

اثر ترکیب دیواره بر ویژگی‌های کانتاگزانتین طبیعی ریزپوشانی شده به روش خشک‌کن پاششی

محمد حجتی¹، سیده‌ادی رضوی²، کرامت الله رضایی²، کامبیز گیلانی³

1- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، اهواز، ایران، پست الکترونیکی: hojjatim@yahoo.com

2- استاد گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

3- استادیار گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: 91/11/14

تاریخ پذیرش: 92/2/20

چکیده

سابقه و هدف: کانتاگزانتین کتوکاروتنوئیدی است که در صنایع دارویی، پزشکی، آرایشی، آبزیان، ماکیان و غذایی به کار می‌رود. با توجه به محدودیت مصرف رنگدانه‌های مصنوعی در صنایع غذایی، تولید کانتاگزانتین از منابع طبیعی افزایش یافته است. کانتاگزانتین ملکولی غیراشباع بوده که نسبت به عوامل محیطی حساس است. ریزپوشانی با خشک‌کن پاششی روشی برای حفظ کاروتنوئیدها در مقابل عوامل محیطی است که در این تحقیق جهت پایداری کانتاگزانتین استخراجی از منبع میکروبی به کار رفته است. هدف از این تحقیق مقایسه تأثیر چند دیواره پوششی پلی‌ساکاریدی بر ویژگی‌ها و پایداری کانتاگزانتین ریزپوشانی شده بود.

مواد و روش‌ها: از باکتری *دایتریا ناترونولیمنا* جهت تولید کانتاگزانتین استفاده شد. ریزپوشانی کانتاگزانتین با صمغ عربی، مالتودکسترین و پولولان به عنوان پوشش دیواره و با روش خشک‌کن پاششی صورت پذیرفت. اثر افزودن مالتودکسترین و پولولان در ترکیب با صمغ عربی به عنوان پوشش دیواره، بر ویژگی‌ها و پایداری ریزکپسول‌های تولیدی بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج نشان از عدم تأثیر نوع دیواره بر میزان رطوبت و فعالیت آبی ریزکپسول‌ها و تأثیر معنی‌دار بر سایر ویژگی‌های مورد بررسی داشت. ترکیب دیواره‌ای صمغ عربی و پولولان دارای کوچک‌ترین اندازه و کمترین کاروتنوئید سطحی بود در حالی که ریزکپسول‌های تهیه شده از مالتودکسترین دارای بزرگ‌ترین اندازه ذرات و کمترین میزان کارایی بودند. نتایج نشان داد که تخریب کاروتنوئید ریزکپسول تهیه شده از ترکیب دیواره پولولان و صمغ عربی بسیار کندتر از ریزکپسول تهیه شده از مالتودکسترین طی شش ماه نگهداری بوده است.

نتیجه‌گیری: این تحقیق نشان داد که ریزپوشانی به روش خشک‌کن پاششی و استفاده از ترکیب پولولان و صمغ عربی می‌تواند موجب حفظ رنگدانه کانتاگزانتین طبیعی گردد.

واژگان کلیدی: کانتاگزانتین، ریزپوشانی، خشک‌کن پاششی، پولولان، صمغ عربی

• مقدمه

محصولات طبیعی و هم‌چنین محدودیت مصرف رنگدانه‌های مصنوعی در مواد غذایی، استخراج کاروتنوئیدها از منابع طبیعی (به ویژه میکروارگانیسم‌ها) افزایش یافته است (3). کانتاگزانتین مانند سایر کاروتنوئیدها به واسطه داشتن پیوندهای دو گانه مزدوج متعدد و ساختمانی غیر اشباع به عوامل محیطی حساس بوده و به راحتی تغییر ساختار فضایی داده و یا اکسید می‌شود که در نهایت رنگ و ویژگی‌های تغذیه‌ای و بیولوژیکی خود را از دست می‌دهد (4, 5).

کانتاگزانتین (4 و 4- دی کتو - بتا کاروتن) کتوکاروتنوئید پرتقالی رنگی است که به واسطه داشتن ویژگی‌های ضد اکسیداسیونی کاربرد وسیعی در پزشکی، داروسازی، صنایع آرایشی، غذایی، پرورش آبزیان و ماکیان پیدا کرده و به عنوان یک رنگ خوراکی در انواع سس، سوپ، شیرینی، نوشابه، بستنی، فرآورده‌های لبنی، گوشتی و دریایی مصرف می‌شود (1, 2).

امروزه عمده کاروتنوئید مصرفی به صورت مصنوعی تولید می‌شود ولی با توجه به افزایش درخواست مصرف‌کنندگان به

صمغ عربی به دلیل داشتن خاصیت امولسیفایری، رایج‌ترین ماده پوششی مورد استفاده در ریزپوشانی ترکیبات حساس از جمله کاروتنوئیدها می‌باشد (6-8) ولی با توجه به محدودیت تولید صمغ عربی به چند کشور آفریقایی، استفاده از مواد دیگر جهت ترکیب با آن به منظور جایگزینی قسمتی از آن مورد توجه می‌باشد (8).

پولولان همو پلی ساکاریدی خطی شامل تعداد زیادی ملکول‌های مالتوتریوز با اتصالات آلفا 1 به 6 است که به خوبی در آب حل شده و محلولی شفاف و چسبنده ایجاد می‌کند (14).

مقاوم به حرارت بودن، خاصیت انعطاف پذیری مناسب و نفوذناپذیر بودن فیلم پولولان به اکسیژن موجب کاربرد وسیع آن به عنوان پوشش آب نباتهای شفاف و فرآورده‌های قنادی و مواد دارویی شده است (14، 15).

استفاده از پولولان به عنوان ماده دیواره در ریزپوشانی رنگدانه حاصل از چغندر قند به روش خشک‌کن انجمادی موجب افزایش پایداری رنگ ریزکپسول‌ها در شرایط مختلف دمایی و رطوبتی شده است (16). هم‌چنین اضافه شدن پولولان به امولسیون روغن در آب تهیه شده از الئورزین زردچوبه با صمغ عربی و مالتودکسترین، موجب افزایش پایداری امولسیون و راندمان ریزپوشانی شده است (17).

با توجه به اینکه تاکنون تحقیقی مبنی بر ریزپوشانی رنگ طبیعی کانتاگزانتین با خشک‌کن پوششی صورت نپذیرفته است این تحقیق با هدف ریزپوشانی کانتاگزانتین طبیعی تولیدی از یک منبع میکروبی، مقایسه تأثیر افزودن مالتودکسترین و پولولان به صمغ عربی به عنوان مواد پوشش دهنده و بررسی پایداری و ویژگی‌های ریزکپسول‌های تولیدی صورت گرفت.

• مواد و روش‌ها

مواد: صمغ عربی و محیط‌های کشت میکروبی از شرکت مرک آلمان خریداری شدند. مالتودکسترین با معادل دکستروز 22 از شرکت دکستروز ایران (قزوین)، پولولان از شرکت هیاشیبارا ژاپن و ملاس چغندر قند از کارخانه قند قزوین تهیه شدند.

تولید رنگدانه کانتاگزانتین: در این تحقیق از باکتری *دایتزیا ناترونولیمنا* *HS-1* موجود در آزمایشگاه مهندسی فرایندهای زیستی دانشگاه تهران جهت تولید رنگدانه کانتاگزانتین استفاده شد. کانتاگزانتین تشکیل دهنده بیش از 90 درصد کل کاروتنوئیدهای تولیدی این سویه بوده و به

ریزپوشانی با استفاده از خشک‌کن پوششی رایج‌ترین روش حفظ مواد فعال و حساس محلول در چربی ترکیبات غذایی همچون مواد معطر، اسانس‌های روغنی، الئورزین‌های ادویه‌جات، اسیدهای چرب، روغن‌های خوراکی، آنتی‌اکسیدان‌ها، روغن ماهی، پروبیوتیک‌ها و مواد رنگی بوده که موجب افزایش پایداری این ترکیبات شده است (6).

این روش دارای چهار مرحله آماده‌سازی امولسیون با مخلوط دیواره و هسته، همگن سازی امولسیون حاصله، پاشش امولسیون توسط نازل در محفظه تبخیر و در نهایت آبیگری از ذرات پاشیده شده توسط هوای داغ و تولید ذرات ریز جامد می‌باشد. در این روش از مواد متنوعی به صورت تکی یا ترکیبی به عنوان پوشش دهنده استفاده می‌شود (7). موادی که به عنوان دیواره یا پوشش در ریزپوشانی با خشک‌کن پوششی به کار می‌روند باید به خوبی محلول در آب باشند و به همین دلیل موادی همچون صمغ عربی، مالتودکسترین‌ها، نشاسته‌های تغییر یافته و مخلوط آن‌ها در این روش کاربرد فراوانی دارند (8).

تاکنون مواد مختلفی نظیر مالتودکسترین با معادل‌های دکستروز متفاوت، مونو و دی ساکاریدها، ژلاتین، صمغ عربی و انواع پلی ساکاریدهای محلول در آب به عنوان دیواره در ریزپوشانی کاروتنوئیدها به روش خشک‌کن پوششی به کار گرفته شده‌اند (8-16). استفاده از مالتودکسترین با معادل دکستروز بالا به عنوان دیواره پوششی و افزودن مونو و دی ساکارید به آن موجب افزایش پایداری رنگ بتاکاروتن شده است (9، 10).

Barbosa و همکاران (2005) با ریزپوشانی بیکسین حاصل از درخت آتاتو با صمغ عربی و مالتودکسترین مشاهده کردند که زمان نگهداری پیگمان‌های رنگی تا ده برابر افزایش یافت (11). در تحقیق دیگری پوشش لیکوپین با ترکیب ژلاتین/گلوکز پایداری پیگمان‌ها را افزایش داد به طوری که طی دو ماه نگهداری تنها 20% کاهش رنگ در لیکوپین ریزپوشانی شده در مقایسه با تخریب کامل لیکوپین بدون پوشش مشاهده شد (12). *Loksuwan* (2007) طی ریزپوشانی بتاکاروتن مشاهده کرد که استفاده از نشاسته تغییر یافته کاساوا به جای مالتودکسترین به عنوان دیواره، پایداری بتاکاروتن را بیشتر افزایش داده و ذرات ریزپوشانده شده کوچک‌تر با اندازه‌هایی یکنواخت‌تر ایجاد می‌کند (13).

ریزساختار ریزکپسول ها: جهت بررسی ریزساختار بیرونی پودرهای تولیدی از دستگاه میکروسکوپ الکترونی (مدل MV 2300، شرکت Cambridge انگلستان) استفاده شد. جهت استفاده از میکروسکوپ الکترونی نمونه ها ابتدا باید با لایه نازکی از طلا توسط یک دستگاه Scatter پوشانده شوند و به همین منظور نمونه ها توسط یک دستگاه پوشاننده (مدل E5200 Automatic، شرکت Oxford انگلستان) به مدت 5 دقیقه تحت تاثیر طلا قرار گرفته و لایه بسیار نازکی از طلا در حد چند میکرومتر روی نمونه ها قرار گرفت و سپس در بزرگنمایی های مشخص عکس های مورد نظر توسط میکروسکوپ الکترونی تهیه شد.

توزیع اندازه ذرات ریز کپسول: جهت بررسی توزیع اندازه ذرات ریزکپسول های تولیدی از دستگاه مخصوص اندازه گیری ذرات (مدل Malvern 2000، شرکت Worcestershire انگلستان) استفاده شد. جهت سنجش اندازه ذرات پودرهای تولیدی ابتدا مقدار کمی از آن ها در 2- پروپانول حل و سپس چند قطره از آن به مخزن حوضچه مانند دستگاه که حاوی آب بود اضافه شد. اندازه گیری ذرات بر اساس تفرق نور لیزر و با چند بار مکش آب مخزن که حاوی نمونه بود انجام پذیرفت.

بازده فرایند ریزپوشانی (Microencapsulation Yield):

میزان بازدهی سیستم ارتباط زیادی با شرایط و تجهیزات فرایند دارد. بازده فرایند ریزپوشانی (MY) براساس رابطه ذیل از تقسیم میزان ریزکپسول حاصله بر مقدار ماده جامد موجود در امولسیون تزریقی به خشک کن به دست می آید (21):

$$\text{رابطه 1} \quad \text{MY}\% = \left(\frac{M_2}{M_1} \right) \times 100$$

MY: بازده فرایند ریزپوشانی

M₂: مقدار ریزکپسول حاصل از ریزپوشانی

M₁: میزان مواد جامد موجود در امولسیون

میزان کارایی (Microencapsulation Efficiency): با

داشتن میزان کاروتنوئید کل (Total Carotenoid) و کاروتنوئید سطحی (Surface Carotenoid) و با استفاده از رابطه زیر (22) میزان کارایی (ME) ریزپوشانی محاسبه شد:

$$\text{رابطه 2} \quad \text{ME}\% = \left(\frac{TC - SC}{TC} \right) \times 100$$

ME: میزان کارایی ریزپوشانی

TC: میزان کانتاگزانتین کل

SC: میزان کانتاگزانتین سطحی

عنوان منبع بی نظیری برای تولید این پیگمان با درجه خلوص بالا معرفی شده است (18-20).

جهت تولید رنگدانه، کلونی های این باکتری به ارلن های حاوی محیط کشت مایع متشکل از ملاس چغندر قند و عصاره مخمر منتقل و به مدت هفت روز در دمای 28°C در انکوباتور چرخشی (مدل S150، شرکت Staffordshire ساخت انگلستان) نگهداری شدند. جهت استخراج رنگدانه های تولید شده از توده زیستی از محلول رقیق نمکی و اتانول استفاده شد و در نهایت به منظور حذف اتانول و تهیه کاروتنوئید خالص از تبخیرکننده چرخشی تحت خلأ (مدل 4010، شرکت Schwabach ساخت انگلستان) استفاده شد (20).

تولید ریزکپسول کانتاگزانتین: جهت تهیه امولسیون ابتدا محلول 10% مواد پوششی (شامل محلول تهیه شده از صمغ عربی، صمغ عربی المالتودکسترین و صمغ عربی/پولولان) تهیه و با توجه به نتایج تحقیق پیشین در خصوص تعیین بهترین نسبت دیواره به رنگدانه، کانتاگزانتین به نسبت 1 به 4 به مواد پوششی اضافه شد (18). مالتودکسترین و پولولان هریک جایگزین حدود یک سوم از صمغ عربی شدند. جهت تهیه امولسیونی با ذرات یکنواخت از هموژنایزر دو مرحله ای فشار قوی (APV Homogenisers 2000، Albertslund، دانمارک) استفاده شد. جهت ریزپوشانی رنگدانه کانتاگزانتین، امولسیون تهیه شده به یک خشک کن پاششی آزمایشگاهی (Büchi, mini 191B, Büchi Laboratoriums- Technik, Flawil, Switzerland) با قطر نازل 0/5 میلی متر و قطر و ارتفاع محفظه تبخیر 10/5 و 44 سانتی متری تزریق شد. دمای ورودی و خروجی به ترتیب حدود 160 و 90 درجه سانتی گراد و سرعت تزریق امولسیون 3 لیتر در ساعت تنظیم شد.

میزان رطوبت و فعالیت آبی (a_w) ذرات ریزپوشانی

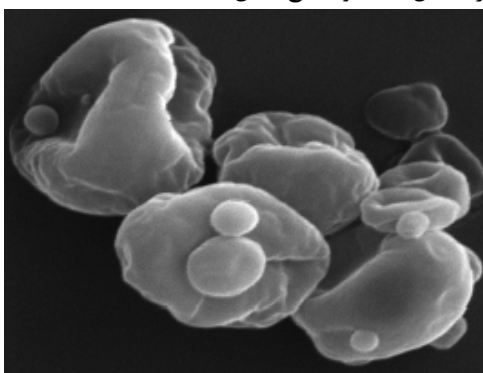
شده: اندازه گیری رطوبت ذرات با قرار دادن حدود یک گرم پودر در آون 105 درجه سانتی گراد به مدت یک شبانه روز صورت پذیرفت. برای اندازه گیری فعالیت آبی ریزکپسول ها از دستگاه (Aw-sprint TH500, Novasina, Pfäffikon, Switzerland) استفاده شد.

ویسکوزیته امولسیون رنگدانه کانتاگزانتین و مواد

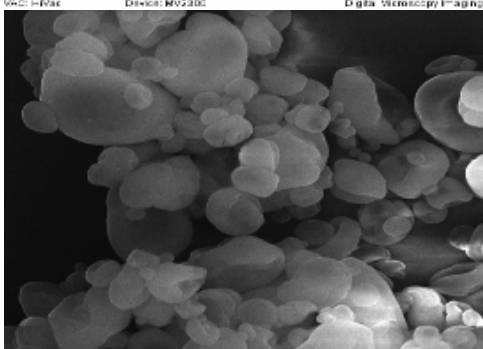
پوششی: برای اندازه گیری میزان ویسکوزیته امولسیون های تهیه شده از دستگاه ویسکوزیتر بروکفیلد (Middleboro، آمریکا) استفاده شد.

میزان رطوبت نمونه‌ها 0/71-0/76 درصد و میزان فعالیت آبی نمونه‌ها 0/08-0/09 بود.

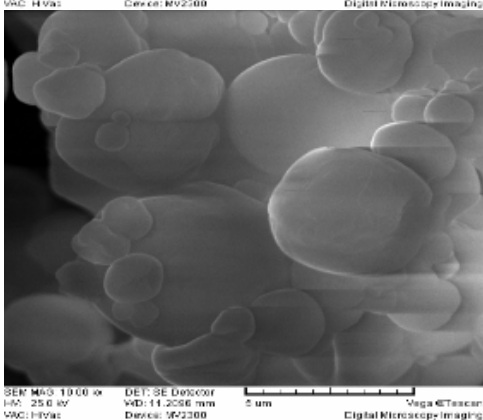
تأثیر ترکیبات دیواره بر تصاویر میکروسکوپی: تصاویر ذرات ریزکپسول که با میکروسکوپ الکترونی تهیه شدند ویژگی‌های سطح ظاهری و اثر ترکیبات دیواره بر ریزساختار ذرات را به خوبی نشان می‌دهد. تصویر الکترونی ریزکپسول تهیه شده با صمغ عربی در شکل 1-الف و تصاویر الکترونی حاصل از افزودن مالتودکسترین و پولولان به صمغ عربی به ترتیب در اشکال 1-ب و 1-ج نشان داده شده است.



(الف)



(ب)



(ج)

شکل 1. تصاویر میکروسکوپ الکترونی ریزکپسول‌های

کانتاگزانتین تهیه شده با پوشش‌های مختلف: الف- صمغ عربی
ب- صمغ عربی و مالتودکسترین ج- صمغ عربی و پولولان با
بزرگنمایی 5 تا 10 هزار برابر

بر اساس روش دزوبری و همکاران (1997) برای اندازه‌گیری کاروتنوئید کل موجود در ریزکپسول‌ها، 50 میلی گرم از ذرات پودری در 2/5 میلی لیتر آب در یک لوله آزمایش به قطر 2/5 و ارتفاع 10 سانتی متر حل و سپس 25 میلی لیتر هگزان به آن اضافه شد. پس از تکان دادن لوله، مقداری از محلول رنگی بالای لوله برداشته و طول موج جذب آن با اسپکتروفوتومتر خوانده شد (10).

برای اندازه‌گیری میزان کاروتنوئید سطحی ذرات از روش واگنر و وارتنسن (1995) استفاده شد. بدین منظور 50 میلی گرم از ریزکپسول‌ها در یک لوله آزمایش با قطر 2/5 و ارتفاع 10 سانتی متر ریخته و 25 میلی لیتر هگزان به آن اضافه شد. پس از تکان دادن مقداری از محلول رنگی بالای لوله برداشته و طول موج جذب آن در اسپکتروفوتومتر قرائت شد (9).

پایداری رنگ ریزکپسول‌ها طی نگهداری: پایداری ریزکپسول‌های تهیه شده با ترکیبات دیواره ای مختلف در مقایسه با نمونه‌ای از کانتاگزانتین استخراجی ریزپوشانی نشده (محلول در اتانول) که در شیشه‌های کوچک دودی رنگ نگهداری می‌شدند در 25 °C به مدت شش ماه (24 هفته) مورد بررسی قرار گرفتند. میزان پایداری رنگ ریزکپسول‌ها با اندازه‌گیری میزان کاروتنوئید کل به صورت هفتگی و به منظور تعیین اثر ترکیبات دیواره انجام پذیرفت. پایداری ریزکپسول‌ها به صورت درصد میزان کانتاگزانتین باقیمانده (Retention of Canthaxanthin) بر حسب زمان گزارش شد. میزان کانتاگزانتین باقیمانده از میزان کانتاگزانتین کل اندازه‌گیری شده در هفته‌های مختلف نسبت به کانتاگزانتین کل اندازه‌گیری شده در روز اول محاسبه می‌شود (18).

روش تجزیه و تحلیل آماری: این پژوهش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل صفات مورد مطالعه با استفاده از نرم افزار آماری SPSS صورت پذیرفت. میانگین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن مورد مقایسه قرار گرفتند. نمودارها با بهره‌گیری از نرم‌افزار Excel ترسیم و گزارش شدند.

• یافته‌ها

تأثیر ترکیبات دیواره بر میزان رطوبت و فعالیت آبی: نتایج حاصل از تجزیه واریانس میانگین میزان رطوبت و فعالیت آبی ریزکپسول‌ها نشان از عدم وجود اختلاف معنی‌دار ($p < 0/05$) بین نمونه‌ها داشت. با توجه به جدول 1

که امولسیون‌های تهیه شده از صمغ عربی و مالتودکسترین به دستگاه خشک‌کن تزریق شدند.

تأثیر ترکیبات دیواره بر میزان کارایی (ME): جدول 1 نشان می‌دهد که بیشترین میزان کارایی (86/78%) در ریزکپسول‌های تهیه شده از صمغ عربی بود و اضافه کردن پولولان به صمغ عربی در میزان کاروتنوئید سطحی، کاروتنوئید کل و در نتیجه بر میزان کارایی ریزکپسول‌ها تأثیر معنی‌داری نداشت. نتایج نشان داد که اضافه کردن مالتودکسترین به صمغ عربی موجب افزایش معنی‌دار کاروتنوئید سطحی و کاهش کاروتنوئید کل ریزکپسول‌ها شد و این امر منجر به کاهش میزان کارایی ریزپوشانی تا حدود 80% شد.

بررسی رابطه همبستگی بین ویسکوزیته مواد تشکیل دهنده دیواره و بازدهی نشان از وجود رابطه آماری معنی‌دار بین آن‌ها داشت به طوری که این رابطه معکوس و از شدتی قوی ($r = -0/730^{**}$ و $P < 0/01$) هم برخوردار بود. به عبارتی دیگر MY در نمونه‌های با ویسکوزیته بالا کمترین مقدار و در نمونه‌های با ویسکوزیته کم، بیشترین مقدار را دارا بود و به همین دلیل نمونه‌های حاوی پولولان که ویسکوزیته زیادی داشتند کمترین میزان MY را دارا بوده و علت آن چسبیدن مقادیری از امولسیون به دیواره محفظه خشک‌کن و کاهش میزان ذرات پودر جمع‌آوری شده در پایان کار بود.

جدول 1: مقایسه برخی ویژگی‌های ریزکپسول‌های کانتاگزانتین تهیه شده با ترکیبات دیواره مختلف

ترکیب دیواره	اندازه ذرات (μm)	میزان رطوبت (%)	فعالیت آبی	بازده فرایند (%)	میزان کارایی (%)	کاروتنوئید کل ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	کاروتنوئید سطحی ($\mu\text{g}/\text{mg}$)
GA	12/51±2/16b	0/75±0/14a	0/09±0/01a	69/81±4/16b	86/78±3/59b	2/32±0/21a	0/31±0/02b*
GA/MD	13/05±1/06a	0/71±0/11a	0/08±0/01a	72/84±2/29a	80/22±5/04a	2/02±0/15b	0/41±0/01a
GA/PL	11/98±0/98c	0/76±0/09a	0/08±0/01a	55/83±3/84c	85/98±4/32b	2/26±0/19a	0/32±0/02b

GA: صمغ عربی، MD: مالتودکسترین، PL: پولولان

*حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح 5% می‌باشد.

جدول 2: مقایسه ویسکوزیته ترکیبات مختلف دیواره ای به کار رفته در مقایسه با رنگدانه کانتاگزانتین استخراج شده از *دایتریاز نائرونولیمنائه* در

سرعت برشی $51/37 \text{ s}^{-1}$ و 42 rpm

نوع ترکیب	ویسکوزیته (سانتی پواز)
محلول 10% صمغ عربی	6/71±0/62d*
محلول 10% مالتودکسترین	2/16±0/66e
محلول 10% پولولان	98/41±1/58a
محلول 10% مخلوط صمغ عربی و مالتودکسترین	5/63±0/38d
محلول 10% صمغ عربی و پولولان	15/03±0/74c
رنگدانه کانتاگزانتین استخراج شده	41/21±1/70b

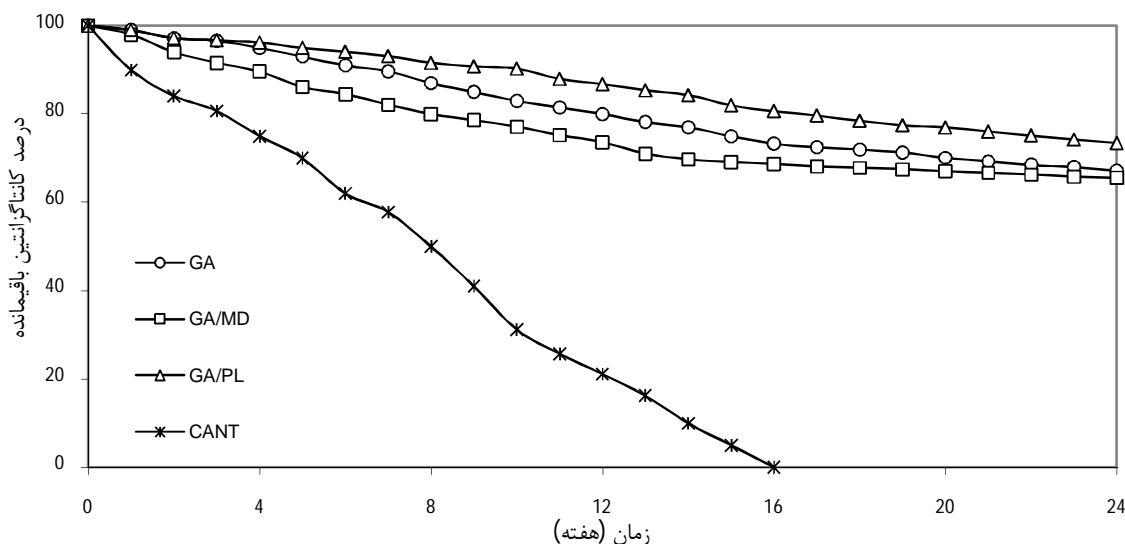
*حروف کوچک متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح 5% می‌باشد.

تأثیر ترکیبات دیواره بر اندازه ذرات: نتایج حاصل از بررسی اندازه ذرات ریزکپسول‌ها نشان از تأثیر ترکیب دیواره بر اندازه ذرات داشت به طوری که اندازه ذرات از 11/98 تا 13/05 میکرومتر متغیر بود. متوسط اندازه ذرات ریزکپسول‌های تهیه شده از صمغ عربی 12/51 میکرومتر بود. اضافه کردن مالتودکسترین و پولولان به صمغ عربی به ترتیب افزایش و کاهش اندازه ذرات را در پی داشتند به طوری که متوسط اندازه ذرات حاصل از ترکیب صمغ عربی و مالتودکسترین 13/05 و ذرات حاصل از ترکیب صمغ عربی و پولولان 11/98 میکرومتر بودند.

تأثیر ترکیبات دیواره بر بازده فرایند ریزپوشانی (MY): نتایج حاصل از تجزیه واریانس میانگین بازدهی نمونه‌های حاصل از خشک‌کن پاششی که با استفاده از رابطه 1 محاسبه و در جدول 1 نشان داده شده است حاکی از اختلاف معنی‌دار ($p < 0/05$) بین نمونه‌ها است. MY فرایند بین 55/83 تا 72/84 درصد متغیر بود. بازده فرایند برای زمانی که از صمغ عربی به تنهایی استفاده شده بود 69/81 درصد بود. در زمانی که از پولولان به همراه صمغ عربی استفاده شد کمترین فرایند ریزپوشانی (55/83) مشاهده شد. بیشترین بازدهی (72/84) زمانی مشاهده شد

گذشت 16 هفته داشت و بیشترین پایداری در نمونه تهیه شده از صمغ عربی و پولولان (73/5 درصد) پس از 24 هفته نگهداری مشاهده شد. میزان باقیمانده کانتاگزانتین در نمونه تهیه شده از صمغ عربی و مالتودکسترین 65/5 درصد و این مقدار در نمونه تهیه شده با صمغ عربی 67/2 درصد بود.

تأثیر ترکیبات دیواره بر پایداری رنگ ریزکپسول‌ها:
شکل 2 پایداری کانتاگزانتین موجود در ریزکپسول‌ها را در دمای 25°C نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که نوع ترکیب دیواره بر میزان پایداری رنگدانه ریزکپسول‌ها اثر معنی‌داری داشت ($p < 0/05$). میزان باقیمانده کانتاگزانتین در این دما نشان از تخریب کامل این رنگدانه در نمونه شاهد پس از



شکل 2. مقایسه میزان پایداری کانتاگزانتین موجود در ریزکپسول‌ها طی 24 هفته نگهداری در دمای 25°C
صمغ عربی، MD مالتودکسترین، PL پولولان، CANT کانتاگزانتین بدون پوشش

• بحث

شکل 1-الف نشان دهنده سطحی دندان‌دار در ریزکپسول‌های تهیه شده با صمغ عربی بود. این ریزکپسول‌ها تقریباً کروی بوده و ترک و شکاف اندکی در آن‌ها دیده می‌شد. ویژگی‌های مشاهده شده در این تحقیق همچون مشاهدات ارائه شده توسط *Nunes* و *Mercadante* (2007) بود. آن‌ها لیکوپن را با صمغ عربی و به روش خشک کن پاششی ریزپوشانی کرده و سطحی دندان‌دار را در ریزکپسول‌هایی گرد مشاهده کردند (21).

علت دندان‌دار شدن سطوح ریزکپسول‌ها، چروکیدگی آن‌ها طی خشک شدن در محفظه خشک‌کن پاششی در اثر تبخیر سریع آب موجود در امولسیون می‌باشد که با توجه به نوع ترکیب دیواره میزان این چروکیدگی متفاوت است (25). نمونه‌های حاصل از افزودن مالتودکسترین سطحی صاف تر نسبت به نمونه‌های تهیه شده از صمغ عربی به تنهایی داشتند (شکل 1ب) ولی پراکندگی اندازه ذرات بسیار بیشتر

با توجه به این که در این تحقیق شرایط تهیه ریزکپسول‌ها یکسان و فقط نوع مواد پوشش دهنده متفاوت بود و اختلاف معنی‌داری در میزان رطوبت و فعالیت آبی نمونه‌ها مشاهده نشد نتایج این تحقیق همچون گزارشات دیگر می‌تواند بیانگر این نکته باشد که میزان رطوبت و فعالیت آبی ذرات حاصل از فرایند خشک‌کن پاششی به ترکیبات مواد پوششی دیواره و اندازه ذرات بستگی نداشته و شرایط خشک کردن مهمترین عامل موثر در میزان رطوبت و فعالیت آبی ذرات پودری خشک شده می‌باشد (23، 24). نتایج این تحقیق نمایانگر اثر شرایط خشک‌کن بر میزان رطوبت و فعالیت آبی ریزکپسول‌ها بود. با توجه به دمای 160 و 90 درجه‌ای هوای ورودی و خروجی خشک‌کن و یکسان بودن شرایط خشک‌کن پاششی برای تمامی نمونه‌ها، پایین بودن میزان رطوبت و فعالیت آبی نمونه‌ها دور از انتظار نبود.

در حین خشک کردن مشاهده شد که مقدار زیادی از نمونه‌های حاوی پولولان به دیواره داخلی محفظه خشک‌کن می‌چسبید و همین امر موجب کاهش MY نمونه‌های حاوی پولولان می‌شد که به علت ویژگی چسبندگی بالای پولولان می‌باشد.

نتایج نشان دهنده اثر نوع ترکیبات به کار گرفته شده به عنوان مواد دیواره بر میزان کاروتنوئید سطحی بود که منطبق با نظر *McNamee* و همکاران (1998) است. آن‌ها معتقدند که مواد محلول در چربی که به عنوان هسته در خشک‌کن پاششی به کار می‌روند از طریق شکاف‌های موجود در سطح ذرات می‌توانند به سطح آمده و در معرض هوا قرار گرفته و اکسیده شوند که این امر به نوع و میزان مواد تشکیل دهنده دیواره بستگی دارد (31). هرچه ویژگی امولسیفایری مواد دیواره بیشتر باشد میزان مواد مهاجرت کننده به سطح کپسول هم کمتر خواهد شد (12، 22، 31). نتایج نشان دهنده تأثیر مثبت اضافه کردن پولولان در مقایسه با مالتودکسترین در ترکیب با صمغ عربی در حفظ کاروتنوئید ریزپوشانی شده بود. مشاهدات این طرح منطبق با نتایج تحقیقی بود که پولولان را پوششی مناسب برای ریزپوشانی الیورزین‌های زردچوبه معرفی کردند (17). هم‌چنین پایداری بیشتر ریزکپسول‌های تهیه شده از افزودن پولولان نسبت به مالتودکسترین را می‌توان به مقدار کاروتنوئید سطحی کمتر موجود در ریزکپسول‌های تهیه شده از پولولان دانست زیرا وجود مقدار بیشتر مواد ریزپوشانی شده در سطح ریزکپسول موجب اکسیداسیون سریع‌تر و در نتیجه تخریب زودتر مواد ریزپوشانی شده می‌شود (12، 31).

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان از افزایش عمر نگهداری کانتاگزانتین با استفاده از ریزپوشانی به روش خشک‌کن پاششی داشت. این تحقیق نشان داد که افزودن پولولان در مقایسه با مالتودکسترین به صمغ عربی به عنوان ماده پوشش‌دهنده کانتاگزانتین اندازه ذرات کوچک‌تر با شکلی گردتر و یکنواخت‌تر را ایجاد و مقدار کمتری از کاروتنوئید در سطح ریزکپسول قرار می‌گیرد که همین امر موجب پایداری بیشتر کانتاگزانتین می‌گردد که می‌تواند به واسطه خاصیت فیلمی مناسب پولولان نسبت به مالتودکسترین باشد.

ذرات کوچک‌تر به هم چسبیده و ذرات بزرگ‌تری را به وجود آورده بودند. این تصاویر با گزارش ارائه شده توسط *Loksuwan* (2007) که از مالتودکسترین در ریزپوشانی بتاکاروتن استفاده کرده بود و هم‌چنین *Kagami* و همکاران (2003) که روغن ماهی را با مالتودکسترین و مواد پروتئینی ریزپوشانی کرده بودند مطابقت داشت (26، 13). مالتودکسترین با معادل دکستروز بالا به علت داشتن مقادیر زیادی ساکارز با وزن ملکولی کم دارای خاصیت انعطاف‌پذیری بوده و این ویژگی در شکل‌گیری ریزکپسولی صاف و گرد مؤثر می‌باشد (27) و به همین دلیل شکل ظاهری ریزکپسول‌های حاصل از اضافه شدن مالتودکسترین به صمغ عربی سطحی کم دنداندارتر و صاف‌تر دارند.

تصاویر ریزکپسول‌های حاصل از ترکیب پولولان با صمغ عربی نشان از صافی بیشتر نمونه‌ها نسبت به سایر تیمارها داشت. پولولان خاصیت فیلمی مناسبی دارد و شاید به همین دلیل ریزکپسول‌های حاوی پولولان کروی و دارای سطحی صاف و بدون دنداندار و ترک بودند.

با توجه به وجود مقداری شاخه‌های پپتیدی در ساختمان صمغ عربی، این ماده خاصیت امولسیفایری داشته و با اتصال کوالانسی این شاخه‌ها به قطرات روغن موجود در امولسیون، ذرات کوچک‌تری را به وجود می‌آورند (28). با توجه به اینکه مالتودکسترین هم‌پولی ساکاریدی بدون شاخه‌های جانبی پپتیدی است، فعالیت سطحی مناسبی نداشته و قادر به ایجاد اتصال در ارتباط با سطوح روغن موجود در امولسیون نمی‌باشد و در نتیجه ذرات بزرگ‌تری را تولید می‌کند (29). از طرفی اگرچه پولولان دارای ویژگی‌های امولسیفایری نیست ولی افزودن آن به صمغ عربی ذرات کوچک‌تری را ایجاد کرده است. پولولان به علت ویژگی تشکیل فیلمی که دارد موجب تشکیل سریع‌تر و کوچک‌تر ذرات می‌شود که این ویژگی به ساختار شیمیایی و ویسکوزیته بالای آن ارتباط دارد به طوری که ثابت شده امولسیون با ویسکوزیته بالاتر ذراتی با اندازه کوچک‌تر ایجاد می‌نمایند (30).

بازده فرایند ریزپوشانی در روش خشک‌کن پاششی به شرایط کاری سیستم و هم‌چنین ویژگی‌های دیواره تشکیل دهنده بستگی داشته و عواملی نظیر دمای هوای داغ ورودی، نوع خشک‌کن پاششی، نوع مواد دیواره و نسبت مواد دیواره به هسته در مقدار MY تأثیر گذار می‌باشند (21).

• References

1. Sujak A, Gabrielska J, Milanowska J, Mazurek P, Strzaaka K, Gruszecki W. Studies on canthaxanthin in lipid membranes. *Biochim Biophys Acta* 2005;1712:17–28.
2. Khodaiyan F, Razavi SH, Mousavi SM. Optimization of canthaxanthin production by *Dietzia natronolimnaea* HS-1 from cheese whey using statistical experimental methods. *Biochem Eng J* 2008;40:415–22.
3. Schmidt AD, Heinekamp T, Matuschek M, Liebmann B, Bollschweiler C, Brakhage A. Analysis of mating-dependent transcription of *Blakeslea trispora* carotenoid biosynthesis genes *carB* and *carRA* by quantitative real-time PCR. *Appl Microbiol Biotechnol* 2005;67:549–55.
4. Fernandez A, Torres-Giner S, Lagaron JM. Novel route to stabilization of bioactive antioxidants by encapsulation in electrospun fibers of zein prolamine. *Food Hydrocolloid* 2009;23:1427–32.
5. Lee MT, Chen BH. Stability of lycopene during heating and illumination in a model system. *Food Chem* 2002;78(4):425–32.
6. Gibbs BF, Kermasha S, Ali I, Mulligan C. Encapsulation in the food industry: A review. *Int J Food Sci Nutr* 1999;50:213–24.
7. Gharsallaoui A, Roudaut G, Chambin O, Voilley A, Saurel R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Res Int* 2007;40:1107–21.
8. Gouin S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends Food Sci Tech* 2004;15:330–47.
9. Wagner LA, Warthesen JJ. Stability of spray-dried encapsulated carrot carotenes. *J Food Sci* 1995;60(5):1048–53.
10. Desobry SA, Netto FM, Labuza TB. Comparison of spray-drying, drum drying and freeze-drying for (1-3, 1-4)- β -carotene encapsulation and preservation. *J. Food Sci* 1997;62:1158–62.
11. Barbosa MI, Borsarelli CD, Mercadante AZ. Light stability of spray-dried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations. *Food Res Int* 2005;38:989–94.
12. Shu B, Yu W, Zhao Y, Liu X. Study on microencapsulation of lycopene by spray-drying. *J Food Eng* 2006;76:664–69.
13. Loksuan J. Characteristics of microencapsulated beta-carotene formed by spray drying with modified tapioca starch, native tapioca starch and maltodextrin. *Food Hydrocolloid* 2007;21:928–35.
14. Khan T, Park JK, Kwon JH. Functional biopolymers produced by biochemical technology considering applications in food engineering. *Korean J Chem Eng* 2007;224(5):816–26.
15. Sena RF, Costeli MC, Gibson LH, Coughlin, RW. Enhanced production of pullulan by two strains of *A. pullulans* with different concentrations of soybean oil in sucrose solution in batch fermentations. *Braz J Chem Eng* 2006;23(4):507–15.
16. Serris GS, Biliaderis CG. Degradation kinetics of beetroot pigment encapsulated in polymeric matrices. *J Sci Food Agr* 2001;81:691–700.
17. Kshirsagar AC, Yenge VB, Sarkar A, Singhal RS. Efficacy of pullulan in emulsification of turmeric oleoresin and its subsequent microencapsulation. *Food Chem* 2009;113:1139–45.
18. Hojjati M, Razavi SH, Rezaei K, Gilani K. Spray drying microencapsulation of natural canthaxanthin using soluble soybean polysaccharide as a carrier. *Food Sci Biotechnol* 2011;20 (1):63–9.
19. Khodaiyan F, Razavi SH, Emam-Djomeh Z, Mousavi SM. Optimization of canthaxanthin production by *Dietzia natronolimnaea* HS-1 using response surface methodology. *Pakistan J Biol Sci* 2007;10:2544–52.
20. Nasrabadi MR, Razavi SH. Use of response surface methodology in a fed-batch process for optimization of tricarboxylic acid cycle intermediates to achieve high levels of canthaxanthin from *Dietzia natronolimnaea* HS-1. *J Biosci Bioeng* 2010;109(8):361–68.
21. Nunes IL, Mercadante AZ. Encapsulation of lycopene using spray-drying and molecular inclusion processes. *Braz Arch Biol Techn* 2007;50(5):893–900.
22. McNamee B, O'Riordan ED, O'Sullivan M. Effect of partial replacement of gum Arabic with carbohydrates on its microencapsulation properties. *J Agr Food Chem* 2001;49:3385–88.
23. Dian NL, Sudian N, Yusoff MS. Palm-based oil as affected by type of wall material. *J Sci Food Agr* 1996;70:422–6.
24. Soottitawat A, Yoshii H, Furuta T, Ohkawara M, Linko P. Microencapsulation by spray drying: Influence of emulsion size on the Retention of volatile compounds. *J Food Sci* 2003;68(7):2256–62.
25. Rosenberg M, Kopelman IJ, Talmon Y. Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials. *J Agr Food Chem* 1990;50:139–44.

26. Kagami Y, Sugimura S, Fujishima N, Matsuda K, Kometani T, Matsumura Y. Oxidative stability, structure, and physical characteristics of microcapsules formed by spray drying of fish oil with protein and dextrin wall materials. *J Food Sci* 2003;68(7):2248-55.
27. Zhang ZY, Ping QH, Xiao B. Microencapsulation and characterization of tramadol-resin complex. *J Contr Rel* 2000;66:107-13.
28. Randall RC, Phillips GO, Williams PA. *The role of the proteinaceous component on the emulsifying properties of gum arabic.* *Food Hydrocolloid* 1988;2(2):131-40.
29. Matsumura Y, Satake C, Egami M, Mori T. *Interaction of gum arabic, maltodextrin and pullulan with lipids in emulsions.* *Biosci Biotechnol Biochem* 2000;64(9):1827-35.
30. Asano Y, Sotoyama K. Viscosity change in oil/water food emulsions prepared using a membrane emulsification system. *Food Chem* 1999;66(3):327-31.
31. McNamee B, O'Riordan ED, O'Sullivan M. Emulsification and microencapsulation properties of gum arabic. *J Agr Food Chem* 1998;46:4551-55.

Effect of wall components on characteristics of natural canthaxanthin microencapsulated using spray-drying

Hojjati M^{*1}, Razavi H², Rezaei K², Gilani K³

1- ^{*}Corresponding author: Assistant Prof, Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Animal & Food Science, Ramin Agriculture and Natural Resources University, Ahvaz, Iran, E-mail: hojjatim@yahoo.com

2- prof, Dept. of Food Science and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, University of Tehran, Karaj, Iran

3- Assistant Prof, Dept. of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran

Received 2 Feb, 2013

Accepted 10 May, 2013

Background and Objective: Canthaxanthin is a ketocarotenoid used in pharmaceutical, medical, cosmetic, fishery, poultry, and food industries. The restriction of synthetic carotenoids in food industries has led to the development of canthaxanthin from biological resources. Canthaxanthin is a highly unsaturated molecule that is susceptible to environmental conditions. Spray drying microencapsulation is a technique to protect carotenoids from adverse environmental conditions and was used in this study to increase the stability of microbial canthaxanthin. The objective of the study was to compare the effects of polysaccharides used as wall materials on the characteristics and stability of microencapsulated canthaxanthin.

Materials and Methods: A strain of the bacterium *Dietzia natronolimnaea* HS-1 was used as the source of canthaxanthin. Gum Arabic (GA), maltodextrin (MD), and pullulan (PL) were used as wall materials for microencapsulation of canthaxanthin using spray drying. The effect of adding MD and PL to GA as wall materials on the characteristics and stability of the microcapsules produced were investigated.

Results: It was shown that the type of wall did not affect the moisture and water activity of the microcapsules, but did influence other characteristics. Microcapsules made from GA and PL were smaller in size and contained less surface carotenoid. Microcapsules produced with MD were largest in size and showed the least microencapsulation efficiency. The results also showed that the degradation of microencapsulated canthaxanthin using GA and PL proceeded more slowly than did that using MD over 6 mo of storage.

Conclusions: The results of this study found that GA and PL are potential wall materials for the encapsulation of canthaxanthin using the spray-drying method.

Keywords: Canthaxanthin, Microencapsulation, Spray-drying, Pullulan, Gum Arabic