در بررسی پایداری نانومولسیون روغن ماهی پایدار شده با ایزوله پروتئین آب پنیر (تهیه شده به روش فراصوت) طی نگهداری گزارش کردند که با گذشت زمان در دمای محیط ۲۵ درجه سانتی گراد) پایداری نانومولسیون کاهش یافت که علت این امر حرکت سریعتر ذرات به سطح در دمای بالاتر که انعقاد جاذبه ای را افزایش می دهد [29]. یافته های غفوری و همکاران ۱۴۰۰ در خصوص بررسی پایداری فیزیکی و شیمیابی نانومولسیون امگا ۳ نشان می دهد که پایداری در مدت زمان نگهداری کاهش پیدا می کند به عبارتی روند خامه ای شدن با گذشت زمان افزایش پیدا می کند که این امر احتمالاً به دلیل وجود ذراتی با اندازه های ناهمگون و وجود ذرات بدون سورفاکtant احتمالی، ذرات در اثر حرکات تصادفی با یکدیگر ادغام شده و پدیده انبوه شدن طی مدت زمان نگهداری صورت میگیرد [40]. نتایج ارائه شده توسط شهرام پور و همکاران ۱۴۰۱ نیز موید مطالعات ما بود که زمان نگهداری در پایداری امولسیون و نانومولسیون تأثیرگذار است و با افزایش زمان نگهداری اندازه ذرات افزایش می یابد [41].

محصور شده با ویسکوزیته کم می تواند تجزیه قطرات نانومولسیون را تسهیل کند. همچنین غلظت بالای نمونه نه تنها ویسکوزیته را افزایش می دهد بلکه باعث افزایش ترسیب نمونه شده و منجر به اندازه قطرات بزرگتر می شود. که نتایج حاصله با یافته های Li et al. 2017 [30] لذا با توجه به اینکه در نانوریزپوشانی عصاره های گیاهی هدف رسیدن به حداقل راندمان مطلوب است لذا ماکزیمم راندمان مربوط به غلظت ۲۰٪ و زمان ۱۰ دقیقه هموژنیزاسیون می باشد.

۴-۴- پایداری نانومولسیون ها

پایداری امولسیون به عوامل مختلفی بستگی دارد که می توان مهم ترین این عوامل را تجمع و به هم آمیختگی ذرات دانست. طبق قانون استوکس سرعت حرکت قطرات با مربع شعاع آن رابطه مستقیم دارد. در نتیجه از طریق کاهش اندازه قطرات می توان پایداری امولسیون را افزایش داد. اندازه ذرات و توزیع آن ها بر بسیاری از خواص امولسیون مانند جدایی فاز، پایداری در طی نگهداری، مقاومت به رویه بستن، خصوصیات ظاهری، گرانزوی، ویژگی های حسی و ارگانولپتیکی و غیره تاثیر بسیاری دارد [38]. به طور معمول پلی ساکاریدهای گیاهی به عنوان پایدارکننده های امولسیونی نوع روغن در آب شناخته می شوند. این زیست بسپارها از طریق یک مکانیسم غیرجادب و با کاهش حرکت قطرات روغن به پایداری امولسیون کمک می کنند [39]. پایداری نانومولسیون عصاره کاکل ریز پوشانی شده با پوشش صمع دانه ریحان به صورت منفرد و ترکیبی در طی نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد در روزهای صفر، ۱۵، ۷، ۳، ۲۱، ۱۵٪، ۳ جدول ۴ ارائه شده است. همان گونه که انتظار می رفت پایداری نانومولسیون ها با گذشت زمان کاهش یافت. مقدار

Table4- Investigation of stability in different samples of Nano emulsion prepared from corn tassel extract encapsulated with BSG and BSG: SPI

Extract name	Stability of Nano emulsion in days(%)				
	0	3	7	15	21
Corn tassel extract Nano emulsion encapsulated with basil seed gum	89/42 ^{Ab}	74/67 ^{Bb}	63/95 ^{Cb}	43/20 ^{Db}	20/89 ^{Eb}

Corn tassel extract Nano emulsion encapsulated with basil seed gum and sesame protein isolate	94/85 ^{Aa}	82/00 ^{Ba}	70/23 ^{Ca}	55/41 ^{Da}	33/80 ^{Ea}
---	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------

Dissimilar letters showed a statistically significant difference at the level of p <0.05

که محتوای فنولی تام عصاره کاکل ذرت را به et al. 2018[44]

$$\text{ترتیب } \frac{mgGAE}{g} DW \text{ } ۷۰/۳۳ \quad \frac{mgGAE}{g} DW \text{ } ۲۰۲۴/۷ \text{ تا } ۲۹۴۵ \text{ گزارش کردند، مطابقت دارد.}$$

Table5-Total phenol and Flavonoid content of corn tassel extract

Extract name	Flavonoid(quercetin equivalent/g	Total phenol content(mg GA/100gDW)
Corn tassel	1346.20±86.65	124.47±1968.23

۴-۵- محتوای فنولی کل و فلاونوئیدی

فنول ها گروه بسیار متنوعی از فیتوکمیکال ها هستند. آنها در دانه های غلات به صورت آزاد و باند شده یافت می شوند [4]. ترکیبات فنولی در گل ها، میوه ها، دانه ها و سایر قسمت های گیاه یافت می شود. ترکیبات فنولی گیاهان به دلیل اثرات ضدالتهابی، ضد سلطانی و کاهش قند خون به دلیل اثرات مفید بر سلامت انسان شناخته می شوند [5]. به طور کلی کاکل و غلاف از ضایعات پس از برداشت گیاه ذرت هستند. به دلیل محتوای بالای ترکیبات زیست فعال در بخش های مختلف گیاه، علاقه مندی برای استفاده بالقوه از این ترکیبات فیتوشیمیایی وجود دارد [6]. از کاکل می توان محصولات با ارزش مانند روغن های فرار، گلیکوزیدهای فلاونول کامفرون، ایزورهمتین و کورستین و لیپیدها تولید کرد چرا که همانطور که گفته شد این بخش از ذرت حاوی فلاونوئید، آلکالوئید، آلانتوئین، پتوسان، اینوزیتول، پلی ساکارید، ویتامین K و C، چندین نوع اسیدآمینه آلی و استرول می باشد [7].

میزان فنول کل و محتوای فلاونوئیدی عصاره کاکل در جدول ۵ ارائه شده است. همانطور که مشاهده می کنید میزان فنول کل بر حسب میلی گرم اسید گالیک در هر ۱۰۰ گرم ماده خشک برابر ۱۹۶۸/۴۳ و مقدار فلاونوئید بر حسب کوئرستین ۱۳۴/۶/۲ است. مطابق یافته های Wang et al. 2014 کاکل ذرت حاوی انواعی از ترکیبات زیست فعال از جمله آلکالوئید، فلاونوئیدها، ساپونین ها، پلی ساکاریدها، پتوسان ها، آلانتوئین، اینوزیتول، ویتامین C و استرول ها است [19]. میزان ترکیبات فلاونوئید، ساپونین و پلی ساکاریدها در ذرت به ترتیب ۱.۶۷-۲.۴۱ و ۴.۷۶ درصد است که این ترکیبات پلی ساکاریدی دارای خواص فیزیولوژیکی از جمله خاصیت آنتی باکتریال دارند [42]. نتایج حاصل از پژوهش Khamphasan et al., 2021[43] و Garcia et al., 2021[43] ما با یافته های Garcia et al., 2021[43] و

عصاره کاکل ذرت دارای ظرفیت آنتی اکسیدانی است و توانایی بالایی در مهار تکثیر سلول های سرطانی معده دارد [8]. در جدول ۶ مقادیر فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره کاکل ذرت بر حسب DPPH و FRAP ارائه شده است. که این مقدار بر حسب DPPH، ۸۵/۰۵ درصد و بر حسب FRAP ۲۸۸/۱۱ میکرومول آهن بر لیتر می باشد. Wang et al., 2014 در بررسی مطالعات خود گزارش کردند که فلاونوئیدها، ساپونین و پلی ساکاریدها از غالب ترین ترکیبات موجود در عصاره کاکل ذرت هستند و مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی آنها بر اساس DPPH، به ترتیب ۷۷/۱۸ و ۹۰/۳۹ و ۶۰/۲۴ درصد و همچنین براساس FRAP به ترتیب ۶۹۱/۰۴، ۶۹۱/۶۵ و ۴۶۲/۵۲ میکرومول بر لیتر است لذا فعالیت آنتی اکسیدانی برجسته ای داشته و همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره کاکل ذرت به این ترکیبات نسبت داده می شود [19]. نتایج حاصل از این پژوهش با یافته های Khamphasan et al. 2018[44] و Garcia et al., 2021[43] که میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره کاکل ذرت را به ترتیب $\frac{molTe}{g} DW \text{ } ۲۰۲۹/۶۱$ و $\frac{molTe}{g} DW \text{ } ۱۴۲۹۳$ تا ۲۰۰۸۵ (۸۱/۳ درصد) گزارش کردند مطابقت دارد.

Table6- Antioxidant activity of corn tassel extract

سلولی است. لذا باکتریهای گرم منفی با دیواره مذکور حساسیت کمتری به ترکیبات ضد میکروبی دارند. [26].

فعالیت آنتی میکروبی عصاره کاکل ذرت را می‌توان به وجود ترکیبات فنولی بالا مانند اسید گالیک، کلروژنیک اسید و کافئیک اسید نسبت داد که تاثیر ضد میکروبی این ترکیبات از طریق تخریب دیواره سلولی، مسدود کردن مسیرهای انتقال یون و ممانعت از سنتز آدنوزین تری فسفات (ATP) است [21]. در واقع باکتریهای گرم منفی به دلیل نوع دیوارهایی که دارند حساسیت کمتری در برابر عوامل ضد میکروبی از خود نشان میدهند، که علت آن میتواند وجود لیپو پلی ساکاریدهای دیواره سلولهای باکتریهای گرم منفی باشد که از ورود مولکولهای آب گریز و بزرگ به داخل سلول ممانعت میکند و از آن جهت که ترکیبات موثر در عصاره گیاهی آب گریز میباشند میتوان نتیجه گرفت که نوع دیواره موجود در باکتریهای گرم منفی مانع نفوذ این ترکیبات به درون سلول و در نتیجه مقاومت باکتریهای گرم منفی به عصارهای گیاهی میشود [45]. مطابق یافته های Elsayed et al., 2022 ناحیه مهار نسبتاً پایین تری (۱/۸-۴/۹ میلی گرم بر میلی لیتر) برای باکتری های پاتوژن زا (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhi*, *B. cereus* and *S. aureus*) دارد. [21]

Table 7- Minimum inhibitory concentration (MIC) of Corn tassel extract against pathogenic bacteria

Extract name	Gram-positive bacteria		Gram-negative bacteria		
	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>E.coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Corn tassel	25	25	50	25	50

درون پوشانی عصاره کاکل ذرت مورد ارزیابی قرار گرفت. صمغ دانه ریحان کمترین اندازه ذرات و بالاترین کارایی را نشان داد. بالاترین مقدار پتانسیل زتا و پایداری امولسیون نیز متعلق به پوشش ترکیبی بود. همچنین نتایج خاصل از حداقل غلظت مهارکنندگی نشان داد که عصاره کاکل ذرت دارای خاصیت ضد میکروبی است و تاثیر آن بر باکتری های گرم

Extract name	DPPH radical scavenging activity	FRAP ($\mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{L}$)
Corn tassel	85.05 \pm 2.61	288.11 \pm 24.22

۴-۷- فعالیت آنتی میکروبی عصاره مطالعات نشان داده است که پلی ساکاریدهای ذرت غیر سمی و دارای رنج وسعی از خواص فیزیولوژیکی شامل خواص ضد باکتری، ضد تومور، فعالیت ایمنی و هایپوگلایسمی هستند [19]. نتایج ارائه شده در جدول ۷ فعالیت ضد میکروبی عصاره کاکل ذرت را برای ۵ گونه از باکتری های بیماری زای منتقله از غذا شامل باکتری های گرم مثبت (*S. auerus* و *L. monocytogenes*) (E. coli, *S. enteritidis*, *P. aeruginosa*) را نشان می دهد. تلقیح باکتریایی ۱۰ میکرولیتر به غلظت ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره کاکل ذرت برای تعیین نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی استفاده شد. همانطور که ملاحظه می شود حداقل غلظت مهارکنندگی برای باکتری های گرم منفی بیشتر از باکتری های گرم مثبت است. دلیل این امر احتمالاً حساسیت بالای این باکتری ها به ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی موجود در عصاره های گیاهی می باشد. باکتریهای گرم منفی یک غشای خارجی نشت ناپذیر دارند که از نظر فیزیکوشیمیایی پیچیده تر از غشای دیوارهای

۵- نتیجه گیری

هدف از این پژوهش بهبونه سازی عصاره کاکل ریزپوشانی به روش سطح پاسخ و ارزیابی خواص آنها با دیواره های مختلف (صمغ دانه ریحان و ایزوله پروتئین کنجد) بود. در این پژوهش، کارایی مواد دیواره مختلف و ترکیب آنها در

به منظور بررسی عملکرد این ریزپوشینه ها و کاربردشان در فرمولاسیون غذایی، نیاز به مطالعه آنها در شرایط آزمایشگاهی (In-vitro) است.

۶- منابع

- [1] Hosseinnia, M., Almasi, H. and Alizadeh khaledabad, M. (2018). Evaluation of the properties of microcapsules containing *Ziziphora clinopodiodes* extract stabilized by gum Arabic, whey protein isolate, guar gum and their combinations. *Journal of Food Researches*, 29(4), 101-123.
- [2] Adom, K. K., & Liu, R. H. (2005). Rapid peroxyl radical scavenging capacity (PSC) assay for assessing both hydrophilic and lipophilic antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(17), 6572-6580.
- [3] Kandlakunta, B., Rajendran, A., & Thingnganang, L. (2008). Carotene content of some common (cereals, pulses, vegetables, spices and condiments) and unconventional sources of plant origin. *Food Chemistry*, 106(1), 85-89.
- [4] Saura-Calixto, F. (2012). Concept and health-related properties of nonextractable polyphenols: The missing dietary polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(45), 11195-11200.
- [5] Capocchi, A., Bottega, S., Spano, C., & Fontanini, D. (2017). Phytochemicals and antioxidant capacity in four Italian traditional maize (*Zea mays* L.) varieties. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 68(5), 515-524.
- [6] Kapcum, C., Uriyapongson, S., & Uriyapongson, J. (2021). Phenolics, anthocyanins and antioxidant activities in waste products from different parts of purple waxy corn (*Zea mays* L.). *Songklanakarin Journal of Science & Technology*, 43(2).
- [7] Guven, R. G., Aslan, N., Guven, K., Bekler, F. M., & Acer, O. (2016). Purification and characterization of polyphenol oxidase from corn tassel. *Cellular and Molecular Biology*, 62(13), 6-11.
- [8] Duangpapeng, P., Ketthaisong, D., Lomthaisong, K., Lertrat, K., Scott, M. P., & Suriharn, B. (2018). Corn tassel: A new source of phytochemicals and antioxidant potential for value-added product development in the agro-industry. *Agronomy*, 8(11), 242.
- [9] Manojlović, V., Nedović, V. A., Kailasapathy, K., & Zuidam, N. J. (2010). Encapsulation of probiotics for use in food products. In *Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing* (pp. 269-302): Springer.
- [10] Safari, R., Raftani Amiri, Z., Reyhani Pouli, S. and Esmailzadeh Kenari, R. (2022). Evaluation and comparison of antioxidant and antibacterial activity of

ثبت بیشتر از باکتری های گرم منفی است. نتایج حاصل از بهینه سازی به روش سطح پاسخ نشان داد با افزایش غلظت عصاره و زمان هموزنیزاسیون در هر استفاده از هر دو دیواره بازدهی و اندازه ذرات افزایش یافت. با مقایسه مواد دیواره می توان نتیجه گرفت که صمغ دانه ریحان در ترکیب با ایروله پروتئین کنجد پوشش بهتری برای درون پوشانی است. لذا

- phycocyanin extracted from spirulina microalgae (*Spirulina Platensis*) in both pure and nanoencapsulated forms with maltodextrin -sodium caseinate combination coating. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 19(127), 345-358.
- [11] McClements, D. J., Decker, E. A., Park, Y., & Weiss, J. (2009). Structural design principles for delivery of bioactive components in nutraceuticals and functional foods. *Critical reviews in food science and nutrition*, 49(6), 577-606.
 - [12] Sahyon, H. A., & Al-Harbi, S. A. (2020). Antimicrobial, anticancer and antioxidant activities of nano-heart of *Phoenix dactylifera* tree extract loaded chitosan nanoparticles: In vitro and in vivo study. *International journal of biological macromolecules*, 160, 1230-1241.
 - [13] Mohammad Kheshtchin, S., Farahmandfar, R., & Farmani, J.(2022). Effect of homogenization on encapsulation of grapefruit (*Citrus paradisi*) peel essential oil with basil seed gum. *Innovation Food Technology*. 9(3), 223-238.
 - [14] Martínez-Ballesta, M., Gil-Izquierdo, Á., García-Viguera, C., & Domínguez-Perles, R. (2018). Nanoparticles and controlled delivery for bioactive compounds: Outlining challenges for new “smart-foods” for health. *Foods*, 7(5), 72.
 - [15] Saini, C. S., Sharma, H. K., & Sharma, L. (2018). Thermal, structural and rheological characterization of protein isolate from sesame meal. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(1), 426-432.
 - [16] Onsارد, E., Pomsamud, P., & Audtum, P. (2010). Functional properties of sesame protein concentrates from sesame meal. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 3(4), 420-431.
 - [17] Younis, M. I., Ren, X., Alzubaidi, A. K., Mahmoud, K. F., Altemimi, A. B., Cacciola, F., ... & Abedelmaksoud, T. G. (2022). Optimized green extraction of polyphenols from *Cassia javanica* L. petals for their application in sunflower oil: Anticancer and antioxidant properties. *Molecules*, 27(14), 4329.
 - [18] Esmaeilzadeh Kenari, R., & Razavi, R. (2022). Phenolic profile and antioxidant activity of free/bound phenolic compounds of sesame and properties of encapsulated nanoparticles in different wall materials. *Food science & nutrition*.
 - [19] Liu, J., Wang, C., Wang, Z., Zhang, C., Lu, S., & Liu, J. (2011). The antioxidant and free-radical

- scavenging activities of extract and fractions from corn silk (*Zea mays L.*) and related flavone glycosides. *Food Chemistry*, 126(1), 261-269.
- [20] Sulaiman, S. F., Sajak, A. A. B., Ooi, K. L., & Seow, E. M. (2011). Effect of solvents in extracting polyphenols and antioxidants of selected raw vegetables. *Journal of Food Composition and analysis*, 24(4), 506-515.
- [21] Elsayed, N., Marrez, D. A., Ali, M. A., El-Maksoud, A. A. A., Cheng, W., & Abedelmaksoud, T. G. (2022). Phenolic profiling and in-vitro bioactivities of corn (*Zea mays L.*) tassel extracts by combining enzyme-assisted extraction. *Foods*, 11(14), 2145.
- [22] Esmaeilzadeh kenari & Razavi, R. (2021). Evaluation of Antioxidant Effect of Free and Nano encapsulated Polyphenol of Sesame on Changes in Fatty Acid Profile of Kilka Fish Oil Under Accelerated Conditions. *Journal of Innovation in Food Science and Technology*, 15(4), 71-90.
- [23] Velderrain-Rodríguez, G. R., Acevedo-Fani, A., González-Aguilar, G. A., & Martín-Belloso, O. (2019). Encapsulation and stability of a phenolic-rich extract from mango peel within water-in-oil-in-water emulsions. *Journal of functional foods*, 56, 65-73.
- [24] Khorami, M., Hosseini-Parvar, S.H & Motamed zadegan, A. (2021). The influence of Basil seed gum on the stability, particle size and rheological properties of oil-in-water emulsions stabilized by sodium caseinate. *Food Processing and Preservation Journal*. 12(2), 139-156.
- [25] Ding, Q., Tian, G., Wang, X., Deng, W., Mao, K., & Sang, Y. (2021). Effect of ultrasonic treatment on the structure and functional properties of mantle proteins from scallops (*Patinopecten yessoensis*). *Ultrasonics Sonochemistry*, 79, 105770
- [26] Gul, O., Saricaoglu, F. T., Atalar, I., Gul, L. B., Tornuk, F., & Simsek, S. (2023). Structural Characterization, Technofunctional and Rheological Properties of Sesame Proteins Treated by High-Intensity Ultrasound. *Foods*, 12(9), 1791.
- [27] Hosseini, S.M.H., Nejadmansori, M. & Niyakosari, M. (2016). Stability of fish oil nanoemulsion stabilized with whey protein isolate (prepared by ultrasonic method) during storage. The first international congress and the 24th national congress of food science and industries of Iran. <https://civilica.com/doc/574004>
- [28] Razavi R, Kenari RE, Farmani J, Jahanshahi M. (2020). Fabrication of zein/alginate delivery system for Nano food model based on pumpkin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 165:3123-34.
- [29] Pourshaygan, M., EsmaeilzadehKanari, R. & Farahmandfar, R. (2019). Separated and Combined Effects of Nano Coating of Basil seed gum and perfoliatumseed gum Containing Kiwi Peel Extract to Increase Shelf Life of Sheep's Meat. *Journal of food science and technology(Iran)*, 16(88), 83-95.
- [30] Li, X., Wang, L., & Wang, B. (2017). Optimization of encapsulation efficiency and average particle size of Hohenbuehelia serotina polysaccharides nanoemulsions using response surface methodology. *Food chemistry*, 229, 479-486.
- [31] Tarighati, H., Raftani Amiri, Z. and Esmailzadeh Kenari, R. (2021). Comparison of free and encapsulated extracts of *Mentha pulegium*'s leaves in *Allysum homocarpum*, chitosan and chitosan-*Allysum homocarpum* on oxidative stability of soybean oil during 18 days' incubation conditions. *Journal of Food Researc*, 32(3), 29-60.
- [32] Wang, T.; Chen, X.; Wang, W.; Wang, L.; Jiang, L.; Yu, D.; Xie, F. (2021). Effect of ultrasound on the properties of rice bran protein and its chlorogenic acid complex. *Ultrason. Sonochem.* 79, 105758. [CrossRef]
- [33] Herculano, E. D., de Paula, H. C., de Figueiredo, E. A., Dias, F. G., & Pereira, V. D. A. (2015). Physicochemical and antimicrobial properties of nanoencapsulated *Eucalyptus staigeriana* essential oil. *LWT - Food Sci. Technol.*, 61(2), 484-491
- [34] Carmona, P. A., Tonon, R. V., da Cunha, R. L., & Hubinger, M. D. (2013). Influence of emulsion properties on the microencapsulation of orange essential oil by spray drying. *J. Colloid Sci. Biotechnol*, 2(2), 130-139
- [35] Maleki, O., Khaledabad, M. A., Amiri, S., Asl, A. K., & Makouie, S. (2020). Microencapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 in whey protein isolate -crystalline Nano cellulose -inulin composite enhanced gastrointestinal survivability. *LWT*, 126, 109224.
- [36] Abbasi Ghaznaq, M., Rezazadeh Bari, M., Alizadeh Khaledabad, M. & Amiri, S. (2023). Encapsulation of *Lactobacillus acidophilus* PTCC 1643 with composite wall of xanthan gum, soy protein isolate and fructooligosaccharide: investigation microcapsule characteristics. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 19(133), 297-308.
- [37] Jamshidi M, Esmaeilzadeh Kenari R, Motamedzadegan A and Biparava P. (2020). Encapsulation of Unsaponifiable Matter of Rice Bran Oil Bychitosan and *Lepidium perfoliatum* Seed Gum: Characterization and Antioxidant Activity, *Journal of the American Oil Chemists' Society* 7(21):1-9.
- [38] Akbari, E., Ghorbani, M., Sadeghi Mahoonak, A., Alami, M.& Kashaninejad, M. (2016). Effect of sage seed gum and soybean protein isolates on the oil in water emulsion stability. *Innovative Food technologies*, 3(2), 23-32.
- [39] Dickinson, E., Murray, B. S., Stainsby, G., & Anderson, D. M. (1988). Surface activity and

- emulsifying behaviour of some Acacia gums. *Food Hydrocolloids*, 2(6), 477-490.
- [40] Ghafoori, Z., Fazlara, A., Pourm ahdi, M. and Bavarsad, N. (2022). Evaluation of physical and chemical stability of Omega -3 nanoemulsion and its antibacterial effect on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 128(19), 119-131.
- [41] Shahrampour, M. & Razavi, S.M.A. (2022). Evaluation of stability antimicrobial and antioxidant activity of macromulsion and nanoemulsion of rosemary essential oil. *Innovative Food technologies*, 9(3), 195-207.
- [42] Wang, L. C., Yu, Y. Q., Fang, M., Zhan, C. G., Pan, H. Y., Wu, Y. N., & Gong, Z. Y. (2014). Antioxidant and antigenotoxic activity of bioactive extracts from corn tassel. *Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences]*, 34, 131-136.
- [43] Díaz-García, A., Salvá-Ruiz, B., Bautista-Cruz, N., & Condezo-Hoyos, L. (2021). Optimization of a natural low-calorie antioxidant tea prepared from purple corn (*Zea mays L.*) cobs and stevia (*Stevia rebaudiana* Bert.). *LWT*, 150, 111952.
- [44] Khamphasan, P., Lomthaisong, K., Harakot, B., Ketthaisong, D., Scott, M. P., Lertrat, K., & Suriharn, B. (2018). Genotypic variation in anthocyanins, phenolic compounds, and antioxidant activity in cob and husk of purple field corn. *Agronomy*, 8(11), 271.
- [45] Aminian, R., Mardani, M. and Davoodnia, B. (2018). The effect of hydro alcoholic extract of *Plantago major* and *Astragalus hamosus* on some gram-positive and gram-negative bacteria. *Journal of plant research (Iranian Journal of Biology)*, 31(3), 556-567.



Optimization of Nano encapsulated corn tassel extract by response surface methodology and evaluation of the properties of Nanoencapsules containing extract stabilized by basil seed gum and combination of basil seed gum and sesame protein isolate

Zaker Aghakeshipour¹, Zeynab Raftani Amiri^{2*}, Reza Esmailzadeh Kenari²

1- Ph. D Student, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

2- Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Engineering, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

ARTICLE INFO**ABSTRACT****Article History:**

Received:2023/8/19

Accepted:2023/11/18

Keywords:

Tassel extract,
encapsulate,
particle size,
wall material,
optimization

In this study, basil seed gum (BSG) alone, and in combination with sesame protein isolate (SPI) were used in ratios 1:0 and 1:1 in order to encapsulate corn tassel extract (CTE) using the response surface method in the central composite design template was used. Also, the quadratic equation was used to optimize and investigate the effect of the concentration of corn tassel extract and homogenization time on the response of particle size and efficiency. At first, total phenolic content (TPC), antioxidant activity and antibacterial activity of corn tassel extract were investigated. In addition, the measured antioxidant activity (DPPH&FRAP) showed a very high potential of these compounds (FRAP=288.11, DPPH=85.05) for encapsulation. The content of total phenol and flavonoids obtained from the test results were 1968.23 and 1346.20, respectively. The analysis results showed that the nanoparticles obtained from coating basil seed gum had the lowest particle size (494.4nm). Also, the highest coating efficiency (76.2%) belongs to the sample coated with basil seed gum. The value of zeta potential increased (+44.57) in the use of composite coating, and reached its highest value. During the storage of encapsulated Nano emulsion in the period of 0,3,7,15 and 21 days, the stability of nanoemulsions decreased with the passage of time, in such a way that, the highest stability related to encapsulated Nano extract in the combined coating (94.85 per day zero and 33.8 for day 21). The result of this study showed that nanoencapsulated of corn tassel extract with basil seed gum is more effective than the combined coating. But by checking other parameters (such as stability), It is suggested to use this gum in combination with other wall materials, including sesame protein isolates, to achieve the desired results.

DOI: [10.22034/FSCT.21.149.81](https://doi.org/10.22034/FSCT.21.149.81).

*Corresponding Author E-Mail:
zramiri@gmail.com;
z.raftani@sanru.ac.ir