DOI: http://dx.doi.org/ 10.22104/JIFT.2021.4950.2045

فناوری‌های جدید در صنعت غذا، دوره ۸، شماره ۴، صفحه ۴۸۴-۴۶۹، تابستان ۱۴۰۰

مقاله پژوهشی

بهینه‌سازی ریزپوشانی و بررسی پایداری عصاره پوسته میگو غنی از آستاگزانتین

پروین شرایعی[1*]، الهام آذرپژوه[2]، شهین زمردی[3]، سودابه عین‌افشار[2]

۱. دانشیار، بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد

۲. استادیار، بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد

۳. دانشیار، بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ارومیه

چکیده

پژوهش حاضر با هدف استفادهٔ بهینه از پوسته میگو به‌عنوان پسماند کشاورزی در محل‌های فرآوری میگو و منبع غنی از آستاگزانتین اجرا شد. بدین منظور ابتدا عصاره پوسته میگو با کمک فرآیند فراصوت (شدت ۲۵٪ به مدت ۱۳/۹۰min در دمای ۲۷°C) و با حلال پترولیوم اتر/ استن / آب با نسبت ۱۵:۷۵:۱۰ استخراج شد. سپس با استفاده از دیواره‌های مختلف (نشاسته اصلاح شده و مالتودکسترین با درجات هیدرولیز ۷ و ۲۰) و روش خشک‌کردن پاششی ریزپوشانی شد. طراحی ترکیب دیواره‌ها با استفاده از نرم‌افزار سطح پاسخ و طراحی شبکه یک‌طرفه با نقاط محوری ارتقاء یافته در طرح مخلوط (۱۴ ترکیب دیواره) انجام شد. ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی ریزکپسول‌ها (میزان رطوبت، راندمان ریزپوشانی، میزان آستاگزانتین و قدرت آنتی‌اکسیدانی) نشان داد که استفاده از مخلوط دیواره‌های مالتودکسترین و نشاسته اصلاح شده تا نقطه مرکزی طرح مثلثی (۳۳/۳۳٪)، باعث بهبود خصوصیات فیزیکوشیمیایی نسبت به استفاده از دیواره‌ها به تنهایی می‌شود. بهینه‌یابی غلظت دیواره‌های مختلف برای ریزپوشانی عصاره پوسته میگو حاوی آستاگزانتین با استفاده از بهینه‌یابی عددی و نموداری مشخص نمود که ترکیب دیوارهٔ بهینه حاوی ۱۸/۴۰٪ دیوارهٔ مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۷، ۴۱/۷۸٪ دیوارهٔ نشاسته اصلاح شده و ۳۹/۸۱٪ دیوارهٔ مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۲۰ می‌باشد. هم‌چنین بررسی پایداری آستاگزانتین ریزکپسول‌ها طی ۴۲ روز نگهداری در شرایط مختلف دمایی (۴°C و۲۵°C) و رطوبتی (۵۲٪ و ۷۵٪) نشان داد که میزان آستاگزانتین در تمامی نمونه‌ها به‌صورت خطی کاهش یافت (ضریب تبین بیش از ۹۸٪)، اما میزان آستاگزانتین نهایی نمونه‌های مختلف با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشت ($p>0/05$). کاهش دما و رطوبت نسبی محیط نگهداری باعث حفظ بهتر آستاگزانتین در ریزکپسول‌ها شد و ریزکپسول‌های حاوی ترکیب دیواره بهینه و ترکیب مساوی از هر یک از دیواره‌ها در دمای ۴°C و رطوبت نسبی ۵۲٪ به ترتیب با نیمه‌عمر ۹۴/۹۳ و ۹۲/۴۲ روز، بالاترین پایداری آستاگزانتین را در مقایسه با سایر ریزکپسول‌ها داشتند.

واژه‌های کلیدی: آستاگزانتین، مالتودکسترین، نشاسته اصلاح شده، طرح مخلوط، نیمه عمر

*نویسنده مسئول: p.sharayei@areeo.ac.ir

۱. مقدمه

رنگ‌ها، یکی از مهم‌ترین افزودنی‌های مواد غذایی می‌باشند که تأثیر بسزایی بر بازارپسندی محصول تولید شده، دارند. به همین دلیل، استفاده از ترکیبات مولد رنگ در صنایع مختلف از جمله صنعت غذا از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. کاروتنوئیدها، یکی از مهم‌ترین رنگ‌های طبیعی، هستند که به طور طبیعی در کلروپلاست و یا کروموپلاست گیاهان و برخی از ارگانیسم‌های فتوسنتزکننده مثل جلبک‌ها وجود دارند [۱].

آستاگزانتین (۳ و `۳ دی‌هیدروکسی- β،β کاروتن- ۴،`۴- دی اون)، کتوکاروتنوئیدی از گروه گزانتوفیل‌ها و یکی از معروف‌ترین رنگدانه‌های کاروتنوئیدی می‌باشد. بر اساس آمار منتشر شده بازار جهانی، فروش آستاگزانتین در سال ۲۰۱۴ با تولید ۲۸۰ تن بیش از ۴۴۷ میلیون دلار و در سال ۲۰۱۸ بیش از ۶۰۰ میلیون دلار بوده است و تخمین زده می‌شود تا سال ۲۰۲۶، به بیش از ۸۸۰ میلیارد دلار خواهد رسید [۳،۲]. آستاگزانتین مصنوعی از منابع پتروشیمی تولید می‌شود که به دلیل ارزان‌تر بودن (هر کیلوگرم حدود ۱۰۰۰ دلار) بیش از ۹۵٪ از این بازار را به خود اختصاص داده است. اما به دلیل مسائل مربوط به ایمنی مواد غذایی (مسمومیت بالقوه در محصول نهایی) و آلودگی، تا به امروز فقط به‌عنوان یک افزودنی برای تغذیه ماهی (برای اهداف رنگدهی) استفاده شده است و برای مصرف مستقیم انسانی در غذاها یا مکمل‌ها تائید نشده است [۴]. آستاگزانتین طبیعی از برخی جلبک‌ها، ماهی قزل‌آلا سالمون، پوسته میگو و... استحصال می‌شود و قابلیت استفاده در صنایع غذایی (نوشیدنی‌ها، بستنی، دسر، آب‌نبات و تولیدات گوشتی) را علاوه بر مصارف تغذیه حیوانات آبزی و حیوانات خانگی دارد [۵].

پوسته میگو، یکی از منابع ارزان قیمت برای تولید آستاگزانتین است. بر اساس آمارهای منتشر شده، تولید میگو در سال ۱۳۹۶، بالغ بر ۲۰ هزار تن بوده است [۶]. از آنجایی که ۱۷ تا ۲۳٪ وزن میگو را پوسته تشکیل می‌دهد، می‌توان تخمین زد که سالیانه حدود ۴۰۰۰ تن تولید پوسته میگو به‌صورت ضایعات تولید خواهد شد. برخی مراکز فرآوری این پسماند را که عمدتاً شامل پوسته میگو است را برای فرآوری به کارخانجات تولید خوراک دام، طیور و آبزیان عرضه می‌کنند، اما عمده این مراکز از ارزش واقعی این ضایعات بی‌اطلاع بوده و یا نیازی به فرآوری و کسب سود بیشتر حس نمی‌کنند. در حالیکه، با فرآوری صحیح این محصول علاوه بر کاهش ضایعات و آلودگی‌های زیست محیطی، باعث ایجاد ارزش افزوده نیز خواهد شد.

آستاگزانتین، ترکیب نارنجی متمایل به قرمز، دارای فعالیت غیرمعمول و بسیار قوی آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و مشخص شده است این رنگدانه باعث جلوگیری از بیماری‌های آلزایمر، پارکینسون، سکته مغزی، کلسترول بالا، بیماری چشم و سرطان می‌شود [۷]؛ اما این رنگدانه به‌واسطه داشتن ساختار چند غیراشباعی و پیوندهای دوگانه مزدوج متعدد، در برابر عوامل محیطی حساس است و با تغییر ساختار فضایی در اثر اکسایش و ایزومریزاسیون، رنگ و ویژگی‌های تغذیه‌ای و بیولوژیکی خود را از دست می‌دهد [۸]؛ بنابراین، استفاده از روشی که بتواند این ترکیب را در برابر عوامل محیطی حفظ کند و همچنین آزادسازی آن را در زمان معین و به‌صورت کامل محقق نماید، دارای اهمیت ویژه‌ای می‌باشد [۹]. یکی از روش‌های محافظت اجزاء فعال و حساس طی فرآیند، ریزپوشانی است. ریزپوشانی فرآیندی است که در آن ترکیبات زیست فعال و یا حساس مانند آستاگزانتین توسط مواد دیواره پوشانده و یا به دام انداخته می‌شوند. ترکیبات دیواره، مانع فیزیکی و لایه محافظتی را در اطراف ماده اصلی ایجاد نموده و سبب محافظت ترکیبات هسته در برابر عوامل محیطی خارجی (گرما، آنزیم‌ها، اکسیژن، نور و pH و...)، بهبود حمل و نقل، بهبود نگهداری، بهبود ایمنی مواد غذایی و آزادسازی کنترل شده ترکیبات هسته می‌شوند [۱۰]. برای به دست آوردن ریزپوشانی موفق انتخاب مواد دیواره و روش خشک کردن مناسب و بهینه سازی شرایط فرآیند، ضروری است.

در ریزپوشانی مواد حساس اغلب از دیواره کربوهیدراتی استفاده می‌شود که این به دلیل قابلیت بالا در جذب ترکیبات فرار و همچنین اتصال محکم به آنها حین فرآیند می‌باشد [۱۱]. مالتودکسترین‌ها از هیدرولیز جزئی اسیدی یا آنزیمی آرد ذرت تولید می‌شوند و به علت توانایی تشکیل شبکه در روش‌های مختلف ریزپوشانی به عنوان دیواره مورد

توجه می‌باشند. بالا بودن کارآیی ریزپوشانی توسط مالتودکسترین‌ها، پایین بودن گرانروی محلول آن‌ها حتی در غلظت‌های بالا، در دسترس بودن آنها در وزن‌های مولکولی مختلف و پایین بودن قیمت آنها، از عوامل مهم در استفاده از این ترکیبات در ریزپوشانی است [۱۲].

Hi-Cap100 یا اکتنیل- سوکسینات نشاسته[1] که نشاسته اصلاح شده نیز نامیده می‌شود، از استریفیکاسیون نشاسته و اسیداکتنیل‌سوکسینیک بدون آب تحت شرایط قلیایی به دست می‌آید. در این فرآیند زنجیرهای جانبی آبگریز به مولکول‌های آبدوست نشاسته اضافه می‌شوند و به آن‌ها خاصیت آمفی‌فیلیک می‌دهند [۱۳]. بنابراین در سامانه‌های دو فازی آب-روغن زنجیرهای جانبی آبگریز نشاسته به سطح قطرات روغن متصل شده؛ در حالی‌که زنجیره‌های آبدوست آن با مولکول‌های آب پیوند برقرار می‌کنند و به این ترتیب با ایجاد دافعه فضایی[2] از به هم پیوستن قطرات جلوگیری می‌نمایند [۱۴].

خشک‌کردن پاششی یکی از رایج‌ترین و متداول‌ترین روش‌های ریزپوشانی است که از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه و ارزان بوده و ذراتی با کیفیت خوب تولید می‌کند. نظر به این که زمان خشک‌کردن در این فرآیند کوتاه است، دمای هسته چندان افزایش نمی‌یابد، بنابراین می‌توان برای ریزپوشانی محدودهٔ وسیعی از مواد از جمله اسانس‌ها، اجزای غذایی فراویژه و دارویی، ترکیبات معطر و روغن‌های با مصارف خاص استفاده کرد [۱۵].

Baranauskiene و همکاران (۲۰۰۷) روغن نعناع فلفلی را به کمک نشاسته اصلاح‌شده در نسبت‌های مختلف و با روش خشک‌کردن پاششی ریزپوشانی نمودند. نتایج نشان داد نشاسته اصلاح شده می‌تواند به تنهایی به عنوان یک ماده دیواره استفاده شود و تا بیش از ۵۰٪ مواد معطر را حفظ کند [۱۶].

Silva و همکاران (۲۰۱۴) تأثیر ترکیبات مختلف مواد دیواره (مالتودکسترین و نشاسته Hi-Cap) را در ریزپوشانی روغن قهوه سبز توسط خشک‌کن پاششی مورد بررسی قرار داده و گزارش نمودند که مخلوطی از نشاسته اصلاح شده و مالتودکسترین (۷۵:۲۵) باعث افزایش راندمان ریزپوشانی، افزایش پایداری فیزیکی و پایداری اکسایشی ترکیبات هسته شد [۱۷].

Krishnan و همکاران (۲۰۰۵) ریزپوشانی الئورزین هل را با ترکیبی از صمغ عربی، مالتودکسترین و نشاسته اصلاح شده به عنوان ترکیب دیواره بررسی نمودند. نتایج بررسی نشان داد مخلوط دیواره‌ها با نسبت ۱/۶: ۱/۶: ۴/۶ به ترتیب باعث افزایش راندمان ریزپوشانی می‌شود [۱۸].

در سال‌های اخیر روش سطح پاسخ به طور گسترده‌ای برای توسعه، بهبود و بهینه‌سازی فرآیندهای غذایی استفاده می‌شود [۱۹]. روش سطح پاسخ، مجموعه‌ای از تکنیک‌های ریاضی و آماری است که جهت توسعه و بهینه کردن فرآیندهایی به کار می‌رود که پاسخ مورد نظر توسط تعدادی از متغیرها تحت تأثیر قرار می‌گیرد و هدف، توصیف رابطه‌ای بین پاسخ و متغیرهای مستقل توسط مدل‌های ریاضی و بهینه‌سازی این پاسخ‌ها می‌باشد [۲۰].

بنابراین، با توجه به برنامه‌های کشور در خصوص کاهش ضایعات و استفاده بهینه از آنها و با تخمین تولید سالیانه حدود ۴۰۰۰ تن پوسته میگو، پژوهش حاضر با هدف بهینه‌سازی فرآیند ریزپوشانی عصاره پوسته میگو حاوی ترکیب ارزشمند آستاگزانتین با روش خشک‌کردن پاششی و ترکیب مواد دیواره (نشاسته اصلاح شده و مالتودکسترین با درجات هیدرولیز ۷ و ۲۰) و روش سطح پاسخ انجام شد. هم‌چنین پایداری و نیمه‌عمر پودرهای حاصل در دما (۴°C و ۲۵°C) و رطوبت نسبی‌های مختلف (۵۲٪ و ۷۵٪) محیط نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. مواد اولیه

پوسته میگو ببری سبز (*Penaeus semisulcatus*) از مراکز فرآوری میگو در استان بوشهر خریداری شد و بلافاصله با آب مقطر برای حذف آلودگی‌های سطحی شستشو شد و در بسته‌های حاوی یخ گذاشته شد و به آزمایشگاه انتقال داده شد. در آزمایشگاه بعد از جداسازی زوائد اضافی، در بسته‌های

1. Octenyl-succinate starch
2. Steric repulsion

پلاستیکی از جنس پلی‌اتیلن بسته‌بندی و در دمای ۲۰°C – نگهداری شدند.

سایر مواد مورد استفاده در این پژوهش شامل اتانول ۹۶٪، پترولیوم اتر، استن، هگزان، اتانول، اسیدکلریدریک، کلرید-سدیم، نیترات منیزیم، رادیکال ۲ و ۲- دی‌فنیل ۱-۱-پیکرودی‌هیدرازیل[1]، کلریدپتاسیم، کلریدآلومنییم، هیدرو کسیدسدیم، کلریدآهن‌هفت آبه، کربنات-پتاسیم، استات-سدیم، متانول، مالتودکسترین (درجهٔ هیدرولیز ۷ و ۲۰) و توئین ۸۰ از شرکت‌های سیگما و مرک خریداری شدند. نشاسته اصلاح شده با نام تجاری Hi- Cap 100(نشاسته ذرت مومی با استخلاف‌های جانبی اکتنیل‌سوکسینات، ۵٪ رطوبت و بیش از ۹۰٪ حلالیت در آب) از شرکت ملی نشاسته[2] انگلستان تهیه شد.

۲.۲. استخراج عصاره رنگی با کمک امواج فراصوت

به‌منظور استخراج عصاره رنگی از پوسته میگو، کارتوش حاوی ۵۰g پوسته میگو پودر شده را در یک بشر حاوی ۲۰۰ml حلال (پترولیوم اتر/ استن / آب با نسبت ۱۵:۷۵:۱۰) قرار داده و به محفظه ویژه اعمال فراصوت منتقل شد. صوت دهی با شدت ۲۵٪ به مدت ۱۳/۹۰min در دمای ۲۷°C انجام شد (شرایط بهینه بر اساس طرح باکس‌بنکن[3] مشخص شده است). برای اعمال امواج فراصوت از دستگاه فراصوت ساخت شرکت هلشر آلمان مدل یوپی ۴۰۰ اس[4] با قدرت ۴۰۰W و پروب از نوع H_7 از جنس تیتانیوم با قطر ۷mm و طول ۱۰۰ mm، استفاده شد. پس از اتمام عملیات استخراج (۶h استخراج با سوکسله با احتساب زمان صوت‌دهی)، محلول تحت خلاء صاف و با تبخیر کنندهٔ دوار تحت خلاء (مدل Laborota 4000 efficient، ساخت کشور آلمان) در دمای ۴۵°C تا حد آبگیری کامل تغلیظ شد. برای جلوگیری از کف کردن و همچنین جهت رسیدن به دمای مناسب برای ورود به خشک‌کن انجمادی، محلول تغلیظ شده به مدت ۱۹ h در فریزر با دمای ۷۰°C- نگهداری و سپس به خشک کن انجمادی (مدل Operon FDB- 550، ساخت کشور کره) منتقل و در دمای ۵۵°C- با فشار ۰/۱۵ mmHg طی ۲۰h خشک شد. عصاره خشک شده تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی، در تاریکی و دمای ۱۸°C- نگهداری شد.

۳.۲. تهیه مواد پوشش دهنده

ابتدا محلول‌های مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز معادل ۷ و ۲۰ و نشاسته اصلاح شده با درصدهای مشخص شده در جدول آنالیز آماری سطح پاسخ مرکب (جدول ۱) در آب مقطر در غلظت ۱۰٪ تهیه و به مدت ۳۰min با همزن مغناطیسی در دمای اتاق (۲۵±۱°C) مخلوط شدند. محلول حاوی ترکیب دیواره‌ها به مدت ۲۴ h در یخچال (دمای ۴ ±۱°C) برای کامل شدن فرآیند هیدراتاسیون نگهداری شدند. سپس فاز آبی به دمای محیط رسانده شد و ۱۰٪ از کل مواد جامد، توئین ۸۰ به عنوان پایدارکننده و عصاره رنگی پوسته میگو با نسبت وزنی ٪ ۲/۵ به کلیه محلول‌ها افزوده شد. سپس امولسیون فوق توسط همگن‌ساز اولتراتوراکس (مدل T50، شرکت IKA آلمان) با سرعت ۱۵۰۰۰rpm/min و به مدت۱۰ min همگن گردید. همگن سازی نهایی با استفاده از دستگاه مولد امواج فراصوت (ساخت شرکت هلشر آلمان مدل یوپی ۴۰۰ اس، با قدرت ۴۰۰W) با دامنه کنترل ٪ ۱۰۰ و فرکانس ۲۰KHz به مدت ۳ min در دمای محیط انجام شد [۲۱].

محلول‌های حاوی مواد دیواره و هسته در خشک‌کن پاششی (مدل۱۹۰ B، شرکت BUCHI، کشور سوئیس) با دمای هوای ورودی ۱۸۰°C، دمای هوای خروجی ۷۱°C، سرعت جریان هوا ۶۰۰ L/h، هوادهی ۶۵٪ خشک شدند. پودرهای خشک شده تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی، در تاریکی و دمای ۱۸ °C- نگهداری شدند.

1. 2,2- Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
2. National Starch
3. Box-Behnken
4. Heilscher, Germany – UP400S

جدول (۱) ترکیب دیواره بر اساس طرح مخلوط برای ریزپوشانی عصاره پوسته میگو حاوی آستاگزانتین

Table 1. Different wall materials treatments based on mixture design to encapsulate shrimp shell extract contains astaxanthin

تیمار	ترکیب دیواره (درصد) Wall composition		
	مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۷ Maltodextrin with a hydrolysis degree of 7	نشاسته اصلاح شده Modified starch	مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز۲۰ Maltodextrin with a hydrolysis degree of 20
1	0	50	50
2	50	0	50
3	0	0	100
4	50	50	0
5	100	0	0
6	16.67	66.67	16.67
7	100	0	0
8	0	100	0
9	0	0	100
10	16.67	16.67	66.67
11	66.67	16.67	16.67
12	33.33	33.33	33.33
13	50	50	0
14	0	100	0

۴.۲. اندازه‌گیری قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH

محلول ۰/۰۰۶٪ رادیکال آزاد DPPH در متانول تهیه شد. سپس به لوله‌های آزمایش حامل ۱ml محلول متانولی نمونه با غلظت‌های مختلف (بسته به قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد)، ۱ml از محلول فوق اضافه شد. لوله‌های آزمایش بعد از ورتکس شدن به مدت ۱h در جای تاریک نگهداری شدند و سپس جذب آنها در طول موج ۵۱۲ nm در برابر شاهد قرائت شد. درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد برحسب رابطه (۱) محاسبه شد.

$$A\% = \frac{A_C - A_S}{A_C} \times ۱۰۰ \qquad (۱)$$

که A% درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH، A_C جذب شاهد و A_S جذب نمونه است [۲۲].

۵.۲. تعیین مقدار رطوبت ریزکپسول‌ها

مقدار رطوبت نمونه‌ها با استفاده از دستگاه رطوبت سنج مادون قرمز (MX-50, Japan) در دمای ۱۰۵ ±۱°C تا رسیدن به وزن ثابت اندازه‌گیری شد [۲۳].

۶.۲. اندازه‌گیری میزان آستاگزانتین

ابتدا آستاگزانتین استخراج شده در حلال هگزان حل شده (در ۳ ml) و جذب آن در ۴۷۰ nm خوانده و سپس با استفاده از رابطه زیر مقدار آستاگزانتین محاسبه شد (رابطه ۲).

$$AST\ \left(\frac{\mu g}{g}\right) = \frac{A \times D \times 10^6}{100 \times G \times d \times E_{1cm}^{1\%}} \qquad (۲)$$

Ast: مقدار آستاگزانتین بر حسب µg/g، A: جذب، D: حجم عصاره در هگزان، 10^6: مقدار رقیق‌سازی، G: وزن نمونه برحسب g، d: ضخامت کوت، E: ضریب خاموشی، ۲۱۰۰ [۲۴].

۷.۲. تعیین راندمان ریزپوشانی ترکیبات رنگی

راندمان ریزپوشانی ترکیبات رنگی بر طبق روش Barbosa و همکاران (۲۰۰۵) محاسبه شد [۲۵]. در این روش ابتدا مقدار ترکیبات رنگی سطحی یا ریزپوشانی نشده تعیین می‌شود. بدین منظور میزان ۱۰۰ mg از پودر ریزپوشانی شده با ۱ ml از مخلوط اتانول و متانول (نسبت ۱:۱) توسط ورتکس به مدت ۱ min جهت انحلال پودرهای ریزپوشانی نشده مخلوط شد. پس از صاف کردن مخلوط، مقدار ترکیبات رنگی آن توسط روش Sachindra و Mahendrakar (۲۰۰۵)

تعیین گردید. همچنین میزان ترکیبات رنگی کل نیز در پودرهای ریزپوشانی شده طبق Barbosa و همکاران (۲۰۰۵) به دست آمد. در نهایت راندمان ریزپوشانی ترکیبات رنگی طبق رابطه (۳) محاسبه گردید:

$$\text{راندمان ریزپوشانی} = \frac{(TA-SA)}{TA} \times 100 \qquad (۳)$$

۸.۲. مشاهدهٔ ریزساختار ریزکپسول‌ها

برای مشاهدهٔ ریزساختار ریزکپسول‌های تهیه شده، از میکروسکوپ الکترونی روبشی[1] (LEO 1450, VP, Germany) استفاده شد. بدین منظور، مقدار کمی از نمونه به‌طور کاملاً تصادفی بر روی صفحهٔ مخصوص قرار گرفت. سپس نمونه‌ها توسط دستگاه پوشش‌دهنده با یک لایهٔ نازک (به ضخامت نانومتری) از جنس طلا- پالادیوم، پوشش داده شدند (به مدت حدوداً ۲ min). نمونه‌های آماده شده به درون دستگاه منتقل شدند. شعاعی از الکترون‌های پرشتاب با ولتاژ ۱۵ kV به نمونه‌ها تابیده شد و تصویر بر اساس شعاع الکترونی برگشتی از نمونه‌ها به دست آمد [۲۶].

۹.۲. بررسی رهایش آستاگزانتین و تعیین نیمه عمر

رهایش آستاگزانتین در دماها (۲۵°C و ۴°C) و رطوبت نسبی‌های مختلف (۰/۲۲±۵۲/۸۹ و ۰/۱۲±۷۵/۲۹ ٪) مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ابتدا ریزکپسول‌های تهیه شده در فیلم پلاستیکی از جنس پلی‌اتیلن با دانسیتهٔ پایین بسته‌بندی شدند. جهت ایجاد رطوبت‌های نسبی ۰/۲۲±۵۲/۸۹ و ۰/۱۲±۷۵/۲۹ ٪، به ترتیب از محلول‌های اشباع نمک‌های نیترات‌منیزیم و کلرید سدیم استفاده شد [۲۷]. سپس محلول‌های اشباع نمک به‌صورت جداگانه در کف دسیکاتورها ریخته شدند و نمونه‌ها بر روی صفحه مشبک داخلی دسیکاتور قرار داده شدند. به‌منظور ممانعت از تأثیر نور، دسیکاتورها با فویل آلومینیومی کاملاً پوشیده شدند و در دمای ۴°C و ۲۵°C نگهداری شدند. هر ۷ روز یکبار نمونه‌برداری انجام و مقدار ترکیبات رنگی (آستاگزانتین) نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. سپس منحنی نیمه لگاریتمی مقدار آستاگزانتین در هر دما و رطوبت نسبی، به طور جداگانه بر حسب زمان نگهداری ترسیم شد و با محاسبه شیب هر نمودار (K)، زمان نیمه‌عمر ($T_{1/2}$) هر یک از نمونه‌ها محاسبه شد. لازم به یادآوری است که پارامتر K، عبارت از شیب معادله خطی برازش یافته برتغییرات میزان آستاگزانتین در برابر زمان در منحنی نیمه لگاریتمی و زمان نیمه عمر، عبارت از زمان لازم برای کاهش ماده ریزپوشانی شده به میزان ۵۰٪ اولیه می‌باشد که برای محاسبه آن از فرمول ذیل استفاده شد [۱۸].

$$T_{1/2} = \text{Ln}\,(0.5)/k = 0.693/K$$

۱۰.۲. تجزیه و تحلیل آماری

مطالعه اثر فرمول دیواره‌های مختلف بر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی پودرهای ریزپوشانی شده، با طراحی شبکه یک طرفه با نقاط محوری ارتقا یافته در طرح مخلوط با سه دیواره مختلف (مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۷، نشاسته اصلاح شده و مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۲۰) مورد بررسی قرار گرفت. کل منطقه مثلثی شامل ۱۴ نقطه طراحی شده با سه تکرار بود. نرم‌افزار Design expert 11 برای آنالیز رگرسیون سطوح سه‌بعدی و نقاط پاسخ کوکس استفاده شد.

۳. نتایج و بحث

۱.۳. خصوصیات فیزیکوشیمیایی ریزکپسول‌ها

خصوصیات فیزیکو شیمیایی ریزکپسول‌های تهیه شده در جدول (۲) نشان داده شده است.

همان‌طور که از جدول (۲) مشاهده می‌شود میزان رطوبت ریزکپسول‌ها تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشتند ($P<۰/۰۵$). رطوبت یکی از خصوصیات مهم ریزکپسول‌ها است که بر راندمان خشک شدن، خاصیت سیالیت پودر، چسبندگی و ثبات ذخیره‌سازی، دمای انتقال شیشه‌ای و رفتار کریستالیزاسیون تأثیر می‌گذارد. همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد، ترکیب دیواره‌ها باعث کاهش میزان رطوبت ریزکپسول‌ها شد و ریزکپسول‌های تهیه شده با دیواره نشاسته اصلاح شده به‌تنهایی، بیشترین میزان رطوبت را داشتند (میانگین معادل ۱۳/۱۷٪). در شکل پاسخ کوکس و رویه پاسخ (شکل ۱ - الف و ب) مشاهده می‌شود که میزان رطوبت ریزکپسول‌ها با افزایش نسبت مالتودکسترین با درجهٔ

1. Scanning electron microscope (SEM)

هیدرولیز ۷ و نشاسته اصلاح شده تا نقطه مرکزی طرح مثلثی (جایی که سه نقطه دارای نسبت مساوی هستند) کاهش و سپس با افزایش بیشتر تا ۶۶/۶۷٪، به میزان قابل توجهی کاهش یافت و در انتها با افزایش غلظت به ۱۰۰٪ (دیواره تنها) با شیب تندی افزایش یافت.

جدول (۲) تأثیر نوع و غلظت ترکیبات دیواره بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی ریزکپسول‌ها

Table 2. The effect of type and concentration of wall compounds on physicochemical properties of microcapsules

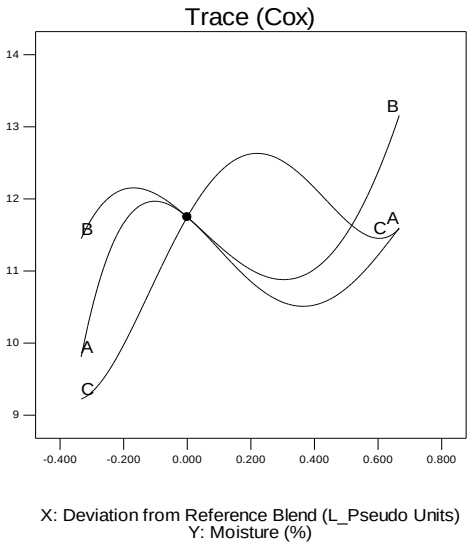
قدرت-گیرندگی رادیکال DPPH (درصد) DPPH radical scavenging power (%)	مقدار آستاگزانتین(میکروگرم بر گرم) Astaxanthin content (µg/g)	راندمان ریزپوشانی آستاگزانتین (درصد) Astaxanthin microencapsulation efficiency (%)	رطوبت (درصد) Moisture (%)	ترکیب دیواره (درصد) Wall compound		
				مالتودکسترین۲۰ MD20	نشاسته اصلاح شده Modified Starch	مالتودکسترین۷ MD7
42.34±0.64[b]	37.30±1.06[b]	73.56±0.37[b]	9.86±0.42[d*]	50	50	0
37.42±0.42[d]	26.39±1.07[k]	55.38±1.61[g]	11.50±0.72[bc]	50	0	50
38.88±1.12[c]	25.38±0.58[k]	48.85±0.66[i]	11.38±0.32[bc]	100	0	0
35.59±0.29[e]	31.71±0.84g[h]	61.28±1.29[f]	9.25±0.82[d]	0	50	50
28.44±0.54[i]	23.94±1.02[k]	50.56±0.68[h]	11.75±0.71[bc]	0	0	100
34.08±0.64[f]	36.52±1.13[b]	71.50±0.36[c]	10.74±0.76[cd]	16.67	66.67	16.67
30.85±0.14[h]	32.35±0.49f[g]	63.75±0.81[e]	11.47±0.28[b]	0	0	100
24.50±0.63[k]	28.58±0.71[i]	50.45±1.08[h]	13.17±0.67[a]	0	100	0
32.76±0.19[g]	31.14±0.16[h]	60.86±0.77[f]	11.82±0.56[bc]	100	0	0
38.47±0.83[c]	35.31±0.89[cd]	71.57±1.86[c]	12.27±0.89[ab]	66.67	16.67	16.67
33.14±0.74[f]	33.98±0.35[e]	68.45±0.23[d]	10.37±0.28[cd]	16.67	16.67	66.67
49.98±0.36[a]	41.73±0.98[a]	83.65±0.68[a]	11.98±0.58[b]	33.33	33.33	33.33
35.85±0.54[e]	34.68±0.14[de]	69.25±0.78[d]	9.25±0.49[d]	0	50	50
27.36±0.87[j]	29.79±0.89[j]	48.73±1.11[g]	13.17±0.98[a]	0	100	0

*Means ± SD (standard deviation) within a column with the same lowercase letters are not significantly different at $P < 0.05$.

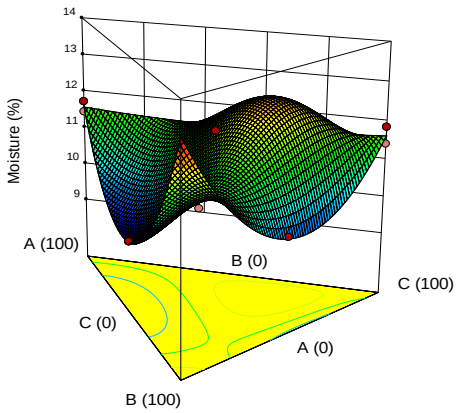
ارقام دارای حروف مشترک در هر ستون (میانگین± انحراف معیار) از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند (آزمون دانکن، P< ۰/۰۵)

همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۲۰ تا ۶۶/۶۷٪ میزان رطوبت افزایش و سپس با شیب تندی کاهش یافت. گزارش شده است که کاربرد مالتودکسترین به‌عنوان دیوارهٔ پوشش دهنده، به دلیل مقاومت کم در برابر انتقال جرم، باعث افزایش سرعت خشک کردن می‌شود[۲۸]. این نتایج یافته-های سایر محققان در مورد ریزپوشانی میوهٔ پنیری[1] و میوهٔ گاک[2] با روش خشک کردن پاششی مطابقت دارد [۲۹، ۳۰]. راندمان ریزپوشانی آستاگزانتین در ریزکپسول‌های تهیه شده از ۴۸/۷۳٪ تا ۸۳/۶۵٪ متغیر بود و در ریزکپسول‌های حاوی ترکیب یکسان دیواره‌ها بیشترین مقدار و با ترکیب دو دیواره و دیواره تنها اختلاف معنی‌داری داشتند (p<۰/۰۵). نتایج پژوهش حاضر نشان داد، استفاده از مخلوط دیواره‌های مالتودکسترین و نشاسته اصلاح شده تا نقطه مرکزی طرح مثلثی (۳۳/۳۳٪) باعث افزایش راندمان ریزپوشانی آستاگزانتین نسبت به استفاده از دیواره‌ها به تنهایی شد (P <۰/۰۵) و با افزایش بیشتر هر یک از دیواره‌ها از نقطه مرکزی، راندمان ریزپوشانی کاهش یافت. خصوصیات دیواره و مواد هسته مانند خصوصیات امولسیون‌کنندگی و پارامترهای خشک شدن از عوامل مؤثر بر راندمان ریزپوشانی می‌باشند [۳۱].

1. *Morinda cirifolia*
2. *Momordica cochinchinensis*



b



a

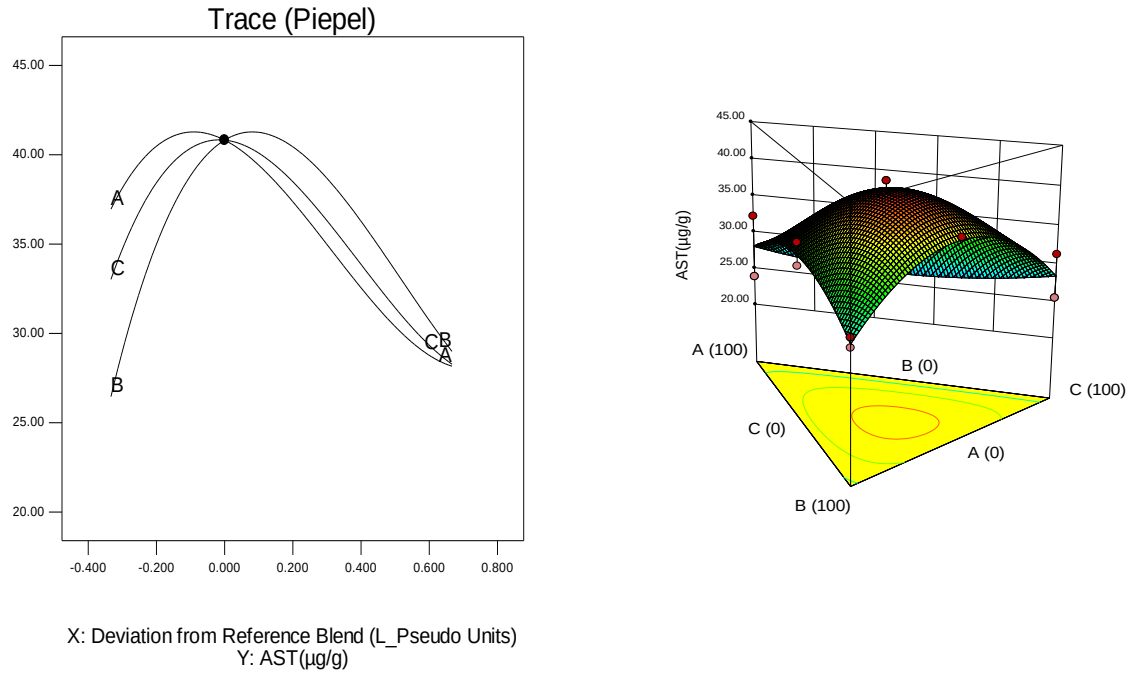
شکل (۱) تأثیر ترکیب دیواره بر میزان رطوبت ریزکپسول‌ها (Moisture: ٪). a) نمودار رویه پاسخ، b) نمودار کوکس. A، مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۷؛ B، نشاسته اصلاح شده؛ C، مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۲۰.

Fig 1. The effect of wall composition on the moisture content of the microcapsules (Moisture: %). a: Response surface plot, b) Cox plot. A, Maltodextrin with a hydrolysis degree of 7; B, Modified starch; C, Maltodextrin with a hydrolysis degree of 20.

میزان آستاگزانتین در ریزکپسول‌ها نیز با افزایش غلظت دیواره‌ها (از غلظت صفر تا میزان ۳۳/۳۳٪) ابتدا به میزان قابل توجهی افزایش و سپس با افزایش بیشتر غلظت دیواره (از ۳۳/۳۳ تا ۱۰۰٪)، کاهش یافت (جدول ۲ و شکل ۲ الف و ب). هم‌چنین، استفاده از دیوارهٔ مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۲۰ باعث حفظ بهتر آستاگزانتین نسبت به دیوارهٔ مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۷ شد.

مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز بالاتر، به علت کاهش نفوذپذیری کپسول به اکسیژن به حفظ بیشتر ترکیبات فنلی و مواد حساس در کپسول کمک می‌کند [۳۱]. ترکیب دیواره‌های مالتودکسترین و نشاسته اصلاح شده (در نقطه مرکزی طرح مثلثی)، حاکی از اثر حفاظتی بهتر ترکیب دو دیواره مالتودکسترین و نشاسته بر حفظ آستا گزانتین ریزکپسول‌ها بود.

قدرت آنتی‌اکسیدانی ریزکپسول‌های تولید شده برحسب میزان گیرندگی رادیکال آزاد از ۲۷/۳۶٪ تا ۴۹/۹۸٪ متغیر بود (جدول ۱). قدرت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به روش‌های مختلفی اندازه‌گیری می‌شود. بسیاری از آنتی‌اکسیدان‌ها با غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد از اکسایش لیپیدها ممانعت به عمل می‌آورند. برای اندازه‌گیری قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد آنتی‌اکسیدان‌ها از رادیکال‌های آزاد مختلفی مثل رادیکال‌های DPPH، پراکسی، هیدروکسیل و سوپراکسی استفاده می‌شود [۳۲]. بررسی فعالیت به دام‌اندازی رادیکال آزاد DPPH یکی از روش‌های تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. در این روش رنگ ارغوانی رادیکال‌های آزاد DPPH در اثر آنتی‌اکسیدان‌های موجود در عصاره خنثی شده و بی‌رنگ می‌گردد. لذا درجهٔ بی‌رنگ شدن این ترکیب بیانگر قدرت به دام اندازی رادیکال آزاد توسط آنتی‌اکسیدان‌های موجود می‌باشد [۳۳].

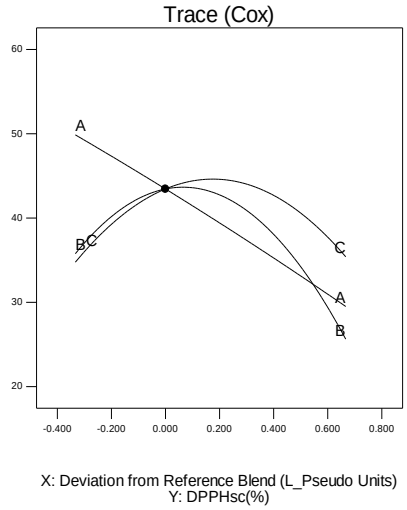


b **a**

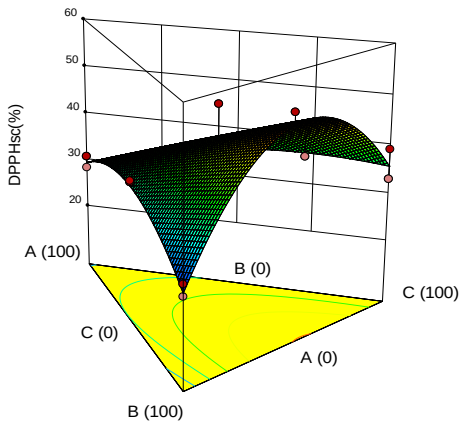
شکل (۲) تأثیر ترکیب دیواره بر میزان آستاگزانتین ریزکپسول‌ها (AST: µg/g). a) نمودار رویه پاسخ، b) نمودار کوکس. A، مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۷؛ B، نشاسته اصلاح شده؛ C، مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۲۰.

Fig 2. The effect of wall composition on the astaxanthin content of the microcapsule (AST: µg/g). a: Response surface plot, b) Cox plot. A, Maltodextrin with a hydrolysis degree of 7; B,Modified starch; C, Maltodextrin with a hydrolysis degree of 20.

با مشاهده نمودارهای کوکس و رویه پاسخ (شکل ۳، الف و ب) ملاحظه می‌شود ریزکپسول‌های تهیه شده با دیوارهٔ مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۲۰ به تنهایی نسبت به درجهٔ هیدرولیز ۷، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری بودند. هم‌چنین، ترکیب دیواره‌های مالتودکسترین و نشاسته اصلاح شده (در نقطه مرکزی طرح مثلثی) در مقایسه با مادهٔ دیوارهٔ مالتودکسترین به تنهایی، حاکی از اثر حفاظتی بهتر ترکیب دو دیواره مالتودکسترین و نشاسته بر حفظ قدرت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی عصاره بود که با نتایج به دست آمده از مقدار و راندمان ریزپوشانی آستاگزانتین نیز هم‌پوشانی داشت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی آستاگزانتین در بسیاری از تحقیقات بیان شده است. آستاگزانتین به دلیل ساختمان مولکولی‌اش، خواص شیمیایی بسیار خاصی داشته و نقش مهمی در حذف رادیکال‌های آزاد و فلزات سنگین دارد. حضور قسمت‌های هیدروکسیل و کتو بر روی حلقه یونی مسئول خواص آنتی‌اکسیدانی بالا این ترکیب می‌باشد. آستاگزانتین، هم در قسمت زنجیره کنژوگه غیر اشباع (پلی-انی) و هم در قسمت حلقه‌های ترمینال (حلقه‌های c3) رادیکال‌های آزاد را به دام می‌اندازد [۳۵،۳۴].



b



a

شکل (۳) تأثیر ترکیب دیواره بر میزان گیرندگی رادیکال آزاد ریزکپسول‌ها (DPPHsc، ٪) a) نمودار رویه پاسخ، b) نمودار کوکس. A، مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۷؛ B، نشاسته اصلاح شده؛ C، مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۲۰.

Fig 3. The effect of wall composition on the DPPH radical scavenging power of the microcapsule (DPPHsc: %). a: Response surface plot, b) Cox plot. A, Maltodextrin with a hydrolysis degree of 7; B, Modified starch; C, Maltodextrin with a hydrolysis degree of 20.

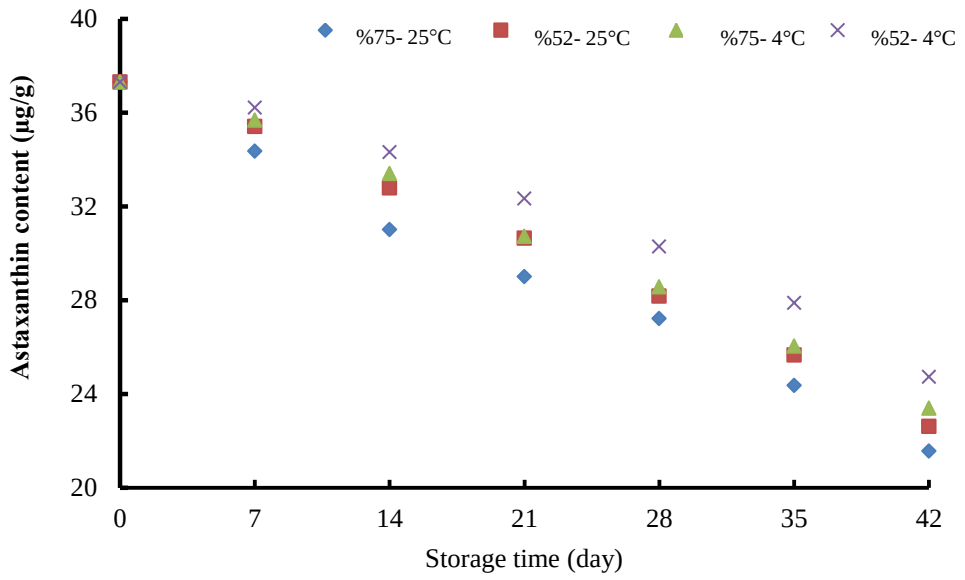
۲.۳. بهینه‌یابی

شرایط بهینه غلظت دیواره‌های مختلف برای ریزپوشانی عصاره آستاگزانتین با خشک‌کن پاششی با استفاده از بهینه‌یابی عددی و نموداری تعیین شد. بیشینه نمودن راندمان ریزپوشانی آستاگزانتین، مقدار آستاگزانتین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌عنوان اهداف مورد نظر آزمایش‌ها در تجزیه و تحلیل‌های آماری مورد نظر قرار گرفت و شرایط برای انجام فرآیند بهینه با استفاده از تابع مطلوبیت به دست آمد.

شرایط بهینه غلظت دیواره‌ها برای ریزپوشانی، ترکیب دیوارهٔ حاوی ۱۸/۴۰٪ دیوارهٔ مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۷، ۴۱/۷۸٪ دیوارهٔ نشاسته اصلاح شده و ۳۹/۸۱٪ دیوارهٔ مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۲۰ حاصل شد. در شرایط بهینه ترکیب دیواره‌ها، راندمان ریزپوشانی، میزان آستاگزانتین و قدرت گیرندگی رادیکال آزاد ریزکپسول حاصله به ترتیب ۸۲/۰۱٪، ۴۱/۱۰µg/g و ۴۶/۳۰٪ حاصل شد. برای اطمینان از صحت شرایط، آزمایش در شرایط بهینه تکرار شد. عدم وجود تفاوت معنی‌دار مقادیر حاصل از مدل‌ها و مشاهدات تجربی، کارایی مدل را به‌خوبی اثبات کرد ($P < ۰/۰۵$).

۳.۳. بررسی پایداری ریزکپسول‌ها (تأثیر دما و رطوبت نسبی محیط نگهداری)

تغییرات میزان آستاگزانتین ریزکپسول‌های حاوی ترکیب دیوارهٔ نشاسته اصلاح شده (۵۰٪) و مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۲۰ (۵۰٪) و روش خشک کردن پاششی طی ۴۲ روز نگهداری در دما و رطوبت نسبی‌های مختلف در شکل (۴) نشان داده شده است.



شکل (۴) تأثیر مدت زمان نگهداری، دما و رطوبت نسبی محیط نگهداری بر مقدار آستاگزانتین در ریزکپسول‌های تهیه شده با دیوارهٔ حاوی ترکیب نشاسته اصلاح شده (۵۰٪) و مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۲۰ (۵۰٪) در دماها و رطوبت نسبی‌های مختلف

Fig 4. The effect of storage time, temperature and relative humidity of the storage condition on the astaxanthin content of microcapsules containing modified starch (50%) and maltodextrin with a hydrolysis degree of 20 (50%) at different temperatures and relative humidity

میزان آستاگزانتین به‌صورت خطی کاهش یافت (ضریب تبیین بیش از ۰/۹۸). روند کاهشی مشابهی در میزان آستاگزانتین در سایر ریزکپسول‌ها طی ۴۲ روز نگهداری در رطوبت و دماهای مختلف مشاهده گردید (خطی با ضریب تبیین بیش از ۰/۹۰)، اما میزان آستاگزانتین نهایی نمونه‌های مختلف با یکدیگر تفاوت معنی‌داری داشت. کاهش میزان آستاگزانتین ریزکپسول‌ها می‌تواند به علت تماس زود هنگام ترکیبات سطحی یا ریزپوشانی نشده با اکسیژن و رطوبت باشد که منجر به تخریب سریع‌تر آنها در بازه‌های زمانی اولیه می‌باشد. هم‌چنین، جذب آب بالاتر در هفته‌های ابتدایی نگهداری، می‌تواند مسئول سرعت بالاتر تخریب ترکیبات آستاگزانتین در این بازه زمانی باشد؛ زیرا رطوبت بالاتر منجر به تحرک مولکولی بیشتر و در نتیجه تسهیل در واکنش‌های تخریبی می‌گردد [۳۶]. سایر محققان نیز در بررسی ماندگاری پودر ریزپوشانی شده بتاکاروتن [۳۷] و همچنین ریزکپسول‌های لیکوپن [۳۸]، کاهش سریع‌تر ترکیبات مؤثره را در روزهای اولیه نگهداری مشاهده نمودند.

به‌منظور بررسی دقیق‌تر میزان کاهش آستاگزانتین در ریزکپسول‌های مختلف نگهداری شده در شرایط مختلف محیطی، پارامترهای سینیتیکی (ثابت سرعت کاهش آستاگزانتین، K؛ نیمه عمر، $T_{1/2}$) محاسبه شد (جدول ۳). همان‌طور که از جدول (۳) مشاهده می‌شود، تجزیه آستاگزانتین ریزکپسول‌ها در تمام شرایط ارزیابی از معادله درجهٔ یک تبعیت نموده است. نتایج نشان داد ثابت سرعت واکنش در نمونه شاهد (بدون ریزپوشانی) نسبت به پودرهای ریزپوشانی شده، بسیار بالاتر بود که نشان‌دهندهٔ این واقعیت است که ریزپوشانی می‌تواند ثبات و عمر مفید ماندگاری آستاگزانتین را افزایش دهد. مواد دیواره موانع فیزیکی هستند که اثر اکسیژن، نور، گرما را بر اجزا ریزپوشانی شده کاهش می‌دهند. کاهش محتوای رطوبت و فعالیت آبی عصاره که طی ریزپوشانی اتفاق می‌افتد، از عوامل دیگر محافظت کننده‌ای هستند که به‌طور کلی بر کاهش تحرک مولکولی و افزایش پایداری ماتریکس شیشه‌ای اثر می‌گذارند [۳۱].

جدول (۳) اثر نوع و غلظت دیواره، دما و رطوبت نسبی محیط نگهداری بر ثابت سرعت واکنش، ضریب تبیین و عدد نیمه عمر ریزکپسول‌ها

Table 3. The effect of wall type and concentration, temperature and relative humidity of the storage condition on the reaction rate constant, correlation coefficient and half-life of microcapsules

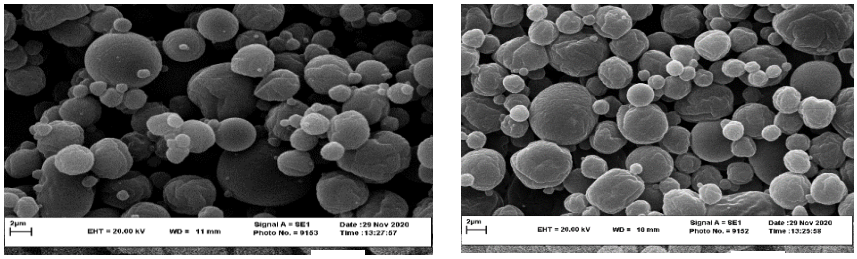
ضریب تبیین R^2	نیمه‌عمر (روز) half-life (day)	ثابت سرعت واکنش(K)(روز$^{-1}$) reaction rate constant ($k\times10^{-2}$) (day^{-1})	رطوبت‌نسبی (درصد) Relative humidity (%)	دمای نگهداری (درجهٔ‌سلسیوس) Storage temperature (C)	ترکیب دیواره(درصد) مالتو دکسترین ۲۰ MD20	نشاسته اصلاح‌شده Modified starch	مالتودکسترین۷ MD7
0.92	72.10	0.92	52	4			
0.98	59.24	1.17	52	25	50	50	0
0.98	61.89	1.12	75	4			
0.99	55.01	1.26	75	25			
0.95	44.43	1.56	52	4			
0.99	37.67	1.84	52	25	50	0	50
0.98	40.77	1.70	75	4			
0.95	35.36	1.16	75	25			
0.95	48.47	1.43	52	4			
0.98	36.67	1.89	52	25	100	0	0
0.97	37.88	1.83	75	4			
0.95	33.16	2.09	75	25			
0.96	63.01	1.10	52	4			
0.99	49.87	1.39	52	25	0	50	50
0.97	54.15	1.28	75	4			
0.96	49.51	1.40	75	25			
0.95	50.97	1.36	52	4			
0.98	35.36	1.96	52	25	0	0	100
0.97	41.51	1.67	75	4			
0.96	32.70	2.12	75	25			
0.96	78.77	0.880	52	4			
0.99	60.80	1.14	52	25	16.67	66.67	16.67
0.99	69.31	1.00	75	4			
0.98	51.34	1.35	75	25			
0.99	47.48	1.46	52	4			
0.97	41.01	1.69	52	25	0	100	0
0.99	41.26	1.68	75	4			
0.98	39.61	1.75	75	25			
0.93	71.46	0.97	52	4			
0.98	56.82	1.22	52	25	66.67	16.67	16.67
0.95	60.80	1.14	75	4			
0.98	46.52	1.49	75	25			
0.98	62.45	1.11	52	4			
0.98	54.15	1.28	52	25	16.67	16.67	66.67
0.99	57.28	1.21	75	4			
0.98	45.90	1.51	75	25			
0.97	92.42	0.75	52	4			
0.99	70.73	0.98	52	25	33.33	33.33	33.33
0.99	74.53	0.93	75	4			
0.98	45.60	1.80	75	25			
0.97	94.93	0.73	52	4			
0.99	77.02	0.90	52	25	39.81	41.78	18.40
0.97	71.46	0.97	75	4			
0.99	55.45	1.25	75	25			

نتایج نشان داد مواد دیواره بر ثابت سرعت تجزیه آستاگزانتین تأثیر گذاشتند، نمونه‌های ریزپوشانی شده با ترکیب دیوارهٔ حاوی ترکیب دیوارهٔ بهینه (ترکیب دیوارهٔ حاوی ۱۸/۴۰٪ دیوارهٔ مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۷، ۴۱/۷۸٪ دیوارهٔ نشاسته اصلاح شده و ۳۹/۸۱٪ دیوارهٔ مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۲۰)، ترکیب دیواره یکسان از دیواره‌ها و ترکیب مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۲۰ (۱۶/۶۷٪) و نهایتاً ترکیب دیواره مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۷ (۱۶/۶۷٪)، نشاسته اصلاح شده (۱۶/۶۷٪) و مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۲۰ (۶۶/۶۷٪) در دمای ۴°C و رطوبت نسبی ۵۲/۸۹٪ به ترتیب کمترین مقدار ثابت سرعت واکنش و بیشترین نیمه‌عمر نگهداری آستاگزانتین را داشتند. تجزیه رنگدانه آستاگزانتین، همانند اغلب واکنش‌های شیمیایی با تحرک واکنش‌گرها کنترل می‌شود و رطوبت نسبی و دما نقش مهمی در تخریب آن ایفا می‌کنند.

افزایش محتوای آب، باعث تحرک مولکولی بیشتر و سبب سرعت بخشیدن به واکنش‌های فیزیکوشیمیایی تجزیه می‌شود در حالی که رطوبت نسبی کم با سطوح قطبی سطحی به طور محکم متصل شده و برای هیچ واکنش‌گری در دسترس نیست.

۴.۳. ویژگی‌های سطحی

تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی با بزرگنمایی ۵۰۰۰ برای به دست آمده از ترکیب دیواره بهینه (دیوارهٔ حاوی ۱۸/۴۰٪ دیوارهٔ مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۷، ۴۱/۷۸٪ دیوارهٔ نشاسته اصلاح شده و ۳۹/۸۱٪ دیوارهٔ مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۲۰) و ترکیب دیواره حاوی ترکیب یکسان از دیواره‌ها (ترکیب حاوی ۳۳/۳۳٪ از هر یک از دیواره‌ها) که دارای آستاگزانتین بالاتری بودند، در شکل (۵) آورده شده است.



b a

شکل (۵) مشاهدات میکروسکوپ الکترونی روبشی با بزرگنمایی ۵۰۰۰ در ریزکپسول‌های حاوی ترکیبات دیواره مختلف a) مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۷ (۳۳/۳٪)، نشاسته اصلاح شده (۳۳/۳٪)، درجهٔ هیدرولیز ۲۰ (۳۳/۳٪)، b) مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۷ (۱۸/۴۰٪)، نشاسته اصلاح شده (۴۱/۷۸٪)، مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۲۰ (۳۹/۸۱٪)،

Fig 5. Scanning electron micrographs of encapsulated powders containing different wall material a) Maltodextrin with a hydrolysis degree of 7 (33.33%), modified starch (33.33%) and, maltodextrin with a hydrolysis degree of 20 (33.33%) b) Maltodextrin with a hydrolysis degree of 7 (18.40%), modified starch (41.78%) and, maltodextrin with a hydrolysis degree of 20 (39.81%^)

چنان‌که ملاحظه می‌شود، ریزکپسول‌های حاصل، کروی شکل و دارای سطح صاف، بدون شکاف بودند و حداقل آگلومریزاسیون و انحنا را در سطح داشتند. عدم وجود شکاف یا ترک در سطح ریزکپسول، نشان‌دهندهٔ عدم نفوذپذیری دیواره و درنتیجه عدم خروج راحت ترکیبات هسته می‌باشد. ایجاد چین و چروک‌های سطحی و حفرات در سطح ریزکپسول، احتمالاً بیانگر اثر تنش‌های مکانیکی و شرایط خشک‌کردن بر مواد دیوار می‌باشد.

۴. نتیجه‌گیری

در این پژوهش تأثیر نوع مادهٔ دیواره (مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۷ و ۲۰ و نشاسته اصلاح شده) و ترکیب آنها بر برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ریزکپسول‌های تولید شده از پوسته میگو (حاوی ترکیب ارزشمند آستاگزانتین) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که میزان از دست رفتن آستاگزانتین به طور قابل ملاحظه‌ای به نوع، غلظت و ترکیب مواد دیواره بستگی دارد. به طوریکه میزان

آستاگزانتین و قدرت آنتی‌اکسیدانی ریزکپسول‌های تهیه شده با مخلوط دیواره‌های یکسان (۳۳/۳۳٪ از هریک از دیواره‌ها) و مخلوط دیوارهٔ مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۷ (۱۶/۶۷٪)، نشاسته اصلاح شده (۱۶/۶۷٪) و مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۲۰ (۶۶/۶۷٪) به ترتیب نسبت به سایر ترکیبات دیواره‌ها بیشتر بود. شرایط بهینه غلظت دیواره‌ها محاسبه شده با استفاده از نرم‌افزار سطح پاسخ و طراحی شبکه یک‌طرفه با نقاط محوری ارتقاء یافته در طرح مخلوط دیوارهٔ حاوی ترکیب ۳۳/۴۱٪ دیوارهٔ مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۷، ۳۵/۸۴٪ دیوارهٔ نشاسته اصلاح شده و ۳۰/۷۵٪ دیوارهٔ مالتودکسترین با درجهٔ هیدرولیز ۲۰ به دست آمد. نتایج ارزیابی پایداری ریز کپسول‌ها در شرایط مختلف محیط نگهداری نیز نشان داد نوع و غلظت مواد دیواره، دما و رطوبت نسبی بر ثابت سرعت تجزیه آستاگزانتین مؤثر هستند. در دمای ۴°C و رطوبت نسبی ۵۲٪، ریزکپسول‌های تهیه شده با ترکیب دیوارهٔ بهینه و ترکیب حاوی مقادیر یکسان از دیواره‌ها با سطحی صاف، بدون شکاف و حداقل آگلومریزاسیون و انحنا دارای بیشترین نیمه عمر و پایداری بودند.

تشکر و قدردانی

مقاله پژوهشی حاضر با حمایت مالی صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (INSF) و موسسه تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی انجام شده است. بدینوسیله مراتب تشکر و قدردانی بعمل می آید.

منابع

[1] Norshazila, S., Irwandi, J., Othman, R., & Yumi Zuhanis, H. H. (2012). Scheme of obtaining β-carotene standard from pumpkin (*Cucurbita moschata*) flesh. *Int. Food Res. J.*, *19(2)*, 531–535.

[2] Astaxanthin market sources technologies and applications- to- 2023. 2018. URL https://www. globenewswire.com/news release. Accessed 2018/08/27/1556723/0/en/global.

[3] Panis, G., & Rosales Carreon, J. (2016). Commercial astaxanthin production derived by green alga *Haematococcus pluvialis*: A microalgae process model and a techno-economic assessment all through production line. *Algal Res.*, *18*, 175–190.

[4] Pérez-López, P., González-García, S., Jeffryes, C., Agathos, S.N., McHugh, E., Walsh, D., & Moreira, M.T. (2014). Life cycle assessment of the production of the red antioxidant carotenoid astaxanthin by microalgae: from lab to pilot scale. *J. Clean. Prod.*, *64*, 332–344.

[5] Delgado-Vargas, F., & Paredes-Lopez, O.(2003). *Natural colorants for food and nutraceutical uses*. Boca Raton, FL: CRC Press.

[6] Statistical yearbook of Iran fisheries organization. (2019). Iran fisheries organization, Deputy of planning and resource management, Planning and budget office, Planning and statistics department. [In Persian]

[7] Yoon, S.O., & Hee-Sook, J.(2014). Role of bioactive food components in diabetes prevention: effects on beta-cell function and preservation. *Nutr. Metab. Insights*, *7*, 51–59.

[8] Mendes-Pinto, M., Raposo, M., Bowen, J., Young, A.J., & Morais, R. (2001).Evaluation of different cell disruption process on encysted cells of *Haematococcus pluvialis*: effects on astaxanthin recovery and implications for bioavailability. *J Appl Phycol.*, *13*, 19–24.

[9] Zhou, Q., Yang, L., Xu, J., Qiao, X., Li, Z., Wang, Y., & Xue, C. (2018). Evaluation of the physicochemical stability and digestibility of microencapsulated esterified astaxanthins using in vitro and in vivo models. *Food Chem.*, *260*, 73–81.

[10] Soukoulis, C., & Bohn, T. (2018). A comprehensive overview on the micro-and nano-technological encapsulation advances for enhancing the chemical stability and bioavailability of carotenoids. *Crit Rev Food Sci Nutr.*, *58(1)*, 1–36.

[11] Madene, A., Jacquot, M., Scher, J. & Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release-a review. *Int. J. Food Sci. Technol.*, *41*, 1-21.

[12] Apintanapong, M., & Noomhorm, A. (2003). The use of spray-drying to microencapsulated 2-acetyl-1-pyroline, a major flavour component of aromatic rice. *Food Sci. Technol.*, *38*, 95-102.

[13] Tesch, S., Gerhards C., & Schubert H. (2002). Stabilization of emulsions by OSA starches. *J. Food Eng.*, *54(2)*, 167–174.

[14] Jafari, S. M., He Y., & Bhandari B. (2007). Effectiveness of encapsulating biopolymers to produce sub-micron emulsions by high energy emulsification techniques. *Food Res. Int.*, *40*, 862–873.

[15] Beristain, C.I., Vazquez, A., Garcia, H.S., & Vernon-Carter, E.J. (1996). Encapsulation of orange

peel oil by co-crystallization. *Lebensm. Wiss. Technol*., *29*, 645-647.

[16]Baranauskiene, R., Bylaite, E., Zukauskaite, J., & Venskutonis, P. (2007). Flavour retention of peppermint essential oil spray-dried in modified starches during encapsulation and storage. *J. Agric. Food Chem*., *55 (8)*, 3027-3036.

[17] Silva, V.M., Vieira, G.S., & Hubinger, M.D. (2014). Influence of different combinations of wall materials and homogenization pressure on the microencapsulation of green coffee oil by spray drying, *Food Res. Int.*, *61*, 132–143.

[18] Krishnan, S., Bhosale, R., & Singhal, R. S. (2005). Microencapsulation of cardamom oleoresin: Evaluation of blends of gum arabic, maltodextrin and a modified starch as wall materials. *Carbohydr. Polym*., *61*, *95*, 102. 13.

[19] Yolmeh, M., Habibi Najafi, M.B., & Farhoosh, R. (2014). Optimization of ultrasound-assisted extraction of natural pigment from annatto seeds by response surface methodology (RSM). *Food Chem.*, *155*,319–324.

[20] Bas, D., & Boyac, I. (2007). Modeling and optimization II: Comparison of estimation capabilities of response surface methodology with artificial neural networks in a biochemical reaction. *J. Food Eng*., *78*, 846-854.

[21] Badee, A., Amal, E., El- Kader, A., & Hanan, M. A. (2012). Microencapsulation of peppermint oil by spray drying. *Aust. j. basic appl. sci*., *6(12)*, 499-504.

[22] Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.*, *28*, 25–30.

[23] Najaf Najafi, M., Kadkhodaee, R. & Mortazavi, S. A. (2011). Effect of drying process and wall material on the properties of encapsulated cardamom oil. *Food Biophys*., *6*, 68–76.

[24] Sachindra, N.M. & Mahendrakar, N.S. (2005). Process optimization for extraction of carotenoids from shrimp waste with vegetable oils. *Bioresour. Technol*., *96*, 1195–1200.

[25]Barbosa, M.I., Borsarelli, C.D., & Mercadante, A.Z. (2005). Light stability of spray-dried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations. *Food Res. Int.*, *38*, 989–94.

[26] Ahmed, M., Sorifa Akter, M.S.T., Jin-Cheol, L., & Jong-Bang Eun, C. (2010). Encapsulation by spray drying of bioactive components, physicochemical and morphological properties from purple sweet potato. *LWT - Food Sci Technol*., *43*, 1307-1312.

[27] Gradinarua, G., Biliaderisb, C. G., Kallithrakac, S., Kefalasa, P., & Garcia-Viguerad, C. (2003). Thermal stability of *Hibiscus sabdariffa* L. anthocyanins in solution and in solid state: effects of copigmentation and glass transition. Food Chem., *83(3)*, 423–436.

[28] Ezbilarasi, p. N., Iena, B. S., & Anandharamakrishnan, C. (2014). Microencapsulation of Garcinia Fruit extract by spray drying and its effect on bread quality. *J. Sci. Food Agric*., *94(6)*, 1116-1123.

[29] Krishnaiah, D., Sarbatly, R., & Nithyanandam, R. (2012). Microencapsulation of *Morinda citrifolia* L. extract by spray-drying. *Chem Eng Res Des*., *90(5)*, 622-632.

[30] Tuyen, C. K., Nguyen. M. H., & Roach, P. D.(2010). Effects of spray drying conditions on the physicochermical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinensis*) fruit aril powder. *J. Food Eng*., *98(3)*, 385-392.

[31] Jafari, s. M., Assadpoor, E., He, Y., & Bhandari, B. (2008). Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. *Dry. Technol*., *26(7)*, 816-835.

[32] Wanasundara, P.K., & Shahidi, F. (2005). *Antioxidants: science, technology, and applications*. In Bailey's industrial oil and fat products. Shahidi, F. (Eds). John Wiley & Sons, Inc. New Jersey.

[33] Nikmaram, P., Mousavi, S. M., Emam-Djomeh, Z., Kiani, H., & Razavi, S. H. (2015). Evaluation and prediction of metabolite production, antioxidant activities, and survival of *Lactobacillus casei* 431 in a pomegranate juice supplemented yogurt drink using support vector regression. *Food Sci. Biotechnol*., *24(6)*, 2105-2112.

[34] Kishimoto, Y., Tani, M., Uto-Kondo, H., Iizuka, M., Saita, E., Sone, H., Kurata, H., & Kondo, K. (2010). Astaxanthin suppresses scavenger receptor expression and matrix metalloproteinase activity in macrophages. *Eur. J. Nutr*., *49*, 119–126.

[35] Goto, S. Kogure, K., Abe, K., Kimata, Y., Kitahama, K., Yamashita, E., & Terada, H. (2001). Efficient radical trapping at the surface and inside the phospholipid membrane is responsible for highly potent antiperoxidative activity of the carotenoid astaxanthin. *Biochim. Biophys Acta*., *1512*, 251–258.

[36] Tonon, R. V., Brabet, C., & Hubinger, M. D. (2010). Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray dried acai (*Euterpe oleraeea Mart*) juice produced with different carrier agents. *Food Res. Int.*, *43(3)*, 907-914.

[37] Desobry, S.A., Netto, F.M., & Labuza, T.P. (1997). Comparison of spray-drying, drum drying and freeze-drying for β-carotene encapsulation and preservation. *Food Sci.*, *6*, 1158-1162.

[38] Matioli, G., & Rodriguez- Amaya, D. (2003). Lycopene encapsulated with gum Arabic and maltodextrin: stability study. *Braz. J. Food Technol*., *5*, 197-203.

Research Article

Optimization of microencapsulation and stability evaluation of astaxanthin-rich shrimp shell extract

Parvin Sharayei[1*], Elham Azarpazhooh[2], Shahin Zomorodi[3], Soodabeh Einafshar[2]

1. Associate Professor, Agricultural Engineering Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad
2. Assistant Professor, Agricultural Engineering Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad
3. Associate Professor, Agricultural Engineering Research Department, West Azerbaijan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Urmia

Abstract

The goal of this research was to find the best way to use shrimp shell as a source of astaxanthin and as an agricultural waste in shrimp processing site. For this purpose, first shrimp shell extract was extracted with the assisting ultrasonic (25% amplitude for 13.90 min at 27°C) and with petroleum ether / acetone / water solvent with a ratio of 15:75:10. Then it was encapsulated using different walls (modified starch and maltodextrin with hydrolysis degree of 7 and 20) and spray drying method. Wall composition design was performed using response surface method and simplex lattice design with augmented axial points in mixture design (14 wall compositions). Evaluation of physicochemical properties of microcapsules (moisture content, microencapsulating efficiency, astaxanthin content and antioxidant power) showed that the use of a mixture of maltodextrin and modified starch walls up to the center point of the triangular design (33.33%) improved the physicochemical properties compared to using of walls alone. Optimization of different wall concentrations for microencapsulation of shrimp shell extract containing astaxanthin using numerical and graphical optimization showed that the optimal wall composition containing 18.40% of maltodextrin with a hydrolysis degree7, 41.78% of modified starch and 39.81% of maltodextrin with a hydrolysis degree 20. Also, the stability of astaxanthin in microcapsules during 42 days of storage in different conditions of temperature (4 and 25°C) and humidity (52 and 75%) showed that the amount of astaxanthin decreased linear in all samples (linear coefficient more than 98%), but the amount of final astaxanthin in different samples was significantly different from each other ($p < 0.5$). Reducing the temperature and relative humidity of the storage environment resulted in better preservation of astaxanthin in microcapsules and microcapsules containing optimal wall composition and equal composition of each walls at 4°C and relative humidity of 52% had the highest stability of astaxanthin with half-life 94.93 and 92.42 days, respectively compared to other microcapsules.

Keywords: Astaxanthin, Maltodextrin, Modified starch, Mixture design, Half-life.

∗ Corresponding author: p.sharayei@areeo.ac.ir