(مقاله پژوهشی)

بررسی‌امکان ریزپوشانی بتالائین حاصل از ریشه چغندر قرمز و ارزیابی خصوصیات کاربردی وعملکردی‌آن

غزل حنیفه زاده [۱]، مسعود هنرور[۲*]

۱-دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، گروه علوم وصنایع غذایی، واحد علوم وتحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲-دانشیار، گروه علوم وصنایع غذایی، واحد علوم وتحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت:۱۴۰۱/۰۲/۲۷ تاریخ پذیرش:۱۴۰۱/۰۴/۱۹

چکیده

امروزه استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و نگهدارنده های طبیعی به جای نگهدارنده‌های سنتزی با توجه به مضرات و بیماری‌های شناخته شده آن ها، جایگاه ویژه و اساسی در صنعت غذا دارند. یکی از این ترکیبات با اثرات آنتی اکسیدانی شناخته شده بتالائین های حاصل از چغندر قند می باشند که با استفاده از تکنولوژی کپسوله شدن در این تحقیق به عنوان یک ترکیب آنتی اکسیدان مورد استفاده و بررسی قرارگرفته است. در این تحقیق ریزکپسول های بتالائین با روش ژلاسیون یونی با استفاده از آلژینات سدیم و صمغ گوار با مقادیر ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم انجام شد. آزمون‌های بررسی خصوصیات ریزکپسول های بتالائین شامل؛ ارزیابی خصوصیات اندازه ریزکپسول ها، میزان به دام اندازی بتالائین، میزان رهایش تجمعی و همچنین خصوصیات ساختاری آن ها بررسی شدند. همچنین خصوصیات حداقل میزان کشندگی، مهارکنندگی و درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد برای ریزکپسول ها محاسبه و ارزیابی شد نتایج آزمون ها با استفاده روش آنالیز واریانس ANOVA یک طرفه و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن مورد بررسی قرار گرفت. به طورکلی نتایج آزمون نشان داد که با افزایش استفاده از بتالائین در فرمولاسیون ریزکپسول ها تا مقادیر ۱/۵ میلی‌گرم بتالائین درصد به دام اندازی و رهایش ابتدا افزایش یافت، سپس با افزایش استفاده تا میزان ۲/۵ میلی گرم کاهش معنی داری را تجربه نمود. ریزکپسول‌ها دارای شکل کروی، هموژن و یکنواخت بودند و همچنین در تیمارهای با مقادیر بالاتر از ۱/۵ میلی‌گرم بتالائین، حالت اگلومراسیون بین ذرات همزمان با افزایش اندازه ذرات نیز وجود داشت و با در نظر گرفتن خصوصیات حداکثر میزان به دام اندازی و رهایش و هموژن بودن مورفولوژیکی و همچنین حداقل میزان کشندگی و مهارکنندگی و بالاترین درصد مهارکنندگی رادیکال های آزاد، نهایتا ریزکپسول ها با میزان ۱/۵ میلی گرم بتالائین به عنوان تیمار بهینه انتخاب و معرفی گردید.

واژه‌های کلیدی: آنتی اکسیدان، بتالائین، ریزکپسول ، چغندر قرمز

[*]مسئول مکاتبات: m-honarvar@hotmail.com

۱-مقدمه

امروزه‌تولید محصولات غنی شده با آنتی‌اکسیدان‌ها و رنگهای طبیعی بسیار گسترش پیدا کرده است. این اجزاء که بیشتر در گیاهان یافت می‌شوند، با وارد شدن در فرمولاسیون مواد غذایی‌سبب افزایش مشتری پسندی می‌شوند. فرآیند استخراج و خالص‌سازی اجزای طبیعی با منشا گیاهی به منظور دستیابی به این ترکیبات زیست فعال بسیار مهم می‌باشد. به طوری‌که این ترکیبات نسبت به دماهای بسیار بالا و همچنین نور حساس می‌باشند. فرآیند استخراج و متعاقباً خالص‌سازی آن‌ها نیازمند این‌می‌باشد که از شرایط ملایم‌تری استفاده شود. روش معمول استخراج ترکیبات زیست فعال گیاهی با استفاده از غوطه‌وری در حلال و همزنی می‌باشد. طی این روش، ماده گیاهی با یک نسبتی با حلال (عمدتاً مخلوط آب و اتانول) مخلوط می‌شود و با تنظیم‌کردن شرایطی از قبیل دما و pH، در یک مدت زمان مشخص فرآیند استخراج به حداکثر مقدار خود می‌رسد (۱). طبق تعریف بسیار کلی، آنتی اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که قادرند از فرایند های اکسیداسیون جلوگیری نموده، آن‌ها را به تأخیرانداخته و یا طولانی نمایند. طبق تعریف USDA[1] آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که به منظور به تأخیر انداختن فساد، تندی یا تغییر رنگ ناشی از اکسیداسیون مورد استفاده قرار می‌گیرند، آنتی اکسیدان‌ها می توانند اکسیداسیون را مهار کرده یا به تأخیرمی‌اندازند، ولی کیفیت یک محصول اکسید شده را بهبود نمی‌بخشند و واکنش های فساد، برگشت ناپذیر می باشند. در برخی بررسی‌ها نشان داده شده است که مخلوط دویاچندآنتی‌اکسیدان بهتراز هر یک از آن‌ها در مقدار مساوی عمل‌می‌کنند. و آن را اثر تقویت‌کنندگی معرفی می‌نمایند. سینرژیست ها ترکیباتی هستند که فعالیت آنتی‌اکسیدان ها را بدون این‌که‌خودشان‌آنتی‌اکسیدان باشند، افزایش می دهند(۳). لبویا چغندرقرمزمنبع‌خوبی از بتالائین می‌باشند. ساقه چغندر به‌عنوان‌یک باقی‌مانده در بخش کشاورزی و همچنین صنعت بوده که پتانسیل بالایی به منظور استفاده به عنوان منبع بتالائین دارد. در واقع‌می‌توان‌این‌گونه‌مطرح‌کرد‌که تجاری‌ترین‌گیاهی که دارای بتالائین‌می‌باشد چغندر قرمز است. بتالائین‌ها از جمله ترکیبات‌رنگی(رنگ‌قرمزتابنفش)بوده‌که‌درگیاهان‌کلروفیل‌دار یافت‌می‌شوند(۴).بتالائین‌هارنگدانه‌های نیتروژن‌دار محلول در آب هستند که درغلظت‌های‌بالا در چغندرقرمز یافت می‌شوند. رنگدانه بتالائین از دو زیر واحد بتاسیانین (رنگدانه قرمز) و بتاگزانتین (رنگدانه زرد) تشکیل شده است. این رنگدانه اثرات ضد میکروبی و ضد ویروسی دارد و هم چنین می‌تواند رشد سلول‌های‌سرطانی‌رامهارکند.بتالائین می‌تواند به عنوان افزودنی به منظور ایجاد رنگ وغنی‌سازی مواد غذایی استفاده شود(۵). استفاده از بتالائین به عنوان رنگ درمواد غذایی توسط اتحادیه اروپا با عنوان E - ۱۶۲ تصویب شده است. بتالائین نسبت به سایر رنگدانه های قرمز مانند آنتوسیانین ها در برابر pH و دما پایدارتر است و در گستره وسیعی‌از pH پایدار است و بیش‌تر برای‌موادغذایی‌اسیدیته‌پایین‌استفاده‌می‌شود در حالی‌که استفاده از آنتوسیانین برای این مواد غذایی غیر ممکن است. مخلوط رنگدانه بتالائین می تواند به عنوان یک افزودنی طبیعی برای موادغذایی، داروها ومحصولات آرایشی و بهداشتی به صورت عصاره غلیظ یا پودر استفاده شود (۹). عصاره بتالائین که از چغندر به دست می‌آید به عنوان مواد رنگی طبیعی می‌تواند در محصولات‌لبنی،نوشیدنی‌هاوشیرینی‌جات به صورت‌گسترده‌ای استفاده شوند. حضور بتالائین‌ها در محصولات غذایی علاوه بر این‌که باعث ایجاد رنگ شده، خصوصیات دیگری از جمله خواص‌آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهاب، محافظت از کبد و همچنین اثرات ضدمیکروبی ارائه می‌کنند(۶). سنگین‌ترین بتالائینی که تاکنون مورد مطالعه قرار گرفته، بتانین موجود در چغندر قرمز می‌باشد. این ترکیب‌گلیکوزیدی بوده که دارای یک بخش قندی(گلوکز)و یک بخش غیرقندی(بتانیدین) به عنوان قسمت رنگی می‌باشد. قدرت رنگ‌دهندگی بتالائین‌ها بستگی زیادی به‌سیستم‌حلال‌داشته‌که‌درآن‌یافت‌می‌شوند. به علاوه، بتالائین‌ها، برای موادغذایی با اسیدیته پایین و خنثی مناسب می‌باشند که

1-United States Department of Agriculture

این به دلیل پایداری آن‌ها در pH معادل ۳ تا ۷ می باشد(۱۱). از جمله مهم‌ترین‌منابع معمول بتالائین‌ها می‌توان به چغندر قرمز و زرد، برگ چغندر سوئیسی، برگ و دانه‌گیاه آمارانت و همچنین برخی از گونه‌های کاکتوس اشاره داشت(۱۲و۹). همانندآنتوسیانین‌ها، فعالیت بتالائین‌ها نیز به شرایط محیطی بستگی داشته که در آن حضور دارند. همچنین از سوی دیگر خصوصیات ذاتی و شیمیایی آن‌ها نیز در شرایط محیطی باید درنظرگرفته شود. برای مثال، بررسی‌ها نشان داده است که فعالیت بازدارندگی رادیکال آزاد توسط بتالائین‌ها تحت تاثیر pH وساختار مولکولی‌می‌باشد. بر اساس تحقیقات انجام گرفته افزایش فعالیت این رنگدانه در pH بالاتر از ۵/۵ مشاهده شده است(۱۳). بتالائین‌ها بعد از استخراج نسبت به تجزیه‌شدن حساس می‌باشند. پایداری بتالائین‌ها به فاکتورهای درونی از جمله فعالیت آنزیمی و همچنین فاکتورهای دیگر از جمله شرایط استخراج، مانند دما و حضور اکسیژن و pH مربوط می‌شود. برای این منظور ضروری است که فاکتورهایی‌که باعث تجزیه آن‌ها می‌شوند، به کم‌ترین مقدار خود برسند. به عنوان مثال بر اساس تحقیقات صورت گرفته استفاده از غشاها به عنوان ابزارهای جداسازی ترکیبات، می‌تواند از تجزیه این مواد حساس جلوگیری نماید. لازم به ذکر است در این روش با کاهش مقدار شار عبوری در طول فرآیند، رسوب در غشا اتفاق‌می‌افتد وباعث‌تجزیه بتالائین‌ها در جریان عبوری می‌شود. فرآیندهای‌جداسازی و خالص‌سازی در شفاف‌سازی عصاره‌ها موثرمی‌باشند(۱۴). در بررسی‌های‌مشابه‌ای‌دراین زمینه، امجدی و همکاران (۱۳۹۷) فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پایداری بتانین ریزپوشانی‌شده به‌روش‌خشک‌کن پاششی را در پاستیل بررسی نمودند. آن ها ریزپوشانی را روش مناسبی برای به دام اندازی بتالانین‌ارزیابی‌نمودند. Prakash Mara و همکاران (۲۰۱۳) استخراج بتالائین را از میوه‌کاکتوس‌قرمز [1]با استفاده از طرح باکس‌بنکن به روش بهینه‌سازی سطح پاسخ، مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصله نشان داد که دما، جرم و زمان دارای اثر معنی‌داری‌روی بتالائین و رنگ عصاره بود. نقطه بهینه به دست آمده برای استخراج بتالائین، دمای۴۲ درجه سلسیوس، زمان ۱۱۵دقیقه و۱/۲گرم‌وزن‌و۶/۹=pH تعیین‌گردید. در این تحقیق نیزریزکپسول‌های‌بتالائین‌تهیه‌وارزیابی‌خصوصیات گردید(۱۵). Li و همکاران در سال ۲۰۲۲ نیز در یک بررسی به ریزکپسوله کردن بتالائین حاصل ازاستخراج‌ازمیوه‌کاکتوس‌قرمز پرداختند ودریافتندکه‌تیمارفراصوت‌می‌تواندبرای بهبود ریزکپسولاسیون و افزایش پایداری بتالائین ها در صنعت غذا مورد استفاده قرار گیرد (۳۳). با توجه به این که تحقیقات کمی در مورد به دام اندازی رنگدانه های چغندر قرمز و بهینه‌سازی آن ها صورت گرفته‌است. این تحقیق می‌تواند علاوه بر کاهش خلاءهای تحقیقاتی موجود به استفاده از روش‌های ایمن جهت تولید ریزکپسول‌ها با حداکثر کارایی افزوده و همچنین به ارائه فرمولاسیون بهینه با استفاده از روش ژلاسیون یونی جهت ریزپوشانی‌بتالائین‌ها نیزجهت‌استفاده درکلیه زمینه های صنعت غذا به عنوان یک ریزکپسول با خصوصیات آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی بالا کمک نماید.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه مواد مورد استفاده در تحقیق

چغندرقرمزگونه *بتاوولگاریس*[2] واریته *بتاولگاریس* از تهیه از بازار محلی تهران توسط وسیله نقلیه و در جعبه های خشک و عاری از رطوبت به ازمایشگاه منتقل شد و شستشو وپوست‌گیری به صورت خلال درآمده، در محل تاریک و در دمای اتاق به مدت یک هفته تا رسیدن به وزن ثابت خشک گردید. سپس با آسیاب به صورت پودر در آمد سایر مواد مورد استفاده شامل آلژینات سدیم، صمغ گوار بودند.

۲-۲- تهیه و استخراج بتالائین چغندر قند

برای استخراج بتالائین پس از تهیه و آماده سازی اولیه چغندر، پودرچغندر قرمز تهیه شده به نسبت۱به۱۰ با آب مقطر به مدت ۳۰ دقیقه با همزن مغناطیسی مخلوط گردید و سپس به مدت

1 -*Opuntia ficus-indica*

2- *Beta vulgaris*

۲۰ دقیقه بدون اعمال حرارت در حمام فراصوت با فرکانس ۲۸کیلوهرتز قرارگرفت. عصاره بتالائین به دست آمده با کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ و پمپ خلأ صاف گردیده و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با ۷۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شد(۲۰).

۲-۳-تهیه ریزکپسول ها

۲-۳-۱-آماده سازی محلول بتالائین

در این تحقیق بتالائین استخراج شده در روش فراصوت، برای فرمولاسیون‌ریزکپسول‌هامورداستفاده قرار گرفت. ۵۰ میلی لیتر آب دوبار تقطیراستریل‌را با ۸۰ میکرولیتراسیدکلریدریک ۰/۰۲ نرمال حل کرده و در ظرف درب داری که از قبل استریل شده بود مخلوط‌کرده (اسید به آب اضافه شد. سپس ۵۰۰ میلی گرم بتالائین‌استخراج‌شده را در ۵۰ میلی لیتر آب دوبار تقطیر آماده شده به‌خوبی‌حل‌کرده که تمامی موارد در زیر هود بیولوژیکی انجام شد به طوری که در ظرف استریل دیگری این محلول از فیلتر۰/۲میکرومتری‌عبورداده‌شدو با استفاده از رابطه N2V2= N1V1 مقدار مورد نظر ازآن را برداشته و به ظروف درب دار افزوده‌وپس‌ازپخش‌شدن‌آن در آب در فرمولاسیون ریزکپسول بتالائین مورد استفاده قرار گرفت(۲۰).

۲-۳-۲-تهیه ریزکپسول‌های بتالائین

ریزکپسول‌های‌بتالائین با استفاده از روش ژلاسیون یونی[1] تولید شد. برای این منظور محلول آلژینات سدیم و صمغ گوار به همراه‌بتالائین‌بامخلوط‌کردن‌پودرخشک آلژینات با ویسکوزیته بالاتر از ۲۰۰۰ سانتی پوآز در محلول ۲ درصد صمغ گوار و حل‌کردن پلیمرها در آب مقطر به طور شبانه با استفاده از همزن مغناطیسی با حرارت ملایم ۳۰ درجه سلسیوس تهیه شد. محلول بتالائین (۰/۱ در۰/۰۲ نرمال هیدروکلریک اسید) مطابق با جدول‌کد بندی تیمارهای‌تحقیق (جدول۱) در محلول پلیمری۱۰ درصد اضافه شد. محلول یون‌های کلسیم جهت افزایش اتصالات شبکه تخم مرغ آلژینات و صمغ گوار، در ۱۰۰۰ دور با محلول پلیمری مخلوط شده و به صورت قطره قطره با فیلتر سرسرنگی با اندازه ۲۲ میکرومتر اضافه شد. پس از آن به مدت یک ساعت هم خورده و بعد از سانتریفیوژ ۵۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه برای جداسازی ریزکپسول ها از ترکیبات غیرکپسوله و به فرم آزاد در محلول استفاده شد(۲۰).

جدول ۱- کدبندی تیمارهای تحقیق

کدتیمار	غلظت بتالائین(mg)
B1	۰/۲۵
B2	۰/۵
B3	۱
B4	۱/۵
B5	۲
B6	۲/۵

1- Ionotropic Gelification

۲-٤-ارزیابی خصوصیات ریزکپسول های تولید شده

۲-٤-۱-ارزیابی میزان به دام اندازی بتالائین

میزان بتالائین اولیه پس از استخراج با روش فراصوت توسط HPLC معکوس با ستون C-18 در طول موج ۲۲۰ نانومتر و حلال آب و دمای ۸۰ درجه سلسیوس تعیین مقدار شده و میزان بتالائین به‌دام‌افتاده توسط ریزکپسول‌ها با پخش کردن ۵۰ میلی گرم از ریزکپسول‌ها در ۱ میلی لیتر از متانول و سپس استخراج بتالائین توسط یک میلی‌لیتر از محلول ۰/۰۲ مولاراسید هیدروکلریک با مخلوط کردن به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور با همان روش HPLC انجام شد و نهایتا بر اساس منحنی استانداردا سیدگالیک کالیبراسیون و تعیین مقدار کمی شد(۲۰). درصد به‌دام‌اندازی‌بتالائین نیز بر اساس رابطه۱ محاسبه گردید.

رابطه (۱)

درصد به دام اندازی بتالائین= درصد بتالائین مورد شناسایی شده در ریزکپسول ها بر حسب میلی‌گرم / میزان بتالائین مورد استفاده در فرمولاسیون ریزکپسول ها

۲-٤-۲- ارزیابی میزان‌آزاد سازی تجمعی بتالائین

میزان‌بتالائین آزادشده‌ازریزکپسول‌هاباروش‌لوری[1] اندازه‌گیری شد. ریزکپسول‌ها در بافر فسفات (۰/۲ مولار ، pH= ۷/۴) و در ۱۰۰۰ دور برای مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. میزان بتالائین در مایع‌رویی تخمین زده شد. برای این منظور از کیسه دیالیز ساخت شرکت سیگما-آلدریچ کشورآلمان، با اندازه ۱۰۰۰ کیلودالتن استفاده شده و ریزکپسول‌ها در داخل این ساختار در محیط‌بافرسالین‌فسفات در یک بشر ۵۰۰ میلی‌لیتری هم خورده و در بازه‌های زمانی صفر، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه از محیط بافر سالین فسفات در خارج کیسه دیالیز برداشته شده و تعیین‌مقدارکمی‌گردید، پس از هربار برداشتن از محیط بافر سالین فسفات‌خارج‌کیسه‌دیالیز حجم برداشته شده با بافر سالین فسفات‌جایگزین‌گردید ونهایتا میزان بتالائین تجمعی آزاد شده از ریزکپسول‌ها در بازه های زمانی مختلف از رابطه ۲ به دست آمد و برای هر فرمولاسیون میزان درصد رهایش به صورت درصدتجمعی‌رهایش‌درکلیه‌زمان‌های‌ارزیابی‌محاسبه‌گردید(۵).

رابطه(۲)

۱۰۰× میزان بتالائین در محلول ریزکپسول ها / میزان بتالائین در ریزکپسول= میزان آزاد سازی بتالائین

1- Lowery Method

۲-٤-۳-ارزیابی خصوصیات مورفولوژیکی واندازه ریزکپسول ها
برای ارزیابی مورفولوژیکی ریزکپسول‌ها از میکروسکوپ الکترونی SEM پس‌از پوشش‌دهی ریزکپسول‌ها با طلا استفاده شد و ارزیابی اندازه ریزکپسول‌ها با دستگاه DLS (DMLB, Germany) Leica بررسی شد(۶).

۲-٤-٤- بررسی خاصیت ضدمیکروبی

۲-٤-٤-۱- تعیین حداقل مهارکشندگی (MIC[1])

آزمایش MIC در پلیت ۹۶ خانه استریل و با روش براث میکرودایلوشن (روش MIC) انجام شد. ابتدا از محیط کشت مولرهینتون‌براث(مرک‌آلمان) ۱۰۰ میکرولیتر داخل ۹۶ چاهک میکروپلیت ریخته شده و سپس به اولین چاهک هرردیف ۱۰۰ میکرولیتر عصاره اضافه شد و از خانه دوم به سوم و به همین ترتیب تا خانه نهم رقیق شد. درآخر به همه چاهک ها ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی *میکروکوکوس لوتئوس* (باکتری شاخص) رقیق شده معادله لوله نیم مک فارلند اضافه گردید. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به وسیله پایه پلیت tray –reading stand که به همین منظور ساخته‌شده، کف پلیت زیر نور آینه در آینه مشاهده شد. وجود کدورت که نشان‌دهنده رشد یا عدم رشد باکتری بود را در جدول مخصوص یادداشت نموده و طبق تعریف غلظت (رقیق ترین) چاهکی که هیچ کدورتی در آن ایجاد نشده بود، معادل MIC قرارداده شد. خانه کنترل اسانس، محیط کشت و میکروب نیز جداگانه منظور شد (۷).

۲-٤-٤-۲- تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)

برای آزمایش MBC همه چاهک های فاقد کدورت جداگانه بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت کمترین غلظتی از اسانس که باکتری در آن رشد نکرده بود به عنوان غلظت کشندگی MBC گزارش شد (۸).

۲-٤-٤-۳- ارزیابی میزان مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد

یکی‌از روش‌های اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی از طریق ارزیابی‌میزان مهار رادیکال‌آزادDPPH ۲ است. در این مرحله ۴ میلی‌لیتراز محلول DPPH mM ۰/۱به۰/۲میلی‌لیتراز بتالائین اضافه شد وسپس‌جذب‌آن‌ها در۵۱۷ نانومتر تعیین شد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر حسب درصد مهار DPPH از طریق رابطه ۳ زیر به دست آمد (۹).

رابطه (۳)

$$A(\%)= AC-As/Ac \times 100$$

که‌در این رابطه Aدرصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH ،Acجذب‌نوری‌شاهدوAs جذب‌نوری نمونه بر حسب نانومتر می باشند.

۲-۵- روش‌آماری

داده‌های مربوط به نتایج با استفاده از نرم‌افزار Minitab 16 مورد تجزیه و تحلیل توصیفی قرارگرفت. از تجزیه واریانس یک طرفه جهت مقایسه میانگین ها استفاده شد. میانگین‌ها در سطح اعتماد ۹۵ درصد از نظرآماری متفاوت قلمداد شد. طرح مورد استفاده در این بررسی طرح کاملا" تصادفی متعادل بود. نتایج آزمایشات شیمیایی و فیزیکی از طریق ANOVA One-way و $P<۰/۰۵$ به معنی وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها در نظر گرفته شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱-نتایج ارزیابی میزان درصد به دام‌اندازی و رهایش تجمعی بتالائین در ریزکپسول‌ها

جدول۲ میزان درصد به دام‌اندازی و رهایش بتالائین‌ها در ریزکپسول‌های مختلف را نشان می‌دهد. به طورکلی در بین تیمارهای‌ریزکپسول ها بالاترین درصد به دام اندازی و رهایش به ریزکپسول‌های دارای ۱/۵ میلی گرم بتالائین (B4) به ترتیب به میزان ۵۹ و ۵۲ درصد تعلق داشت. همان گونه که در نتایج مشاهده می شود با افزایش میزان درصد بتالائین از سطح ۰/۲۵

1- Minimum Inhibitory Concentration

2- 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

تا ۱/۵ میلی‌گرم میزان درصد به دام اندازی به طور معنی داری افزایش معنی‌داری را تجربه نمود($p\leq ۰/۰۵$) و پس از آن با افزایش میزان درصد به دام‌اندازی از ۱/۵ میلی‌گرم تا ۲/۵ میلی‌گرم میزان درصد به دام‌اندازی‌کاهش معنی‌داری نشان داد($p\leq ۰/۰۵$).

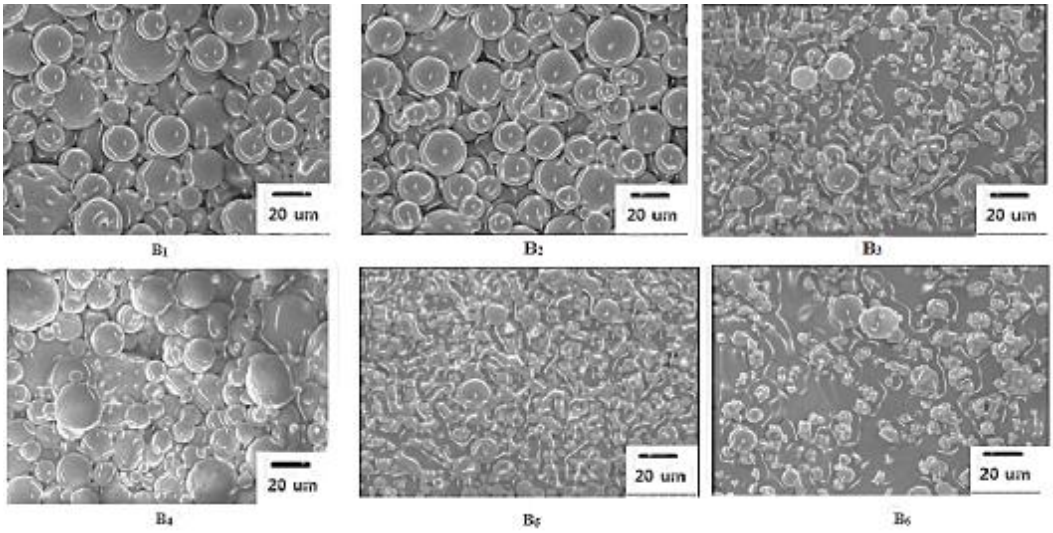
جدول ۲- مقایسه میانگین درصد به دام اندازی و رهایش بتالائین در تیمارهای ریزکپسول‌های بتالائین

کدبندی تیمارها	میزان درصد به دام اندازی بتالائین	درصد رهایش بتالائین
B1	۴۵ ± ۰/۰۱a	۳۸ ± ۰/۰۲a
B2	۴۹ ± ۰/۰۳ab	۴۵ ± ۰/۰۱b
B3	۵۴ ± ۰/۰۲b	۵۱ ± ۰/۰۱c
B4	۵۹ ± ۰/۰۵bc	۵۲ ± ۰/۰۳c
B5	۵۶ ± ۰/۰۲c	۵۰ ± ۰/۰۱cd
B6	۵۲ ± ۰/۰۳d	۴۵ ± ۰/۰۱d

همچنین روند مشابهی در مورد میزان بتالائین در تیمارهای ریزکپسول وجود داشت و در تیمارهای ریزکپسول دارای مقادیر بالای بتالائین میزان درصد رهایش تجمعی بالاتر از تیمارهای ریزکپسول دارای مقادیر پائین تر بتالائین بوده و با افزایش میزان درصد به دام اندازی میزان درصد رهایش تجمعی افزایش و در تیمارهای ریزکپسول با مقادیر بالاتر از ۱/۵ درصد بتالائین میزان درصدرهایش‌تجمعی به طور معنی داری کاهش یافت($p\leq ۰/۰۵$).

۳-۲-نتایج‌ارزیابی‌خصوصیات‌مورفولوژیکی‌وسایزریزکپسول‌های بتالائین

شکل۱ نتایج‌ارزیابی‌مورفولوژیکی‌ریزکپسول‌های بتالائین را نشان می‌دهد. باتوجه به‌شکل۱ مشاهده شدکه ریزکپسول‌های بتالائین به صورت فرم‌کروی بوده و از سطح نرم برخوردارمی باشند. با افزایش‌میزان درصد بتالائین در فرمولاسیون تیمارهای ریزکپسول در مقادیر B_4 تا B_6 به تدریج ریزکپسول‌های بتالائین به صورت ظاهرغیرکروی و آگلومره و غیریکنواخت در آمده و پلیمرهای آزاد در محیط نیز مشاهده شد. به دام اندازی ترکیبات با ارزش و بیوفعال‌در یک حامل مناسب روشی برای پایداری و ذخیره سازی نانوذرات می‌باشد. ترکیب به دام‌افتاده در داخل‌کپسول می‌تواند با روش‌هایی مانند حل‌شدن، محبوس شدن، جذب شدن یا اتصال در درون ماتریس انتقال داده شود. هدف اولیه تعیین شرایطی بود که در آن ریزکپسول‌ها با ویژگی های بهینه تولید شوند که اندازه مناسب را داشته باشند و بدون به هم چسبیدگی و آگلومراسیون و با توزیع مناسب ذرات باشند. این‌مسئله بر روی‌کارایی انکپسوله شدن، پایداری‌کلوئیدی‌و میانکنش نانوامولسیون ها با انکپسولانت ومحیط اطراف تأثیرگذار است. اندازه ریزکپسول ها روی توانایی سیستم انتقال ترکیبات‌برای‌انتقال و رهایش مؤثر ترکیبات کپسوله شده حائز اهمیت است. بنابراین پایداری ریزکپسول ها می تواند با توزیع‌مناسب اندازه ذرات افزایش یابد. ریزکپسول های بتالائین دارای ساختار مورفولوژی هموژن بوده و دارای شکل‌کروی و بدون‌آگلومراسیون‌می‌باشد. شکل کروی ریزکپسول‌های بتالائین نیز به دلیل تعادل الکتروستاتیکی ریزکپسول و بتالائین می‌باشد که قابلیت تشکیل شبکه تخم‌مرغی آلژینات سدیم و گوار به کار رفته در ساختار پوشش را نیز دارد. و با عملکرد به عنوان هسته می‌تواندبرای به‌دام‌اندازی بتالائین‌مورد استفاده قرارگرفته و باعث به دام اندازی بتالائین شود.



شکل ۱- نتایج ارزیابی ویژگی‌های مورفولوژیکی ریزکپسول‌های بتالائین

جدول ۳- میانگین اندازه ذرات ریزکپسول‌های حاوی بتالائین

کدبندی تیمارها	اندازه ریزکپسول ها (میکرومتر)
B_1	a۳۱٤ ± ۰/۰۱
B_2	b۳٦٥ ± ۰/۰۳
B_3	c ۳۷۹ ± ۰/۰۲
B_4	d ۳۹۰ ± ۰/۰۱
B_5	e۳۲۰ ± ۰/۰۱
B_6	e۳۱۱ ± ۰/۰۳

همان‌گونه‌که‌در نتایج‌جدول۳ نیزقابل‌مشاهده می‌باشد با افزایش میزان استفاده از بتالائین در فرمولاسیون ریزکپسول ها میزان اندازه ریزکپسول ها به طور معنی داری افزایش یافت که با جرم مولکولی ریزکپسول ها ارتباط دارد به عبارتی افزایش جرم مولی ترکیبات باعث افزایش اندازه ریزکپسول ها حاصله گردید. وزن مولی مربوط به مولکول بتالائین ۵۵۱/۴۸ مول بر گرم بوده که با افزایش میزان استفاده از آن در فرمولاسیون نانوذرات‌جرم‌مولی‌کل‌ریزکپسول‌ها به طور معنی‌داری افزایش می یابد که‌منجر به تولید اندازه ذرات بزرگتری می شود. برای تشکیل ریزکپسول هموژن و یکنواخت نیاز می باشد که نسبت استوکیومتری بین‌ترکیبات حامل و انکپسولانت باید برقرار باشد ازاین روبا افزایش‌میزان بتالائین در فرمولاسیون تیمارهای ریزکپسول میزان شاخص به دام اندازی افزایش می یابد و به تبع هر چه میزان درصد به دام اندازی بتالائین در فرمولاسیون ریزکپسول ها افزایش می یابد، میزان شاخص رهایش تجمعی نیز به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. در مقادیر۲ و ۲/۵ درصد با برهم خوردن تعادل استوکیومتری حامل، ذرات تشکیل شده یکدست و هموژن نبوده و نهایتا میزان به دام اندازی و رهایش کاهش‌یافته و ضمن این‌که مقداری از ترکیبات آلژینات سدیم و صمغ گوار به صورت آگلومره نیز در تصاویر میکروسکوپ

الکترونی نیز مشاهده گردید که با نتایج اندازه گیری‌های به دام اندازی و رهایش در توافق می باشد.Janiszewska در سال ۲۰۱۴ نیز ریزکپسول‌هایی بر پایه آب چغندر تهیه نمودند و به نتایج مشابهی با تحقیقات حاضر رسیدند. آن‌ها دریافتند که افزایش میزان بتالائین بر میزان اندازه ذرات و خصوصیات مورفولوژیکی‌ریزکپسول‌هاموثر می‌باشد که با یافته های تحقیق حاضر نیز در توافق بود(۲۴).Ersus & Yurdagel در سال ۲۰۰۷ طی تحقیق به ریزکپسوله کردن آنتوسیانین‌های هویج سیاه توسط دستگاه خشک کن پاششی پرداختند و دریافتند که افزایش میزان آنتوسیانین‌ها بر میزان اندازه ذرات خصوصیات مورفولوژیکی ریزکپسوهاموثرمی‌باشدکه با یافته‌های تحقیق حاضرنیز در توافق بود(۲۸).کنتیک رهایش بتالائین‌ها از ریزکپسول‌ها در دو مرحله فرایند دوفازی توصیف می‌شود؛ مرحله اولیه شامل ترکیدن اولیه است که رهایش کند را در ریزکپسول‌ها موجب می‌گردد. در غلظت‌های بتالائین(بالای۲ میلی‌گرم) حدود یک ساعت زمان لازم است تا این رهایش اولیه صورت پذیرد ودر ریزکپسول‌های با مقادیر پایین تر وحضور بتالائین آزاد در محیط فرایند به صورت یک مرحله‌ای درآمده است با افزایش میزان به دام‌اندازی بتالائین‌ها میزان به دام اندازی و نهایتا میزان رهایش افزایش می‌یابد. یکی از عوامل موثر بر میزان رهایش بتالائین، اندازه ریزکپسول‌ها می‌باشدکه با افزایش اندازه ریزکپسول‌ها سطح تماس‌ریزکپسول‌ها به طور موثری کاهش می‌یابد که می‌تواند باعث کاهش میزان آزادسازی ترکیبات به دام افتاده در درون ریزکپسول‌شود.بنابراین‌باتوجه به نتایج‌اندازه‌ذرات ریزکپسول‌ها میزان شاخص به‌دام‌اندازی به‌طورموثری‌تحت تاثیرقرار می‌گیرد به طوری‌که در دو تیمار T_5 و T_6 میزان سایز ریزکپسول ها به طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای دیگر می باشد. از طرفی میزان‌بتالائین‌به‌دام‌افتاده درداخل ترکیبات نانوذرات تعیین‌کننده میزان‌درصدرهایش‌ریزکپسول‌ها می‌باشد. هر چه میزان کارایی کپسولاسیون بالاتر باشد میزان بتالائین های بیشتری در درون ریزکپسول‌ها برای رهایش وجود دارد. در این راستا نیز برآیند این دو ترکیب و همچنین تداخل آن با بار سطحی ریزکپسول بر روی کنتیک رهایش ریزکپسول‌ها تاثیر می‌گذارد. نتایج تحقیقات لوو[1] و همکاران(۲۰۱۱) نیز با یافته های تحقیق مطابقت داشت؛ بررسی‌های‌آن‌ها نشان دادند که رهایش آلفاتوکوفرول ازنانوذرات‌زئین‌باسایزکوچکترسریعتر صورت می‌گیرد. مرحله دوم فرایند دوفازی رهایش به مرحله ثابت معروف است که طی‌آن رهایش به‌صورت‌تجمعی ادامه می یابد تا فرایند رهایش به طورکامل تکمیل شود.

۳-۳-نتایج‌ارزیابی‌میزان‌حداقل‌کشندگی‌و مهارکنندگی

بررسی‌نتایج میزان‌حداقل‌کشندگی و مهارکنندگی‌رادیکال‌های آزاد (جدول۴) نشان دادکه میزان غلظت ریزکپسول ها برای میزان‌حداقل‌کشندگی‌ومهارکنندگی‌به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد و میزان غلظت ریزکپسول ها تا ۱/۵ درصد بتالائین به صورت‌کاهشی و از ۱/۵ درصد به بالاتر به طور معنی‌داری روندافزایشی‌داشت‌که‌به کاهش غلظت بتالائین در فرمولاسیون تیمارهای‌ریزکپسول‌هامرتبط‌می‌باشد.ازعوامل‌مهم‌درخصوصیات ضدمیکروبی‌تیمارهای‌ریزکپسول‌ها، خصوصیات به دام اندازی وهمچنین‌رهایش‌ریزکپسول‌ها می‌باشد. با توجه به این‌که میزان به‌دام‌اندازی نقش تعیین‌کننده در کنترل خواص ضد میکروبی تیمارهای بتالائین دارد، بنابراین همان‌گونه که در بخش به دام‌اندازی و رهایش نیز تحلیل‌شد، تیمارهای ریزکپسول تا ۱/۵ درصد دارای بالاترین درصد به دام‌اندازی و همچنین رهایش تجمعی بوده و همان‌گونه‌که انتظار می‌رفت در کلیه سویه های موردبررسی‌تیمردارای‌بالاترین‌میزان‌خصوصیات ضد میکروبی وتیمارهای بالاتر از ۱/۵ درصد با افزایش میزان غلظت بتالائین وکاهش‌درصدبه‌دام‌اندازی‌نیزدارای‌کمترین‌میزان‌خصوصیات ضدمیکروبی‌بین‌تیمارهای‌ریزکپسول‌بود.دراین راستا نیز ضیایی هزارجریبی‌وهمکاران(۱۳۹۶)دربررسی‌اثرات‌ضدتریکومونایی

1- Luo

اسانس‌و نانوامولسیون گیاه رزماری بر *تریکوموناس واژینالیس* در شرایط آزمایشگاهی دریافتند که افزایش میزان درصد به دام‌اندازی و رهایش اسانس گیاه رزماری نقش تعیین کننده در خصوصیات ضد میکروبی‌آن دارد(۳۱) که با یافته های تحقیق حاضر در توافق بود. در مورد نحوه عمل آنتی اکسیدان ها در مرگ باکتری‌های بیماری‌زا چنین اظهار نظر شده است که یکی از ویژگی‌های مهم این مواد و ترکیب‌های آن خاصیت آبگریزی است که سبب می شود در بخش‌های لیپیدی دیواره سلولی و میتوکندریایی باکتری توزیع‌شده و موجب تغییر و تخریب ساختمان و نفوذپذیری بیشتر آن‌ها گردد. به دنبال آن بخش زیادی از یون‌ها و دیگر محتویات حیاتی سلول به بیرون تراوش‌می‌نماید که‌درنهایت‌به‌مرگ باکتری منجر می شود(۲۳). همچنین این ترکیب آنتی‌اکسیدانی قادر به ایجاد اختلال در عملکرد آنزیم‌های متصل به غشاء سلولی بوده که نهایتا منجر به ایجاد نقص در سنتز بسیاری از ترکیب های پلی ساکاریدی دیواره سلولی و ممانعت از رشد سلول و مورفوژنز آن خواهد شد(۲۱). در این راستا تحقیقات مشابهی نیز وجود دارد. تحقیقات شهنیا و خاکسار (۱۳۹۱) نیز در بررسی اثرات ضدمیکروبی و روش‌های تعیین حداقل غلظت بازدارندگی اسانس‌های گیاهی بر باکتری‌های پاتوژن نشان داد که مقادیر مورد استفاده در ترکیبات موادغذایی در مقایسه با مقادیر تعیین شده در MBC و MIC نیز نشان داد که جهت مورد استفاده برای اسانس‌ها در ترکیبات مواد غذایی مقادیر مورد استفاده باید بالاتر از حدود MIC و MBC باشد که با نتایج تحقیق حاضرنیزمطابقت‌داشت. به‌طورکلی‌هرچه مقادیر مواد فنولیک دراسانس‌بالاترباشد،خواص‌آنتی‌باکتریال‌آن‌ها علیه پاتوژنهای غذایی‌بیشترخواهدبود. این ترکیبات شامل سیترال، سیترونلال و ژرانیل استات می باشند. احتمالاً مکانیسم اثر این ترکیبات هم مانند سایر ترکیبات فنولی شامل موارد زیر می باشد : اختلال در غشاء سیتوپلاسمی، بر هم زدن نیروی حرکت پروتونی و جریان الکتریکی، انعقاد محتویات سلولی، ساختار شیمیایی‌یک‌اسانس‌هم‌برمکانیسم آن اثر می‌گذارد. اهمیت حضور گروه‌هیدروکسیل‌درترکیب‌فنولی‌مانندسیترال،سیترونلال و ژرانیل‌استات تأیید شده است(۲۰). موقعیت نسبی گروه هیدروکسیل در حلقه فنولیک چندان تأثیری در میزان اثر آنتی‌باکتریال‌آن‌ندارد. اغلب مطالعات انجام شده در خصوص اثر اسانس‌های روغنی بر روی ارگانیسم‌های عامل فساد و پاتوژن‌های‌غذازادنشان می‌دهند که اثر اسانس های گیاهی بر روی باکتری‌های گرم مثبت قدری بیشتر از تاثیرآن‌ها بر روی باکتری‌های گرم منفی است. به عبارت دیگر گرم مثبت ها نسبت به اثر آنتی باکتریال اسانس‌ها حساس‌ترند. علت حساسیت کمتر گرم منفی‌ها شاید به علت وجود غشاء خارجی در باکتری‌های گرم منفی باشد که سبب محدود شدن انتشار اجزاء هیدروفوبیک اسانس به‌لایه‌لیپوپلی‌ساکارید می‌شود(۱۵). با این حال همه مطالعات انجام شده بر روی فعالیت آنتی باکتریال اسانس‌های روغنی نشانگر حساسیت بیشتر در گرم مثبت ها نمی‌باشد. برای مثال *آئروموناس‌هیدروفیلا* که‌یک باکتری گرم منفی است یکی از حساس‌ترین گونه‌های باکتریایی نسبت به اثرات اسانس ها می باشد. در بین گرم منفی ها، سودوموناس‌ها به ویژه *سودوموناس آئرو* جنس کمترین حساسیت را نسبت به اثر اسانس‌ها دارا می باشند(۲۱). اغلب مطالعات انجام شده در خصوص‌اثراسانس‌های‌گیاهان‌برباکتری‌های‌عامل‌فساد و عوامل بیماری‌زای منتقله از راه غذا نشان می‌دهدکه اثر اسانس‌های گیاهی بر باکتری‌های‌گرم مثبت قدری بیشتر از تاثیرآن‌ها بر باکتری‌های گرم منفی است. در این تحقیق اثرکشندگی بر روی *استافیلوکوس اورئوس* و سالمونلا به طور معنی‌داری بالاتر از اثرات‌کشندگی بر روی *باسیلوس سرئوس* و اشرشیاکلی :O157 H7 مشاهده شد. بلادی و همکاران در سال ۱۳۹۹ در مطالعه نقش‌ضدمیکروبی‌نانوکپسول‌های‌حاوی‌عصاره زغال اخته‌سنتزشده به‌روش‌امولسیون بر باکتری‌های مقاوم به‌آنتی بیوتیک دریافتندکه با افزایش میزان به دام‌اندازی عصاره زغال اخته، میزان حداقل غلظت‌کشندگی و مهارکنندگی‌به طور معنی‌داری‌کاهش می یابد که با یافته های تحقیق حاضر در توافق بود.

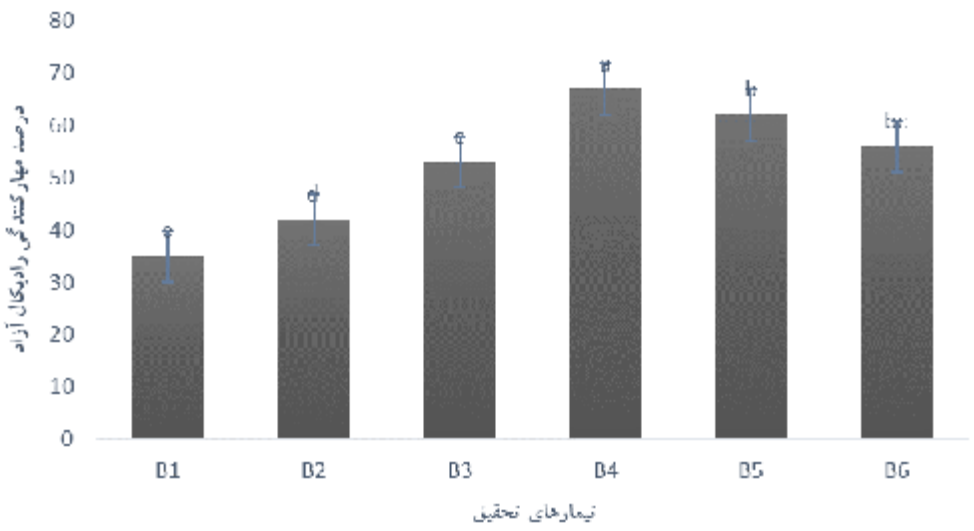
جدول٤- مقایسه میانگین میزان حداقل کشندگی و مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد

کد تیمار	میزان حداقل کشندگی	میزان حداقل مهارکنندگی
B1	a ۳۵٦ ± ۰/۰۱	a ۳٤۱ ± ۰/۰۱
B2	b ۳٤٥ ± ۰/۰۱	b ۳۰۹ ± ۰/۰۱
B3	c ۳۲۳ ± ۰/۰۳	c ۲۸۹ ± ۰/۰۳
B4	d ۳۰۹ ± ۰/۰۱	d ۲٦۷ ± ۰/۰۱
B5	e ۳۳٤ ± ۰/۰۲	e ۲۸۸ ± ۰/۰۲
B6	f ۳٦٥ ± ۰/۰٤	f ۲۹۸ ± ۰/۰٤

۳-٤-میزان درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد

با توجه به نتایج به دست آمده از میزان درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد(شکل۲)مشاهده‌شدکه میزان درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد به طور معنی‌داری با افزایش میزان بتالائین تا میزان ۱/۵ درصد افزایش می‌یابد اما از ۱/۵ درصد به بالاتر این روند بر عکس‌شده و به صورت کاهشی ادامه می یابد. یکی از دلایل‌مشاهده‌این تغییرات، خصوصیات آنتی اکسیدانی بتالائین می‌باشدکه‌باافزایش‌میزان غلظت آن در فرمولاسیون ریزکپسول میزان‌درصدمهارکنندگی رادیکال‌های آزاد به طور معنی داری افزایش‌می‌یابد($p\leq$۰/۰۵).درمقادیربالاتراز ۱/۵ درصد بتالائین، به دلیل‌کاهش میزان درصد به دام‌اندازی و رهایش بتالائین میزان درصدمهارکنندگی رادیکال‌های‌آزاد می‌باشد که غلظت بتالائین‌ها را به طور معنی‌داری در فرمولاسیون ریزکپسول‌ها کاهش‌داده وهمچنین بر میزان درصد رهایش آن‌ها نیز تاثیرات معنی‌داری‌دارد که این مساله در میزان درصد مهارکنندگی رادیکال‌های‌آزادموثرمی‌باشد.دراین‌راستانیز تحقیقات مشابهی نیز وجود داشت. ضیایی هزارجریبی و همکاران (۱۳۹۶) اثرات ضدتریکوموناییاسانس‌ونانوامولسیون‌گیاه‌رزماری‌بر*تریکوموناس واژینالیس*[1]در شرایط آزمایشگاهی را مورد بررسی قرار دادند. آن‌هادریافتندکه‌درصدهای‌بالای‌استفاده‌ازاسانس‌درفرمولاسیون نانوامولسیون نشان داد که درصد بالای اسانس رزماری میزان درصدمهارکنندگی‌رادیکال‌های‌آزادبه طور معنی‌داری کاهش یافت(۳۲) که با یافته‌های تحقیق حاضر در توافق بود. جوانشیر وهمکاران(۱۳۹۹)خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی نانوامولسیون سنتزشده روغن کرچک را بررسی نمودند(۳۱). نتایج نشان داد که خصوصیات آنتی‌اکسیدانی نانوامولسیون ها به‌طورمعنی‌داری‌با افزایش‌میزان درصد روغن کرچک به میزان بالاتراز دو درصدکاهش می‌یابد که با یافته‌های تحقیق حاضر در توافق بود.

1- Trichomonas Vaginalis



شکل ۲- مقایسه میانگین درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد ریزکپسول های بتالائین

٤- نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر با توجه به افزایش روز افزون استفاده از ترکیبات نگهدارنده طبیعی در صنعت غذا تمایل به استفاده از این ترکیبات افزایش‌یافته است که تحقیق حاضر نیز در راستای این تحقیقات می‌باشد. با توجه به استفاده روزافزون از نگهدارنده‌های طبیعی به‌جای‌نگهدارنده های سنتزی و همچنین خصوصیات آنتی‌اکسیدانی ترکیبات چغندرقرمز،همچنین بررسی روش‌های‌حفظ ترکیبات آنتی‌اکسیدان‌نیزبااستفاده‌ازریزکپسولها می‌تواند به استفاده طولانی‌مدت از این ترکیبات کمک کند. به‌طورکلی‌نتایج‌آزمون نشان داد که میزان درصد به دام اندازی و رهایش تا میزان ۱/۵ میلی‌گرم بتالائین افزایش و سپس تا ۲/۵ میلی‌گرم‌کاهش‌معنی‌داری‌را تجربه‌نمود. همچنین‌ریزکپسول ها دارای شکل کروی و هموژن و یکنواخت بوده و در تیمارهای با مقادیربالاتر از ۱/۵ میلی گرم، حالت اگلومراسیون بین ذرات هم زمان با افزایش اندازه ذرات نیز وجود داشت، همچنین خصوصیات حداقل میزان‌کشندگی و مهارکنندگی و درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد برای ریزکپسول ها محاسبه و ارزیابی گردید و بر اساس خصوصیات ریزکپسول‌ها نهایتا ۱/۵ میلی‌گرم بتالائین به عنوان تیمار بهینه انتخاب و معرفی گردید. دراین‌تحقیق‌ریزکپسول‌های بتالائین فرموله‌شده و خصوصیات آن ارزیابی‌گردید و نهایتا نسبت ۱/۵ درصد از آن به عنوان فرمولاسیون‌بهینه‌انتخاب‌ومعرفی‌گردیدکه‌می‌تواند در تحقیقات صنایع‌غذایی و به جای نگهدارنده‌های سنتزی مورد استفاده قرار گیرد.

۵-منابع

1. Adeli Milani, M., Mizani, M. and Ghavami M., 2011. Effect of yellow mustard powder on pH, living microbial population and sensory properties of mayonnaise, *Iranian Journal of Food Industry and Nutrition Science*, 5(2), pp.24-35.
2. Albertini, B., Passerini, N., Di Sabatino, M., Vitali, B., Brigidi, P. and Rodriguez, L., 2008. Polymer-lipid based mucoadhesive microspheres are prepared by spray-congealing for the vaginal delivery of econazole nitrate. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2;36(4–5), pp.591–601.
3. Ames, J. M. and Hofman, T., 2001. Chemistry and physiology of selected food colorants. *An American Chemical Society Publication*, pp. 23-27
4. Baghipour, S. and Fallahi, S. Betaline extraction from red beet and its use in dairy industry, *1st National Conference on Snacks*, Mashhad - Research Institute

for Food Science and Technology, ACECR.
5. Barbosa-Canovas, G, V., Ortega- Rivas, E., Juliano, P.and Yan, H., 2005. *Food Powders*: Physical properties, processing and functionality, New York, pp. 199-218.
6. Cai, Y. z., 2003. Antioxidant activity of betalains from plants of the amaranthaceae. *Journal of Agriculture and food Chemistry*, 51, pp. 2288-2294.
7. Ersus, S. and Yurdagel, U., 2007. Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus cartota L.*) by spray drier. *Journal of Food Engineering*,80, pp.805-812.
8. Fakhari A. R. and Baghipour, S., 2010. Extraction of a food colorant from red beet and evaluation of its stability. *Journal of Color Science and Technology ,3*, pp. 243-250.
9. Faridneia M., Mohammadi Sani, A. and Najaf Najafi, M., 2020. Encapsulation red beet extract by maltodextrin and whey protein isolate carriers using spray dryers and freezing. *Researches in Food Science and Technology of Iran*, 16(2), pp.322-313.
10. Fossen, T. and Cabrita, L., 2013.Andersen.Colour and stability of pure anthocyanin influenced by pH including the alkaline region. *Food chemistry*, 63, pp. 435-440
11. Fu, Y., Shi, J., Xie, SY., Zhang, TY., Soladoye, OP. and Aluko, RE., 2020. Red Beetroot Betalains: Perspectives on Extraction, Processing, and Potential Health Benefits. *J Agric Food Chem*. 21, 68(42), pp.11595-11611. doi: 10.1021/acs.jafc.0c04241. Epub 2020 Oct 11. PMID: 33040529.
12. Janiszewska, E., 2014. Microencapsulated beetroot juice as a potential source of betalain, 264, pp. 190-196.
13. Javanshir, A., Karimi, A. and Homayouni Tabrizi, M., 2020. Investigation of antioxidant and antibacterial properties of castor oil synthesized nanoemulsions, *Jondi Shapour Medical Journal*, 19(1), pp. 9
14. López, M., Dorotea, María. D., Rojas, M., Alexander, N. P. H., Soledad, C. and José, N., 2005. Molecular properties and prebiotic A of phenolic compounds from Mentha cattle using ultrasound device. *Journal of Herbal Drugs*, 3(1), pp.7-13.
15. Malek Ghasemi, A., Sadeghi Mahonak, A. R., Ghorbani, M. and Alamy, M. M. M., 2014. The effect of cooking method on antioxidant properties and betaline pigment in beets, *Journal of Food Science and Technology*, 4, pp.36-29.
16. Nussinovitch, A., 2003. Hydrocolloids in flavor encapsulation. In Water Soluble Polymer Application in Food, edited by Blakwell Science Publishing. 93-113.
17. Poshadri, A. and Aparna, Kuna., 2010. Microencapsulation Technology: A Review. *Journal of Research Angrau* ,38(1), pp. 86-102.
18. Potakamory, U, R. and Barbosa-Canovas, G,V., 1995. Fundamental aspects of controlled release in foods. *Trends in Food Science and Technology*,1(6), pp.397-406.
19. Prakash Maran, J., Mekala, V. and Manikandan, S., 2013. Modeling and optimization of ultrasound-assisted extraction of polysaccharide from Cucurbita moschata. *Carbohydr Polym*. Feb 15;92(2), pp.2018-26.
20. Prombutaraa, P., Kulwatthanasal, Y., Supaka, N., Sramala, I. and Chareonpornwattanaa, S., 2012. Production of nisin-loaded solid lipid nanoparticles for sustained antimicrobial activity, *Food Control*, 24, pp.184-190.
21. Rein, M. J., 2005. Copigmentation reactions and color stability of berry antocyanins.EKTseries1331.University of Helsinki, Department of Applied Chemistry and Microbiology.
22. Ritota, M., Mattera, M., Gabriella, Di., Costanzo, M. and Manzi, P., 2018. Evaluation of Crocins in Cheeses Made with Saffron by UHPLC, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 29(2), pp. 248-257.

23. Roy, K., Gullapalli, S., Chaudhuri, U.R. and Chakraborty, R., 2004. The use of a natural colorantbased on betalain in the manufacture of sweet products in India. *International Journal of Food Science Technology*, 39(10), pp.1087-1091.
24. Satpute, D., Padghan, P., Patil, Y. and Suryawanshi, D., 2018. Effect of menthol (Mentha arvensis) and beet root extract on physico-chemical properties of paneer whey based beverage, *International Journal of Food Science and Nutrition*, 3(1), pp. 99-105.
25. Shahi, S., 2014. Pharmaceuticals, L. Micro particles: An approach for betterment of drug delivery system. *International Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 1, pp. 99-115.
26. Sotillo, KJ., Hadley, R. D., Holm M. E. T., 1994. Phenolics in aqueous potato peel extract: Extraction, identification and degradation. *Journal of Food Science*, 59(2), pp. 649-651.
27. Strack, D., Vogt, T. and Schliemann, W., 2003. Recent advances in betalain research. *Phytochemistry*, 62, pp.247-69.
28. Ziaei Hezarjaribi, E., Nadali, N., Saeedi, M., Momeni, Z., Susanai, M., Fakhar, M. and Jorjani, A., 2017. Anti-trichomonia effects of rosemary essential oil and nanoemulsions on trichomonas vaginalis in vitro, *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*, 27(153), pp.118-122.

(Original Research Paper)

Possibility of Production and Formulation of Antioxidant Microcapsules Based on Betalain Root of Red Beet and Evaluation of Its Practical and Functional Features

Ghazal Hanifeh zadeh[1], Masoud Honarvar[2*]

1-MSc Student of the Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2-Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received:17/05/2022 Accepted:10/07/2022

Abstract

Nowadays, the use of antioxidant compounds and natural preservatives instead of synthetic preservatives has a unique and fundamental role in the food industry due to their known harms and diseases. One of these compounds with known antioxidant effects is red sugar beet betalains, which have been investigated for microencapsulation. In this study, betalain microcapsules were prepared by the "ionic gelation" method using sodium alginate and guar gum with amounts of 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, and 2 mg. Betalain microcapsules were characterized for size, loading efficacy, cumulative release, and morphological characteristics. Also, the characteristics of minimum inhibition concentration (MIC), minimum bactericidal concentration (MBC), and the inhibitory percentage of free radicals (DPPH) for microcapsules were calculated. All data were analyzed using Duncan's one-way variance analysis method. In general, the results show that the percentage of loading efficacy and cumulative release increased up to 1.5 mg betalain, and then up to 2.5 mg experienced a significant decrease. Also, microcapsules had spherical, homogeneous, and uniform forms. In treatments with amounts higher than 1.5 mg, agglomeration between particles coincided with increasing particle size and was based on microcapsules characteristics. Finally, microcapsules including 1.5 mg betalain were selected as the optimum treatment based on the characteristics of the maximum loading efficacy and release, homogenous appearance, lowest MIC and MBC, and the maximum DPPH.

Keywords: Antioxidant, Betalain, Microcapsules, Red Sugar Beet.

[*]Corresponding Author: m-honarvar@hotmail.com