مقاله علمی پژوهشی/ نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۹ شماره ۲/ سال ۱۳۹۸/ صفحات ۴۷ تا ۶۳

درون پوشانی ریز مغذی روی به روش خشک کردن پاششی و استفاده از آن در غنی سازی آب سیب

آیمن سرداری‌فر[۱]، هادی الماسی[۲]* و لیلا روفه گری نژاد[۳]

تاریخ دریافت: ۹۶/۹/۲ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱/۳۱

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، گروه علوم و صنایع غذایی، تبریز، ایران
[۲] دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
[۳] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، گروه علوم و صنایع غذایی، تبریز، ایران
* مسئول مکاتبه: Email: h.almasi@urmia.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: غنی سازی مواد غذایی یکی از روش‌های تأمین کمبود ریزمغذی‌ها برای اقشار مختلف مردم محسوب می‌شود. **هدف:** هدف از این پژوهش، تولید آب سیب غنی شده با روی به‌عنوان یک محصول فراسودمند و غنی شده‌ی جدید بود. **روش کار:** برای این منظور، سولفات روی با پکتین و صمغ عربی به نسبت ۱ به ۱۰ و با استفاده از روش خشک کردن پاششی درون پوشانی شد و آزمون‌های تعیین اندازه ذرات و پتانسیل زتا و میکروسکوپ SEM بر روی نمونه‌های پودر انجام شد. در مرحله دوم، میکروکپسول‌های تولید شده و همچنین سولفات روی به شکل آزاد، به میزان ۲/۵ میلی گرم بر لیتر به فرمولاسیون آب سیب اضافه شدند و در طی مدت ۶۰ روز نگهداری در دمای یخچال، تأثیر آنها بر روی خواص فیزیکوشیمیایی و حسی آب‌میوه مطالعه شد. **نتایج:** بررسی خواص میکروکپسول‌ها نشان داد که اندازه ذرات کپسول‌های پایدار شده با پکتین (۴۳۰ nm) کمتر از صمغ عربی (۷۶۰ nm) و می‌باشد. تصاویر میکروسکوپ SEM توزیع یکنواخت اندازه ذرات در هر دو نوع میکروکپسول را نشان داد. افزودن میکروکپسول یا روی آزاد، تأثیر قابل توجهی بر روی pH، اسیدیته و اندیس فرمالین آب سیب ندارد. با افزودن میکروکپسول‌ها، کدورت آب سیب افزایش یافت. تأثیر میکروکپسول پایدار شده با صمغ عربی بر روی کدورت بیشتر از پکتین بود. میکروکپسول صمغ عربی – روی، باعث بهبود شاخص رنگ آب سیب شد. افزودن میکروکپسول‌ها همچنین ویسکوزیته آبمیوه را افزایش داد که تأثیر صمغ عربی در روی این ویژگی نیز بیشتر از پکتین بود. غنی سازی آبمیوه با میکروکپسول‌ها، شمارش باکتری‌های سرمادوست را در طول نگهداری اندکی افزایش داد. همچنین میزان پذیرش کلی نمونه‌های آب سیب در حالت استفاده از میکروکپسول‌ها، تفاوت معنی داری با نمونه شاهد نداشت. **نتیجه گیری نهایی:** در کل نتایج نشان داد که با افزودن میکروکپسول‌های حاوی سولفات روی به آب سیب می‌توان یک محصول غنی شده جدید تولید نمود بدون اینکه در خواص فیزیکوشیمیایی آن تغییر قابل توجهی ایجاد شود.

واژگان کلیدی: آب سیب، غنی سازی، روی، درون پوشانی، خواص فیزیکی‌شیمیایی

مقدمه

امروزه تمایل به استفاده از غذاهای فراسودمند[1] و محصولات غذایی غنی شده[2] روز به روز در حال گسترش است (خاکباز حشمتی و خوشقدم ۱۳۹۶). یکی از مهم‌ترین انواع ریزمغذی‌ها عنصر روی[3] می‌باشد. بدن یک انسان بالغ حاوی حدود ۳-۲ گرم روی است. تحریک رشد (قد، وزن)، تقسیم سلولی، توسعه استخوان‌ها، تقسیم سلولی، تقویت سیستم ایمنی، افزایش قدرت باروری، رشد صحیح پوست، مو، ناخن و حفظ سیستم بینایی و تحریک اشتها به حضور سطح کافی روی در بدن وابسته می‌باشد (زلوسکی ۱۹۹۶).

با وجود کمبود روی در خاک‌های مناطق مختلف جهان، تغذیه و رژیم غذایی تنها منبع تأمین روی مورد نیاز بدن انسان می‌باشد (داس و گرین ۲۰۱۶). گوشت، حبوبات و آجیل از جمله منابع غنی روی هستند اما توانایی تأمین این اقلام غذایی برای تمام اقشار جامعه فراهم نمی‌باشد. میوه‌ها و سبزی‌ها منابع فقیری هستند. ٪۸۰ روی موجود در غلات در طی آسیاب کردن حذف می‌شود (آلن ۱۹۹۸). بنابراین دلایل، امروزه کمبود روی به یکی از مشکلات تغذیه‌ای اساسی در جوامع مختلف تبدیل شده است. اخیراً کمبود روی مخصوصاً در کودکان و زنان باردار و شیرده در کشور ایران مورد توجه قرار گرفته و تحقیقاتی روی آن صورت گرفته است (محمودی و کیمیاگر ۱۳۸۱؛ برنا و همکاران ۱۳۸۸).

مطالعات مختلفی بر روی غنی سازی شیر و سایر نوشیدنی‌ها با عنصر روی صورت گرفته است (ویلالپانو و همکاران ۲۰۰۶؛ پولاخاندام و همکاران ۲۰۱۱؛ یوناس و همکاران ۲۰۱۴). یکی از مهم‌ترین محصولاتی که پتانسیل بالایی در استفاده به‌عنوان غذای حامل در فرایند غنی سازی دارد، آب‌میوه‌ها و نکتارها می‌باشند. آب سیب یکی از بهترین انواع آب‌میوه‌های شفاف است که از سطح پذیرش بالایی در بین مصرف کنندگان برخوردار است.

سولفات روی رایجترین ترکیب روی مورد استفاده در غنی سازی مواد غذایی محسوب می‌شود. با این وجود، استفاده از آن با یک سری از مشکلات مواجه است. سولفات روی ویژگی‌های حسی ماده غذایی را تغییر می‌دهد و طعم آن را غیرقابل پذیرش می‌کند. از طرف دیگر، pH اسیدی معده می‌تواند این ترکیب را به کلرید روی تبدیل کند که از زیست فراهمی پایینی برخوردار است و امکان رشد هلیکوباکترپیلوری در دیواره معده را افزایش می‌دهد. همچنین واکنش پذیری بالای این ترکیب مخصوصاً در حضور آب و سایر ترکیبات شیمیایی منجر به تولید ترکیبات مضر، تغییر خواص اورگانولپتیکی محصول و همچنین کاهش زیست فراهمی روی می‌شود (روزادو ۲۰۰۳).

یکی از بهترین راهکارها برای جلوگیری از این موارد و محافظت از ترکیبات زیست فعال، انکپسولاسیون[4] یا درون پوشانی آنها می‌باشد. در زمینه‌ی درون پوشانی عنصر روی نیز مطالعاتی صورت گرفته است (سیلا و همکاران ۲۰۱۰؛ آنجلس-آجدپا و همکاران ۲۰۱۱؛ گولرسن و همکاران ۲۰۱۲؛ اولحاق و همکاران ۲۰۱۵؛ ژانگ و ژائو ۲۰۱۵). یکی از روش‌های متداول، آسان و سریع درون پوشانی، روش خشک کردن پاششی می‌باشد (جیوتی و همکاران ۲۰۱۰؛ قهرمانی‌فر ۱۳۹۵). از روش خشک کردن پاششی در درون پوشانی ترکیبات زیست فعال مختلفی استفاده شده است (تان و همکاران ۲۰۱۵؛ رجبی و همکاران ۲۰۱۵).

از بین هیدروکلوئیدها و صمغ‌های مختلف، پکتین و صمغ عربی پتانسیل فراوانی در استفاده به‌عنوان مواد دیواره در تشکیل کپسول‌ها دارند (اسپیتیا و همکاران ۲۰۱۴). پتانسیل پکتین در استفاده به‌عنوان حامل ترکیبات دارویی یا تولید میکروکپسول‌ها و استفاده در رهایش کنترل شده، شدیداً به وزن مولکولی و درجه

1 . Functional foods
2 . Fortified foods
3 . Zinc
4 . Encapsulation

استریفیکاسیون[1](DE) پکتین بستگی دارد (حسین نیا و همکاران ۲۰۱۷). صمغ عربی[2]مواد خشک، خوراکی و صمغی مترشحه از ساقه‌ها و شاخه‌های درخت آکاسیا (*Acacia senegal*) می‌باشد. صمغ عربی استفاده فراوانی بعنوان امولسیفایر، استابیلایزر، قوام دهنده و پایدار کننده در صنایع غذایی دارد (علی و همکاران ۲۰۰۹). از صمغ عربی نیز در درون پوشانی ترکیبات زیست فعال مختلف استفاده شده است (دونگ و همکاران ۲۰۱۵؛ بینسی و همکاران ۲۰۱۶).

هدف از این پژوهش، درون‌پوشانی عنصر روی با استفاده از پکتین و صمغ عربی به عنوان مواد دیواره و به کمک روش خشک کردن پاششی است. همچنین پس از درون پوشانی، امکان سنجی تولید آب سیب غنی شده با میکروکپسول‌های حاوی عنصر روی مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

پکتین پوست مرکبات با میزان متوکسیل بالا[3](HMP) (درجه استریفیکاسیون حدود ۶۰ درصد) و همچنین صمغ عربی از نمایندگی شرکت سیگما (آلمان) تهیه شدند. پودر سفید رنگ سولفات روی با درجه خلوص ۹۹/۹۹ درصد از نمایندگی شرکت مرک (آلمان) تهیه شد. کلیه‌ی مواد شمیایی مورد استفاده در انجام آزمون‌ها با درجه آنالیتیکال بوده و از نمایندگی شرکت سیگما (آلمان) خریداری شدند.

تهیه میکروکپسول‌های سولفات روی

برای درون پوشانی سولفات روی، از روش خشک کردن پاششی استفاده شد. برای این منظور از روش اسدپور و همکاران (۲۰۱۶) با اندکی تغییرات استفاده شد. ابتدا محلول بیوپلیمرهای پکتین و صمغ عربی تهیه شد. برای تهیه محلول پکتین، میزان ۲ گرم پکتین در ۱۰۰ میلی لیتر آب پخش شد و در دمای ۶۰ °C به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شد تا محلولی کاملاً یکنواخت به‌دست آید. روش تهیه محلول ۲ درصد صمغ عربی نیز دقیقاً به همین شکل و در همین شرایط بود. در ادامه پس از خنک شدن محلول‌ها، سولفات روی به میزان ۰/۲ گرم به هرکدام از محلول‌های بیوپلیمرهای پکتین و صمغ عربی اضافه شد و هم زدن محلول‌های پکتین و صمغ عربی حاوی سولفات روی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط ادامه یافت. نسبت بین بیوپلیمرها و سولفات روی ۱۰ به ۱ در نظر گرفته شد.

در مرحله‌ی بعد، دیسپرسیون‌های پکتین–سولفات روی و صمغ عربی– سولفات روی، با استفاده از خشک کن پاششی به پودر تبدیل شدند تا میکروکپسول‌های حاوی سولفات روی حاصل شود. ویسکوزیته به‌ترتیب برابر ۲۸/۵ و ۴۲/۴ میلی پاسکال ثانیه برای دیسپرسیون‌های ۲ درصد پکتین – سولفات روی و صمغ عربی – سولفات روی محاسبه شد. در این شرایط، قابلیت اسپری کردن در نازل خشک کن پاششی بخوبی فراهم شد. برای این منظور از دستگاه خشک کن پاششی Dorsa با مقیاس آزمایشگاهی ساخت شرکت دانش بنیان درسا صنعت استفاده شد. مشخصات فرایند خشک کردن پاششی در دستگاه مذکور بدین صورت بود: فشار هوای نازل اتمایزر ۲/۵ bar؛ دمای هوای ورودی ۱۸۰±۵ °C؛ دمای هوای خروجی ۷۰±۵ °C؛ نرخ جریان ورودی به سیستم ۴۵۰ میلی لیتر در ساعت. پودر میکروکپسول‌های تولید شده، از سیکلون دستگاه خشک کن پاششی جمع آوری شده و در دمای ۴ °C تا زمان استفاده و آنالیز نگهداری شد.

مطالعه خواص میکروکپسول‌ها

تعیین اندازه ذرات و عدد اسپن

میانگین قطر حجمی DeBroukere (D_{43}) و عدد اسپن[4]با استفاده از تکنیک پراش نور دینامیک (DLS) و مطابق با

1 . Esterification degree
2 . Gum arabic
3 . High methoxyl pectin
4 . Span value

روش حسین نیا و همکاران (۲۰۱۷) اندازه گیری شد. برای این منظور از دستگاه DLS با مارک Shimadzu مدل SALD 2101 ساخت ژاپن استفاده شد. پودرها به میزان ۲ میلی گرم در ۱۰ سی سی آب حل شدند و بلافاصله اندازه ذرات آنها در ۲۵ درجه سانتیگراد تعیین گردید. میانگین قطر حجمی با استفاده از رابطه‌ی ۱ و عدد اسپن نیز از روی منحنی توزیع اندازه ذرات مطابق با رابطه‌ی ۲ محاسبه شد.

$$\overline{D}[4,3] = \frac{\sum n_i d_i^{\,4}}{\sum n_i d_i^{\,3}} \quad \text{[رابطه ۱]}$$

n_i تعداد ذرات و d_i قطر مربوط به آن تعداد از ذرات است.

$$Span = \frac{D[0.9] - D[0.1]}{D[0.5]} \quad \text{[رابطه ۲]}$$

D[0.9] ، D[0.5] و D[0.1] اندازه‌ای است که به ترتیب ۹۰٪، ۵۰٪ و ۱۰٪ ذرات دارای قطری زیر آن اندازه می‌باشند.

تعیین پتانسیل زتا[1]

برای تعیین پتانسیل زتای ذرات کپسول، از دستگاه زتاسایزر (Malvern Instruments, Worcestershire، ساخت انگلستان) استفاده شد. برای این منظور ابتدا هرکدام از نمونه‌ها در آب مقطر به نسبت ۱ به ۵۰ پخش شدند. سپس توسط سرنگی به داخل لوله موئین منتقل شدند و لوله موئین در محل مخصوص خود روی دستگاه قرار گرفت. اندازه گیری پتانسیل زتا در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و توان ۱۴۹ وات انجام شد (حسین نیا و همکاران ۲۰۱۷).

مطالعه مورفولوژی میکروکپسول‌ها

برای مطالعه مورفولوژی و شکل ظاهری کپسول‌ها از میکروسکوپ الکترونی روبشی[2] (SEM) استفاده شد. نمونه‌های پودری با لایه نازکی از طلا پوشانده شدند و سپس با استفاده از یک میکروسکوپ SEM (Hitachi 4300S، ساخت ژاپن) در ولتاژ شتاب دهندهٔ ۱۰ تا ۲۰ کیلوولت از ریزساختار میکروکپسول‌ها عکس برداری شد.

تولید و پاستوریزاسیون آب سیب

به منظور تهیه‌ی آب سیب، از کنسانتره آب سیب استفاده شد. کنسانتره با بریکس ۷۰ با استفاده از آب سالم رقیق شد تا به بریکس ۱۲ برسد. سپس میکروکپسول‌های تولید شده به میزان ۲۵ میلی‌گرم (حاوی ۲/۵ میلی گرم سولفات روی) به ازای هرلیتر آبمیوه به آنها اضافه گردید و به خوبی هم زده شد. در یک نمونه‌ی آب سیب نیز سولفات روی آزاد و درون-پوشانی نشده به میزان ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر اضافه شد. همچنین یک آبمیوه خالص و بدون افزودن روی نیز تهیه شد و بعنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد. معیار تعیین غلظت روی و میکروکپسول‌ها در آبمیوه‌های غنی شده، دستورالعمل اجرایی تولید غذاهای فراسودمند ابلاغ شده از سوی سازمان غذا و دارو (دستورالعمل سازمان غذا و دارو ۱۳۹۳) می‌باشد. مطابق این دستورالعمل، حداقل و حداکثر غلظت روی مورد استفاده در غنی سازی محصولات غذایی، بترتیب برابر ۰/۷۵ و ۲/۵ میلی گرم به ازای هرکیلوگرم ماده غذایی می‌باشد. در این پژوهش نیز حداکثر مقدار مجاز قابل استفاده انتخاب گردید. در مورد غنی سازی با میکروکپسول‌ها نیز چون این کپسول‌ها با نسبت ۱ به ۱۰ روی با بیوپلیمرها تهیه شده بودند، به همین دلیل میزان غلظت غنی سازی با میکروکپسول‌ها ده برابر افزایش یافت تا میزان مناسب روی در آب سیب (۲/۵ میلی گرم در لیتر) حاصل شود.

در ادامه، آبمیوه‌های فرموله شده در بطری‌های PET ریخته شده و پس از دربندی، در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۰ دقیقه درون بن ماری پاستوریزه شدند. سپس تا دمای محیط خنک شده و تا زمان انجام آزمون‌ها در دمای یخچال نگهداری شدند.

1 . Zeta potential
2 . Scanning electron microscopy

بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آب سیب

نمونه‌های آب سیب غنی شده و نمونه شاهد، به مدت ۶۰ روز در دمای یخچال نگهداری شدند و در فواصل زمانی ۲۰ روزه (روزهای ۱، ۲۰، ۴۰ و ۶۰) از آنها نمونه برداری شد و آزمون‌های زیر بر روی آنها انجام گرفت.

اندازه گیری اسیدیته و pH

pH و اسیدیته آب سیب (برحسب اسید مالیک) مطابق با روش استاندارد (استاندراد ملی ایران، شماره ۲۶۸۵) اندازه گیری شد.

اندازه گیری عدد فرمالین

اندیس فرمالین نمونه‌های آب سیب نیز مطابق با روش استاندارد آزمون‌های آبمیوه‌ها (استاندراد ملی ایران، شماره ۲۶۸۵) اندازه گیری شد.

اندازه گیری کدورت

کدورت آبمیوه‌ها با استفاده از دستگاه کدورت سنج (HBC turbidometer ساخت آلمان) در دمای ۲۵ °C اندازه گیری شد. واحد NTU[1] در زوایه پراش نور ۹۰ درجه و طول موج ۸۶۰ نانومتر بعنوان معیار تعیین کدورت آبمیوه‌ها در نظر گرفته شد (استاندراد ملی ایران شماره ۲۶۸۵).

اندازه گیری رنگ

برای تعیین رنگ نمونه‌های آب سیب از روش اسپکتروفتومتری استفاده شد. ابتدا دستگاه با آب مقطر کالیبره و صفر آن تنظیم شد. سپس آبمیوه در سل مخصوص ریخته شد و در طول موج ۴۴۰ نانومتر که برای آبمیوه‌های شفاف تعیین شده است، میزان جذب آن قرائت شد و بعنوان معیار رنگ گزارش گردید.

اندازه گیری ویسکوزیته

ویسکوزیته آبمیوه‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد با استفاده از ویسکومتر بروکفیلد (LV-DV III Brookfield, MA, USA) اندازه گیری شد. اسپیندل شماره ۲ در دور ۶۰ rpm مورد استفاده قرار گرفت و ویسکوزیته برحسب میلی پاسکال ثانیه پس از ۳۰ ثانیه قرائت شد.

شمارش باکتری‌های سرمادوست

برای تعیین تعداد باکتری‌های سرمادوست در طی دوره نگهداری طبق روش استاندارد ملی ۳۴۱۴ (۱۳۸۵) عمل شد. آماده سازی نمونه و تهیه رقت‌های اعشاری نیز مطابق استاندارد ملی ۳۶۵ (۱۳۸۰) انجام شد. میزان ۱ میلی لیتر از آبمیوه به محیط کشت سترون نوترینت آگار منتقل شد و به مدت ۱۰ روز در دمای ۴±۱ °C انکوبه شد. تعداد کلنی‌های باکتری های سرمادوست در پایان این مدت شمارش شده و به‌صورت CFU/ml گزارش گردید.

ارزیابی حسی

ویژگی‌های حسی نمونه‌های آب سیب غنی شده با استفاده از تست هدونیک ۵ نقطه‌ای توسط بیست نفر ارزیاب آموزش ندیده که مصرف کننده‌ی آبمیوه بودند مورد مطالعه قرار گرفت. از ارزیاب‌ها درخواست شد به میزان پذیرش کلی نمونه‌های آب سیب بین ۱ (بسیار نامطلوب) تا ۵ (بسیار خوشایند) امتیاز دهند. رنگ، بو و طعم در تعیین پذیرش کلی مد نظر قرار گرفته بود.

تجزیه و تحلیل آماری

تمامی آزمون‌ها در سه تکرار انجام شدند. آنالیز آماری در قالب طرح کاملاً تصادفی با آنالیز واریانس یک‌طرفه (one-way ANOVA) با استفاده از نرم افزار SPSS 23 (Version 21, SPSS Inc., 250 Chicago, IL, USA) انجام شد. اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌ها توسط آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد برآورد گردید. از نرم افزار Excell (Office 2016) جهت رسم نمودارها استفاده شد.

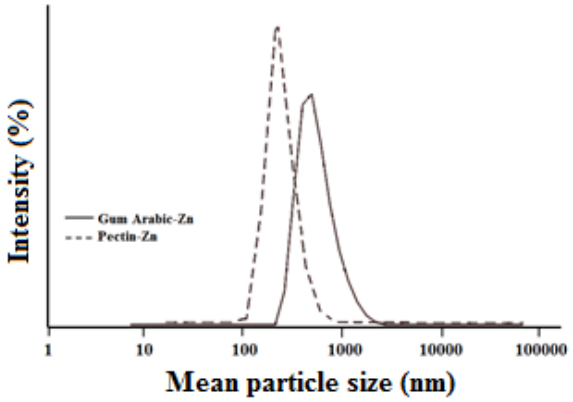
1 . Nephelometric turbidity units

نتایج و بحث

تعیین خواص میکروکپسول‌ها

تعیین اندازه ذرات

شکل ۱ نتایج آزمون DLS بر روی دو نوع میکروکپسول تولید شده را نشان می‌دهد. همان طور که مشاهده می‌شود، میکروکپسول‌های تولید شده با پکتین دارای قطر کمتری نسبت به نوع تهیه شده با صمغ عربی بودند. میانگین حجمی قطر ذرات (D_{43}) از روی نتایج DLS برای میکروکپسول‌های پکتین – روی برابر ٤٣٠ نانومتر و برای میکروکپسول‌های صمغ عربی – روی برابر ٧٦٠ نانومتر محاسبه شد. این امر نشان می‌دهد که هر دو بیوپلیمر از کارایی خوبی در درون پوشانی سولفات روی برخوردار می‌باشند. نه صمغ عربی و نه پکتین دارای خاصیت دوگانه دوستی و امولسیفایری نیستند. به همین دلیل استفاده از آنها در درون پوشانی ترکیبات آبگریز مانند اسانس‌ها معمولاً اندازه ذرات بالاتری بدست می‌دهد (حسین نیا و همکاران ۲۰۱۷). اما در مورد سولفات روی، مکانیسم عمل آنها متفاوت است. به احتمال زیاد اتصالات یونی بین سولفات روی و بیوپلیمرها برقرار می‌شود و این نوع اتصالات نقش مهمی در شکل گیری میکروکپسول‌ها دارد (گارسیا سالدان و همکاران ۲۰۱۵). از آنجایی که توانایی پکتین در تشکیل اتصالات یونی بیشتر از صمغ عربی می‌باشد (آمارا و همکاران ۲۰۱۷)، به همین دلیل اندازه ذرات پکتین – روی کمتر از ذرات صمغ عربی – روی بدست آمده است. یک دلیل دیگر برای کمتر بودن اندازه‌ی میکروکپسول‌های پکتین – روی در مقایسه با صمغ عربی – روی می‌تواند تفاوت در وزن مولکولی آنها باشد. صمغ عربی وزن مولکولی به مراتب بیشتری نسبت به پکتین دارد (علی و همکاران ۲۰۰۹) که این امر را در حین تهیه‌ی محلول‌های بیوپلیمری نیز از روی ویسکوزیته می‌شد مشاهده نمود. بنابراین در حین خشک کردن پاششی، بدلیل وزن مولکولی بالاتر، لایه ضخیم‌تری از صمغ عربی در مقایسه با پکتین بر روی ذرات سولفات روی شکل می‌گیرد و در نتیجه اندازه میکروکپسول‌های حاصل، بزرگتر خواهد بود. در مورد استفاده از پکتین و صمغ عربی در درون پوشانی ترکیبات دیگر تقریباً نتایج مشابهی بدست آمده است (انسینا و همکاران ۲۰۱٦؛ اسدپور و همکاران ۲۰۱٦).



شکل ۱- میانگین قطر ذرات میکروکپسول‌ها طبق نتایج آزمون DLS

Figure 1- Mean particle diameter of microcapsules obtained by DLS test

تعیین عدد اسپن

همان طور که از شکل ۱ مشخص است، هر دو نوع میکروکپسول تولید شده در این پژوهش حالت تک پخشی دارند. میزان PDI برای میکروکپسول‌های پکتین – روی و صمغ عربی – روی بترتیب برابر ۰/۲۲۲ و ۰/٥٤٦ بدست آمد. PDI پایین‌تر برای میکروکپسول‌های تهیه شده با پکتین، نشان دهندهٔ یکنواختی بیشتر اندازه ذرات تولید شده می‌باشد. این امر نشان می‌دهد که سرعت عمل و کارایی پکتین در تولید میکروکپسول بیشتر و بهتر از صمغ عربی است و می‌تواند میکروکپسول‌های یکنواخت تری تولید کند. این قابلیت همان طور که اشاره شد، به توانایی بیشتر پکتین در تشکیل پیوندهای یونی و شیمیایی در مقایسه با صمغ عربی مربوط می‌شود (آمارا و همکاران ۲۰۱۷). همچنین از روی PDI های پایین بدست آمده می‌توان اذعان نمود که روش خشک کردن پاششی روشی مناسب برای

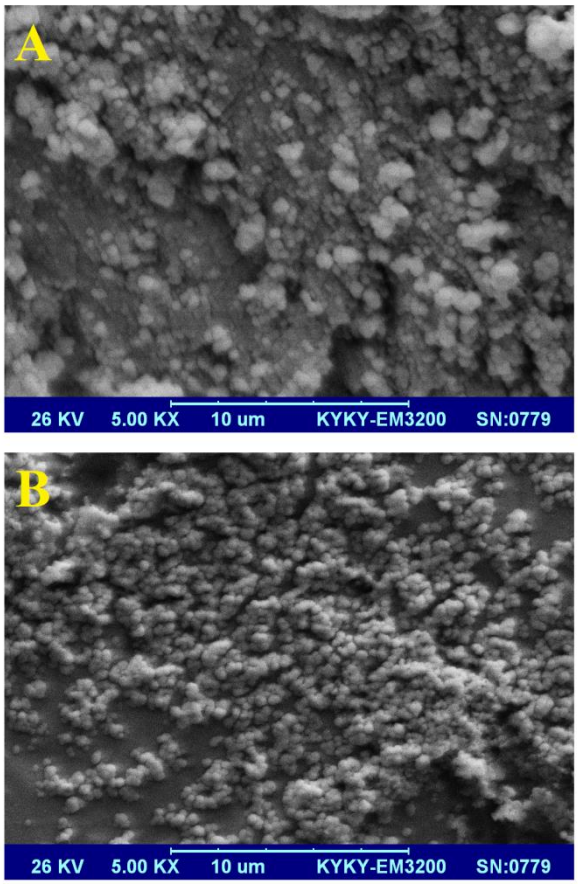
تولید میکروکپسول‌های حاوی سولفات روی است. این ویژگی مثبت روش خشک کردن پاششی پیش از این نیز در پژوهش‌های دیگر مورد اشاره قرار گرفته است (ومر و پاتل ۲۰۱۳؛ رجبی و همکاران ۲۰۱۵).

تعیین پتانسیل زتا

در این پژوهش میزان پتانسیل زتا برای میکروکپسول‌های صمغ عربی – روی برابر ۱۸- میلی ولت بدست آمد اما برای میکروکپسول‌های پایدار شده با پکتین این عدد برابر ۲۸/٦- میلی ولت بود. این امر نشان می‌دهد که میزان چگالی بار سطحی در اطراف میکروکپسول‌های پایدار شده با پکتین بیشتر از حالتی است که از صمغ عربی استفاده شده باشد. دلیل این امر را می‌توان به وجود گروه‌های کربوکسیل ($-COO^-$) آزاد در روی رشته‌های پکتین نسبت داد. این درحالی است که با توجه به ساختار شیمیایی میزان گروه‌های باردار بر روی ساختمان صمغ عربی کمتر از پکتین می‌باشد (علی و همکاران ۲۰۰۹). بنابراین می‌توان گفت که میکروکپسول‌های پایدار شده با پکتین دارای پایداری الکترواستاتیک بیشتری نسبت به میکروکپسول‌های صمغ عربی – روی هستند و احتمال توده شدن آنها در حین فراوری و نگهداری آبمیوه کمتر خواهد بود. گارسای سالدان و همکاران (۲۰۱٦) در مقایسه‌ی صمغ عربی و پکتین در درون پوشانی عصاره دانه‌ی کلم بروکلی به نتایج مشابهی دست یافتند.

بررسی ریزساختار میکروکپسول‌ها

شکل ۲ تصاویر SEM میکروکپسول‌های صمغ عربی – روی (A) و پکتین – روی (B) را نشان می‌دهد. هر دو نوع میکروکپسول تولید شده دارای شکل کروی یکنواخت و با مورفولوژی تقریباً مشابه هم بودند. همچنین هیچ شکست یا ترک خوردگی در سطح میکروکپسول‌ها مشاهده نشد که نشان دهندهٔ کارایی خوب روش مورد استفاده برای درون پوشانی و عدم تأثیر منفی حرارت بر روی میکروکپسول‌های تشکیل شده می‌باشد. محققین دیگر در مورد درون پوشانی اسانس‌های گیاهی با بیوپلیمرهای مختلف به روش خشک کردن پاششی به نتایج مشابهی دست یافتند (کاروالهو و همکاران ۲۰۱٤؛ سیلوا و همکاران ۲۰۱٦؛ آمارا و همکاران ۲۰۱۷).



شکل ۲- تصاویر میکروسکوپ SEM میکروکپسول‌های صمغ عربی – روی (A) و پکتین – روی (B)

Figure 2- SEM microscopy images of gum Arabic-zinc (A) and pectin-zinc (B) microcapsules

نکته قابل توجه دیگر در شکل ۲ توزیع تقریباً یکنواخت اندازه ذرات در مورد هر دو نوع میکروکپسول می‌باشد که با نتایج PDI کاملاً مطابقت دارد. همچنین در مورد اندازه‌ی ذرات نیز همان طور که در تصویر مشاهده می‌شود، میکروکپسول‌های پایدار شده با صمغ عربی اندازه‌ی نسبتاً بزرگتری نسبت به میکروکپسول‌های پکتین – روی دارند. از روی تصاویر میکروسکوپی، میانگین اندازه ذرات برای میکروکپسول‌های پکتین روی

برابر ٤٥٥ نانومتر و برای میکروکپسول‌های صمغ عربی – روی برابر ۸۱۰ نانومتر محاسبه شد که تقریباً با نتایج حاصل از DLS مطابقت و همخوانی دارد.

بررسی ویژگی‌های آب سیب غنی شده

pH و اسیدیته

pH تمامی نمونه در طول دوره نگهداری در محدوده‌ی استاندارد (کمتر از ٤/٢) بود. با توجه به آنالیز آماری مقادیر pH، مشخص است که در بین pH نمونه‌های مختلف اختلاف معنی داری وجود ندارد. همچنین زمان نگهداری نیز بر روی pH چندان موثر نبود هرچند که pH آبمیوه‌ها با گذشت زمان اندکی کاهش یافت. تنها در روی شصتم نگهداری، نمونه‌ی غنی شده با سولفات روی آزاد اختلاف معنی‌دار از نظر زمان نگهداری نشان داد که احتمالاً بدلیل تأثیر روی در آزادسازی یون‌ها از ترکیبات مختلف درون آبمیوه یا از خود ذرات سولفات روی می‌باشد (پولاخاندام و همکاران ۲۰۱۱). بطور کلی، غنی سازی آب سیب با سولفات روی به شکل‌های مختلف، تأثیر قابل توجهی بر روی pH آن نشان نداد.

مقادیر اسیدیته نمونه‌های آب سیب نیز روندی مشابه با pH نشان داد. بطوریکه نه زمان نگهداری و نه نوع تیمار تأثیر معنی داری بر روی مقادیر اسیدیته‌ی آب سیب نشان نداد ($P\geq0.05$) و اسیدیته همه نمونه‌ها در همه زمان‌های آزمون در حدود ۰/۱۷ گرم در صد گرم (برحسب اسید مالیک) محاسبه شد. این نتایج نشان می‌دهد که نه خود سولفات روی و نه بیوپلیمرهای مورد استفاده برای درون پوشانی آن، هیچگونه نقشی در تغییرات شیمیایی در آب سیب ندارند و حالت طبیعی این آبمیوه را تغییر نمی‌دهند. بنابراین غنی سازی با روی به هر شکل ممکن تأثیری بر روی ترکیب شیمیایی آب سیب نخواهد داشت.

اندیس فرمالین

اندیس فرمالین معیاری برای تعیین میزان اسیدهای آمینه در آبمیوه می‌باشد. مطابق استاندارد ملی ایران (شماره ٣٦٥) میزان اندیس فرمالین در آب سیب باید حداقل ۲ میلی گرم در صد میلی لیتر باشد. همان طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، اندیس فرمالین تمام نمونه‌ها در حدود ۵ بوده و بالاتر از حد استاندارد می‌باشد. از داده‌های جدول ۱ مشخص است که نوع تیمار و زمان نگهداری بر روی اندیس فرمالین تأثیر معنی داری ندارد. مواد افزودنی مورد استفاده در فرمولاسیون آبمیوه‌های غنی شده فاقد ترکیبات پروتئینی است. همچنین این مواد اثری بر روی تخریب و تجزیه‌ی آمینواسیدها در آبمیوه ندارند. به همین دلیل عدم تغییر در اندیس فرمالین آب سیب خالص پس از افزودن روی، پکتین و صمغ عربی دور از انتظار نبود. حسینی و همکاران (١٣٩٦) آبمیوه (آب آلبالو و آب سیب) سین بیوتیک تولید کردند و مشاهده کردند که با افزودن باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و ترکیب پری بیوتیک اینولین، تغییری در اندیس فرمالین آبمیوه‌ها ایجاد نمی‌شود.

کدورت

یکی از مهمترین پارامترها در مورد آبمیوه‌های شفافی مانند آب سیب، تعیین کدورت آنهاست. تأثیر افزودن میکروکپسول‌ها بر روی کدورت آب سیب قابل توجه بود. شکل ۳ تغییرات کدورت آب سیب با تیمارهای مختلف را در زمان‌های مختلف نگهداری نشان می‌دهد. تأثیر گذشت زمان در کدورت آب سیب قابل توجه بود. آب سیب شاهد و خالص، در روز اول نگهداری کدورت بالایی نشان داد (برابر ۵ واحد) اما با گذشت زمان، کاهش قابل توجهی در کدورت آب سیب مشاهده شد. دلیل این امر، احتمالاً تجزیه و تغییر شیمیایی یا میکروبی در ترکیبات پلیمری و پلی‌ساکاریدی معلق در آبمیوه باشد که با گذشت زمان میزان آنها در اثر تغییرات شیمیایی کاهش پیدا کرد (حسینی و همکاران ١٣٩٦). این روند کاهش کدورت با گذشت زمان تقریباً در تمام نمونه‌ها بجز نمونه غنی شده با صمغ عربی – روی معنی دار بود. افزودن سولفات روی آزاد، نه تنها باعث افزایش کدورت نشد بلکه باعث کاهش معنی دار

کدورت در روز اول نیز شد (کاهش از ۵ به ۳/۵). اما افزودن میکروکپسول‌ها چنین اثری نداشت و باعث افزایش کدورت آبمیوه شد. بطوریکه در روز بیستم، آب سیب غنی شده با پکتین – روی بیشترین کدورت را داشت (۵ واحد) و در روز شصتم نگهداری نیز نمونه غنی شده با صمغ عربی – روی بیشترین کدورت را نشان داد (٤/٨ واحد). با گذشت زمان، کدورت نمونه‌های غنی شده با میکروکپسول پکتین کاهش یافت که احتمالاً همان تغییراتی رخ داده است که برای آب سیب خالص مطرح شد. اما در مورد نمونه‌ی غنی شده با میکروکپسول صمغ عربی – روی، کاهش معنی داری با گذشت زمان مشاهده نشد که نشان دهندهٔ عدم تغییر دیسپرسیون در طی مدت نگهداری می‌باشد. بطور کلی، صمغ عربی بیشتر از پکتین بر روی افزایش کدورت آب سیب موثر بود و این افزایش کدورت نه در روز اول بلکه در روزهای بعدی نگهداری معنی دار بود. در مورد تأثیر حضور بیوپلیمرهای کربوکسی متیل سلولز (کاپیتانی و همکاران ۲۰۰۷) و اینولین و پلی دکستروز (گیبسون و همکاران ۱۹۹۵) در آبمیوه‌های غنی شده نیز نتایج مشابهی گزارش شده است.

رنگ

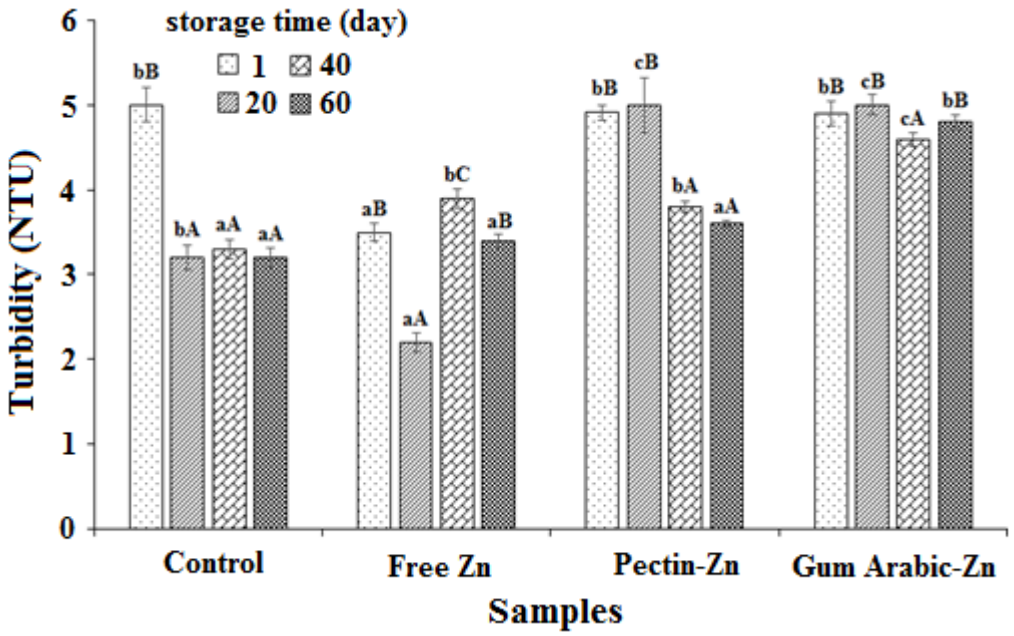
تاکنون استاندارد خاصی برای رنگ آبمیوه‌ها تدوین نشده است اما از نظر صنعتی و در بین تاجران آبمیوه، اگر رنگ آب سیب درصد عبور بیشتر از ٤٥٪ داشته باشد آب سیب با کیفیت تلقی می‌شود. جدول ۲ میزان رنگ آب سیب‌ها را نشان می‌دهد. اعداد موجود در جدول میزان درصد عبور نور در اسپکتروفتومتر را نشان می‌دهد. هرچه این عدد بیشتر باشد نشان دهندهٔ شفافیت بیشتر و رنگ مطلوب آب سیب می‌باشد.

جدول ۱- اندیس فرمالین (mg/100cc) نمونه‌های آب سیب غنی شده با روی در طول مدت نگهداری در دمای یخچال

Table 1- Formalin index (mg/100cc) of zinc fortified apple juice samples during storage at refrigeration temperature

Sample	Storage time (Day)			
	1	20	40	60
Control	5.10 ± 0.05^{aA}	5.12 ± 0.01^{bA}	5.10 ± 0.23^{aA}	5.10 ± 0.01^{aA}
Free Zn	5.12 ± 0.05^{aA}	5.14 ± 0.11^{aA}	5.30 ± 0.52^{aA}	5.20 ± 0.10^{aA}
Pectin-Zn	5.11 ± 0.19^{aA}	5.11 ± 0.44^{aA}	5.20 ± 0.07^{aA}	5.20 ± 0.21^{aA}
Gum Arabic-Zn	5.12 ± 0.14^{aA}	5.10 ± 0.05^{aA}	5.25 ± 0.22^{aA}	5.30 ± 0.03^{aA}

Means with different lowercase letters indicate significant differences ($p<.05$) within a column.
Means with different uppercase letters indicate significant differences ($p<.05$) within a raw.



شکل ۳- کدورت نمونه‌های آبمیوه غنی شده با میکروکپسول‌های روی در طی نگهداری در دمای یخچال

حروف غیرمشابه بزرگ نشان دهنده‌ی وجود اختلاف بین زمان‌ها و حروف غیرمشابه کوچک نشان دهنده‌ی وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها در سطح ۵٪ می‌باشد.

Figure 3- Turbidity of apple juice samples fortified with zinc microcapsules during storage at refrigerator

Different lowercase letters show significantly difference between all samples at same time and different uppercase letters show significantly difference between times for each sample.

همان طور که مشخص است، در روز اول تولید، تمامی نمونه‌ها دارای شاخص رنگی بالاتر از ٤٠ ٪ می‌باشند. با افزودن روی و آزاد و میکروکپسول‌ها شاخص رنگ افزایش یافت. بنابراین می‌توان گفت که در آب غنی شده هرچند که کدورت افزایش می‌یابد اما افزودن این ترکیبات بر روی رنگ آب سیب اثر مطلوب دارد. این اثر در مورد صمغ عربی بیشتر است چراکه محلول خود این ترکیب دارای رنگی تقریباً مشابه با رنگ آب سیب بود. با گذشت زمان شاخص رنگ در همه نمونه‌ها کاهش یافت و این کاهش در مورد همه تیمارها معنی دار بود. بطوریکه در روز شصتم نگهداری کمترین شاخص رنگ برای همه نمونه‌ها ثبت گردید. اما در روز پایانی آزمون‌ها، نمونه غنی شده با میکروکپسول پکتین – روی رنگ بهتری نسبت به سایر نمونه‌ها حتی نمونه غنی شده با صمغ عربی – روی نشان داد. این تفاوت زمانی در تأثیرگذاری پکتین و صمغ عربی بر روی رنگ و کدورت آب سیب احتمالاً بدلیل فعل و انفعالاتی است که در این ترکیبات و در برهمکش های آنها با یکدیگر و یا با سایر ترکیبات موجود در آب سیب رخ می‌دهد (حسینی و همکاران ١٣٩٦). مسلماً دستیابی به نتایج قطعی‌تر در این زمینه نیاز به مطالعات بیشتر و کاملتر دارد.

ویسکوزیته

افزودن هر ترکیبی مخصوصاً ترکیبات با وزن مولکولی بالا مانند پکتین و صمغ عربی می‌تواند بر روی ویسکوزیته آب میوه موثر باشد. جدول ۳ مقادیر ویسکوزیته را برای آبمیوه‌های مختلف نشان می‌دهد. در روز اول نگهداری، آب سیب خالص و بدون افزودنی، کمترین ویسکوزیته را نشان داد. افزودن سولفات روی آزاد نیز بر روی ویسکوزیته اثر معنی داری نداشت. اما زمانیکه این ترکیب با مواد پلی ساکاریدی ریزپوشانی شد، ویسکوزیته به‌طور قابل

توجهی افزایش پیدا کرد. پکتین و صمغ عربی از یک طرف قدرت جذب آب بالایی دارند و بنابراین با اتصال به آب و تشکیل شبکه ژلی می‌توانند باعث افزایش ویسکوزیته شوند (حسین نیا و همکاران ۲۰۱۷). از طرف دیگر وزن مولکولی بالای آنها باعث ایجاد تغییرات رئولوژیکی در آبمیوه می‌شود و هرچند که مقدار استفاده شده از آنها کمتر است اما همین میزان کم باعث افزایش معنی دار در ویسکوزیته آب سیب شده است. اختلاف معنی دار در ویسکوزیته‌ی نمونه‌ها در تمامی زمان‌های آزمون حفظ شده است و در تمامی زمان‌ها نمونه غنی شده با میکروکپسول صمغ عربی – روی بیشترین ویسکوزیته را نشان داده است. صمغ عربی نسبت به پکتین وزن مولکولی بالاتری دارد همچنین قابلیت جذب آب آن بیشتر از پکتین است (علی و همکاران ۲۰۰۹). به همین دلیل تأثیر ان بر روی ویسکوزیته نیز بیشتر است. همان طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، گذشت زمان اثر قابل توجهی بر روی ویسکوزیته نداشته است و در بین زمان‌های مختلف آزمون برای یک نمونه، اختلاف معنی‌دار مشاهده نمی‌شود. این امر نشان می‌دهد که هرچند که تغییرات بیوشیمیایی در طول زمان نگهداری آب سیب ممکن است به تغییرات رنگ و کدورت منجر شود، اما این تغییرات بر روی ویسکوزیته و خواص رئولوژیکی آب سیب تأثیرگذار نیست (رنوکا و همکاران ۲۰۰۹). درواقع می‌توان نتیجه گرفت که دلیل تغییر در خواص رنگی آب سیب، رسوب یا دوفازه شدن میکروکپسول‌ها نیست زیرا در این صورت بایستی ویسکوزیته نیز در طول زمان دچار تغییر می‌شد.

جدول ۲- شاخص رنگ (٪) نمونه‌های آب سیب غنی شده با روی در طول مدت نگهداری در دمای یخچال

Table 2- Color index (%) of zinc fortified apple juice samples during storage at refrigeration temperature

Sample	Storage time (Day)			
	1	20	40	60
Control	42.50 ± 1.15^{aC}	41.00 ± 0.87^{aB}	41.60 ± 1.73^{bB}	38.50 ± 1.21^{bA}
Free Zn	45.50 ± 1.05^{bD}	43.00 ± 0.98^{bC}	38.50 ± 0.65^{aA}	41.20 ± 0.54^{cB}
Pectin-Zn	47.20 ± 0.08^{cC}	40.10 ± 0.44^{aB}	38.10 ± 0.43^{aA}	47.50 ± 0.87^{dC}
Gum Arabic-Zn	52.40 ± 0.54^{dD}	48.00 ± 0.66^{cC}	40.10 ± 1.22^{aB}	35.50 ± 0.43^{aA}

Means with different lowercase letters indicate significant differences ($p<.05$) within a column.
Means with different uppercase letters indicate significant differences ($p<.05$) within a raw.

جدول ۳- ویسکوزیته (mPa.s) نمونه‌های آب سیب غنی شده با روی در طول مدت نگهداری در دمای یخچال

Table 3- Viscosity (mPa.s) of zinc fortified apple juice samples during storage at refrigeration temperature

Sample	Storage time (Day)			
	1	20	40	60
Control	3.84 ± 0.12^{aA}	3.22 ± 0.21^{aA}	3.54 ± 0.08^{aA}	3.54 ± 0.11^{aA}
Free Zn	3.92 ± 0.14^{aA}	3.54 ± 0.31^{aA}	3.78 ± 0.22^{aA}	3.19 ± 0.10^{aA}
Pectin-Zn	4.68 ± 0.10^{bA}	4.34 ± 0.76^{bA}	4.87 ± 0.37^{bA}	4.60 ± 0.43^{bA}
Gum Arabic-Zn	5.36 ± 0.76^{cA}	5.19 ± 0.45^{cA}	5.54 ± 0.19^{cA}	5.43 ± 0.19^{cA}

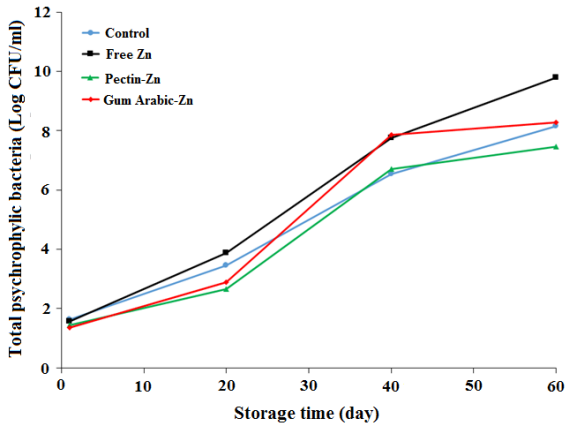
Means with different lowercase letters indicate significant differences ($p<.05$) within a column.
Means with different uppercase letters indicate significant differences ($p<.05$) within a raw.

شمارش میکروبی

شکل ٤ شمارش باکتری‌های سرمادوست آبمیوه‌ها در طی دوره نگهداری را نشان می‌دهد. بار میکروبی اولیه در آبمیوه‌های پاستوریزه شده در حدود LogCFU/ml ۱/۵ بود. باکتری‌های اسیدلاکتیک مانند *لاکتوباسیلوس بروویس* از جمله عوامل باکتریایی فساد آبمیوه‌ها هستند.

باکتری‌های اسید استیک مانند *گلوکونوباکتر* نیز در موارد نقص در بسته بندی و افزایش اکسیژن محلول، باعث فساد آبمیوه می‌شوند. همچنین باکتری‌های اسپوردار مقاوم به اسید مانند *آلیسایکلوباسیلوس اسیدوترستریس* نیز با تولید الکل سبب فساد آبمیوه می‌شوند. این باکتری‌ها نسبت به حرارت پاستوریزاسیون مقاوم هستند (کانومیر و همکاران ۲۰۰۲).

با افزایش زمان نگهداری، در همه نمونه‌ها بار میکروبی افزایش یافت. بطوریکه در روز شصتم در نمونه شاهد به حدود ۸ برابر رسید. اما این روند افزایشی در مورد نمونه غنی شده با سولفات روی آزاد بیشتر از سایر نمونه‌ها بود و در روز نهایی، این نمونه بیشترین بار میکروبی را نشان داد (۹/۷۸ Log CFU/ml). احتمالاً آلودگی اولیه سولفات روی بالا بوده است و یا اینکه حضور یون‌های این ترکیب باعث تقویت رشد باکتری‌ها می‌شود. اما زمانیکه از میکروکپسول‌های سولفات روی استفاده شد، بار میکروبی اندکی کاهش یافت. در این میان، تأثیر پکتین بیشتر از صمغ عربی بود و در روز شصتم، نمونه غنی شده با میکروکپسول‌های پکتین کمترین بار میکروبی را نشان داد. این امر نشان می‌دهد که ریزپوشانی سولفات روی با پکتین و صمغ عربی، با محصور کردن این ماده، نقش تقویتی آن را در رشد باکتری‌ها کاهش می‌دهد و به همین دلیل باعث کاهش در بار میکروبی آبمیوه می‌شود. اما به‌طور کلی میزان بار میکروبی اولیه و روند افزایشی آنها نشان داد که پاستوریزاسیون آبمیوه‌ها در شرایط آزمایشگاهی بخوبی صورت نگرفته بوده و یا اینکه آلودگی بطری‌ها و ظروف مورد استفاده باعث بالا بودن بار میکروبی شده است. همچنین ممکن است دربندی ناقص ظروف PET باعث آلودگی ثانویه شده باشد. لازم به ذکر است که در مورد بررسی بار میکروبی آبمیوه‌های غنی شده با ترکیبات مختلف، منبع موثقی وجود نداشت تا نتایج آنها با نتایج پژوهش حاضر مقایسه شود.



شکل ۴- شمارش باکتری‌های سرمادوست در آبمیوه‌های غنی شده با میکروکپسول‌های روی در طی نگهداری در دمای یخچال

Figure 4- Psychrophilic bacteria counts of apple juice samples fortified with zinc microcapsules during storage at refrigerator.

ارزیابی حسی

جدول ٤ نتایج ارزیابی حسی نمونه‌های آب سیب را در طول مدت نگهداری نشان می‌دهد. همان طور که مشخص است، در بین نمونه‌های آب سیب در روز اول نگهداری، اختلاف معنی داری وجود نداشت. اما از روز بیستم به بعد، در نمونه‌های غنی شده با سولفات روی آزاد، امتیاز پذیرش کلی بطور معنی داری رو به کاهش گذاشت و در همه‌ی زمان‌های نگهداری کمترین امتیاز را این نمونه به خود اختصاص داد. درحالیکه در بین سایر نمونه‌های غنی شده، با نمونه شاهد اختلاف معنی داری در هیچ یک از روزهای آزمون مشاهده نشد. به ادعای ارزیاب‌ها بیشترین تغییر در خواص آب سیب غنی شده با سولفات روی آزاد، مربوط به تشدید رنگ و همچین ایجاد یک بوی نامطبوع در طی نگهداری بود. این امر نشان می‌دهد که درون پوشانی سولفات روی، به حفظ پایداری این ترکیب کمک کرده و تغییرات نامطلوب آن و همچنین واکنش‌های احتمالی آن با سایر ترکیبات شیمیایی موجود در محیط را کنترل می‌کند و از این طریق به حفظ خصوصیات حسی آب سیب غنی شده منجر می‌شود. بطوریکه از نظر آماری، آب سیب غنی

شده با میکروکپسول‌های روی با آب سیب شاهد، در تمام روزهای آزمون قابل تشخیص نبود.

نتیجه گیری

این پژوهش نشان داد روش خشک کردن پاششی یک روش موثر برای میکرو درون پوشانی سولفات روی با هدف استفاده در غنی سازی مواد غذایی بوده و می‌توان از این روش برای تولید میکروکپسول‌ها در مقیاس صنعتی استفاده نمود. افزودن میکروکپسول‌های حاوی روی، تأثیر قابل توجهی بر روی pH و اسیدیته آب سیب نداشت اما افزودن میکروکپسول باعث افزایش کدورت آب سیب شد و تأثیر تیمار حاوی صمغ عربی بیشتر از پکتین بود. تأثیر بر روی رنگ آب سیب متفاوت با تأثیر بر کدورت بود. میکروکپسول‌ها شاخص رنگ آب سیب را بهتر کردند و در این میان تأثیر صمغ عربی بیشتر از پکتین بود. ویسکوزیته‌ی آبمیوه نیز دستخوش تغییر قرار گرفت و با افزودن میکروکپسول‌ها ویسکوزیته بیشتر شد. بطور کلی، نتایج این پژوهش نشان داد که تولید میکروکپسول‌های حاوی سولفات روی (بویژه میکروکپسول تولید شده با پکتین) و استفاده از آن در آب سیب می‌تواند به تولید یک محصول فراسودمند و غنی شده‌ی جدید منجر شود و بخش قابل توجهی از نیاز روزانه‌ی مصرف کنندگان بویژه کودکان را به ریزمغذی روی تأمین نماید بدون اینکه بر روی خواص حسی و ویژگی‌های شیمیایی محصول اثر قابل توجهی داشته باشد.

جدول ۴- امتیاز پذیرش کلی نمونه‌های آب سیب غنی شده با روی در طول مدت نگهداری در دمای یخچال

Table 4- Total acceptance scores of zinc fortified apple juice samples during storage at refrigeration temperature

Sample	Storage time (Day)			
	1	20	40	60
Control	4.66 ± 0.90^{aA}	5.00 ± 0.56^{aA}	4.53 ± 0.08^{aA}	4.32 ± 0.11^{aA}
Free Zn	5.00 ± 0.32^{aA}	3.36 ± 0.08^{bB}	3.19 ± 0.22^{bB}	2.45 ± 0.10^{bC}
Pectin-Zn	4.54 ± 0.77^{aA}	4.67 ± 0.56^{aA}	4.35 ± 0.57^{aA}	4.60 ± 0.41^{aA}
Gum Arabic-Zn	5.00 ± 0.65^{aA}	4.66 ± 0.32^{aA}	4.54 ± 0.23^{aA}	4.43 ± 0.16^{aA}

Means with different lowercase letters indicate significant differences ($p<.05$) within a column.
Means with different uppercase letters indicate significant differences ($p<.05$) within a raw.

منابع مورد استفاده

اداره استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، استاندارد ملی ایران، شماره ۲۶۸۵، آبمیوه ها – روش های آزمون، تجدید نظر اول، ۱۳۸۶.

اداره استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، استاندارد ملی ایران، شماره ۳۶۵، آب سیب – ویژگی ها، تجدید نظر چهارم، ۱۳۹۸.

اداره استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، استاندارد ملی ایران، شماره ۳۴۱۴، نوشیدنی ها (آبمیوه ها و فراورده های آن) ویژگی ها و روش های آزمون میکروبیولوژی، تجدید نظر اول، ۱۳۸۵.

اداره کل نظارت و ارزیابی فرآورده های غذایی، آرایشی و بهداشتی، دستورالعمل اجرایی مواد غذایی فراسودمند، غنی سازی اختیاری با ریزمغذی‌ها بازنگری سوم :شهریور ۱۳۹۳.

برنا ص، حق الهی ق، گلستان ب و نوروزی م، ۱۳۸۸. مقایسه فراوانی کمبود روی سرم در خانم‌های حامله و غیرحامله، مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۶۷، ۳۶۷-۳۶۰.

حسینی م، رضازادباری م و علیزاده م، ۱۳۹۶. تولید آبمیوه سین بیوتیک: بررسی تأثیر pH، بریکس، اندیس فرمالین و رئولوژی. علوم و صنایع غذایی ایران، ۶۳، ۳۱-۲۱.

خاکباز حشمتی م و خوشقدم ح، ۱۳۹٦. بررسی ویژگی‌های رئولوژیکی و فیزیکی‌شیمیایی فرمولاسیون جدید آب میوه حاصل از ترکیب آلبالو و انگور قرمز غنی شده با فیبر رژیمی اینولین به عنوان محصولی پری‌بیوتیک، پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۷، ۱۲۱-۱۳٤.

قهرمانی‌فر الف، ۱۳۹۵. تاثیر ویژگی‌های نانوامولسیون‌های حاصل از هموژنیزاسیون فشار بالا بر ویژگی‌های ریزکپسول‌های حاصل از فرایند ریزپوشانی لیمونن به روش خشک کردن پاششی، پژوهش‌های ضنایع غذایی، ۲٦، ٤٥٦-٤٤٥.

محمودی م و کیمیاگر م، ۱۳۸۱. بررسی اپیدمیولوژی کمبود روی در نوجوانان: همبستگی و ر ابطه بین شاخصهای وضعیت روی در ایران، مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید صدوقی یزد، ۱۰، ۷۹-۷۱.

Ali BA, Ziada A and Blunden G, 2009. Biological effects of gum arabic: A review of some recent research. Food and Chemical Toxicology 47: 1–8.

Allen LH, 1998. Zinc and micronutrient supplements for children. American Journal of Clinical Nutrition 68: 495-498.

Amara BC, Eghbal N, Degraeve P, and Gharsallaoui A, 2016. Using complex coacervation for lysozyme encapsulation by Spray-drying. Journal of Food Engineering 560: 11-21.

Angeles-Agdeppa I, Magsadia CR, and Capanzana MV, 2011. Fortified juice drink improved iron and zinc status of school children. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition 20(4): 535-543.

Assadpour E, Jafari SM and Maghsoudlou Y, 2016. Evaluation of folic acid release from spray dried powder particles of pectin-whey protein nano-capsules. International Journal of Biological Macromolecules 323: 100-119.

Binsi PK, Nayak N, Ashraf PM and Ninan G, 2016. Structural, functional and in vitro digestion characteristics of spray dried fish roe powder stabilized with gum Arabic. Food Chemistry 446: 565-572.

Canumir JA, Celis JE, Vidal LV, 2002. Pasteurization of apple juice by using microwaves. LWT-Food Science and Technology 35: 389-392.

Capitani C, Pérez OE, Pacheco B, Teresa M and Pilosof AMR, 2007. Influence of complexing carboxy methyl cellulose on the thermostability and gelation of α-lactalbumin and β-lactoglobulin. Food Hydrocolloid 21: 1344-1354.

Carvalho AGS, Silva VM, Hubinger MD, 2014. Microencapsulation by spray drying of emulsified green coffee oil with two layered membranes. Food Research International 61: 236–245.

Cilla A, Lagarda MJ, Barberá A, and Romero F, 2010. Polyphenolic profile and antiproliferative activity of bioaccessible fractions of zinc-fortified fruit beverages in human colon cancer cell lines. Nutrition in Hospital 25(4): 561-571.

Das S and Green A, 2016. Zinc in crops and human health in: U. Singh (eds.), Biofortification of food crops, Springer Press, India, pp 210-223.

Dong D, Qi Z, Hua Y, Chen Y, Kong X and Zhang C, 2015. Microencapsulation of flaxseed oil by soya proteins–gum Arabic complex coacervation. International Journal of Food Science & Technology 50(8): 1785-1791.

Encina C, Vergara C, Giménez B, Oyarzún-Ampuero F and Robert P, 2016. Conventional spray-drying and future trends for the microencapsulation of fish oil. Trends in Food Science and Technology 154: 32-45.

Espitia P, Du W and de Jesús Avena-Bustillos R, 2014. Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties: A review. Food Hydrocolloids 35: 287-296.

García-Saldaña JS, Campas-Baypoli ON, López-Cervantes J, Sánchez-Machado DI, Cantú-Soto EU and Rodríguez-Ramírez R, 2016. Microencapsulation of sulforaphane from broccoli seed extracts by gelatin/gum arabic and gelatin/pectin complexes. Food Chemistry 445: 219-228.

Gibson GR, Beahy ER, Wang X and Cunmings JH, 1995. Selective Stimulation of *bifidobacteria* in the human colon by oligofructose and inulin. American Gastroent Assocition 108: 975-982.

Gulersen I, Fang Y and Corredig M, 2012. Zinc incorporation capacity of whey protein nanoparticles prepared with desolvation with ethanol. Food Chemistry 15(2): 770-774.

Hosseinnia M, Alizadeh Khaledabad M and Almasi H, 2017. Optimization of *Ziziphora clinopodiodes* essential oilmicroencapsulation by whey protein isolate and pectin: Acomparative study. International Journal of Biological Macromolecules 101: 958–966.

Jyothi VN, Prasanna P, Sakarkar S, Prabha K, Ramaiah PS and Srawan GY, 2010. Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. Journal of Microencapsulation 27(3): 187–197.

Pullakhandam R, Nair KM, Pamini H and Punjal R, 2011. Bioavailability of iron and zinc from multiple micronutrient fortified beverage premixes in $CaCO_2$ cell model. Journal of Food Science 76: H83-H42.

Rajabi H, Ghorbani M, Jafari SM, Sadeghi A and Rajabzadeh Q, 2015. Retention of saffron bioactive components by spray drying encapsulation using maltodextrin, gum Arabic and gelatin as wall materials. Food Hydrocolloids 145: 550-559.

Renuka B, Kulkami SG, Vijayanand P and Prapulla SG, 2009. Fructooligosacharide fortification of selected fruit juice beverages: effect on the quality characteristics. LWT-Food Science and Technology 42(5): 1031-1033.

Rosado JL, 2003. Zinc and copper: proposed fortification levels and recommended zinc compounds. American Society for Nutritional Sciences 157: 231-239.

Silva E, Azevedo V and Cunha R, 2016. Ultrasound-assisted encapsulation of annatto seed oil: Pectin versus modified starch. Food Hydrocolloids 56: 71-83.

Tan SP, Kha TC, Parks SE, Stathopoulos CE and Roacha PD, 2015. Effects of the spray-drying temperatures on the physiochemical properties of an encapsulated bitter melon aqueous extract powder. Powder Technology 281: 65–75.

Ul-Haq I, Butt MS, Suleria HA, and Ahmed W, 2015. Physicochemical behavior of zinc-fortified, sodium caseinate-based, edible-coated apricots during storage in controlled atmosphere. Journal of Food Processing and Preservation 39: 2431–2441.

Vemmer M and Patel AV, 2013. Review of encapsulation methods suitable for microbial biological control agents. Biological Control 110: 555-564.

Villalpando S, Shamah T, Rivera JA, Lara Y and Monterrubio E, 2006. Fortifying milk with ferrous gluconate and zinc oxide in a public nutrition program reduced the prevalence of anemia in toddlers. The Journal of Nutrition 35: 2633-2639.

WHO Commission on Health and Environment. 2008. Report of the panel on food and agriculture. Geneva: World Health Organization.

Younas MS, Butt MS, Pasha I and Shahid M, 2014. Development of zinc fortified chitosan and alginate based coatings for apricot. Pakistan Journal of Agricultural Science 51(4): 1033-1039.

Zhang H and Zhao Y, 2015. Preparation, characterization and evaluation of tea polyphenol-Zn complex loaded β-chitosan nanoparticles. Food Hydrocolloids 48: 260-273.

Zlewski PD, 1996. Zinc and immunity: implications for growth, survival and function of lymphoid cells. Journal of Nutrition and Immunology 4: 39–80.

Microencapsulation of zinc micronutrient by spray drying method and its application in apple juice fortification

A Sardarifar[1], H Almasi[2*] and L Rufegarinejhad[3]

Recieved: November 23, 2017 Accepted: April 20, 2018

[1]MSc Student, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
[2]Associate Professor, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
[3]Assistant Professor, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
[*]Corresponding author: Email: h.almasi@urmia.ac.ir

Introduction: Fortification is an efficient method for supplying of nutrient deficiency in society. Zinc is one of the main micronutrients that its deficiency in the Iranian people has been approved. This element has many important roles in body metabolisms such cell proliferation, control of growth, improving of immunological system, growth of nail, hair, bones, etc (Zlewski 1996). Fruit juice is a most popular beverage between children and adults and its fortification with zinc element can be a good criteria for compensate of its deficiency (Villalpando et al., 2006). The aim of this research was to produce apple juice fortified with zinc as a new functional and fortified food. Introducing of a novel fortified beverage for supplying of zinc element can open a new insight of the production of fortified foods and beverages.

Materials and methods: Zinc sulphate was encapsulated with pectin and gum Arabic at ratio of 1:10 by spray drying method. Drying was applied at 180 ºC and the obtained powders were stored at refrigeration temperature. The particle size and zeta potential of microcapsules were analyzed by DLS test and SEM microscopy was utilized to study the morphological characteristics of microcapsules (Hosseinnia et al., 2017). At the second step, the produced microcapsules and also free zinc sulphate were added to the apple juice at concentration of 2.5 mg/L. This concentration was selected according to the ADI (acceptable daily intake) value of zinc. The physicochemical properties including pH, acidity, turbidity, color, formalin index and viscosity were investigated. The microbial properties and also sensorial characteristics of the fortified apple juice samples were also evaluated during 60 days storage at refrigerator temperature. One-way ANOVA and Duncan test were used for statistical analysis of obtained data.

Results and discussion: Studying of the morphology of microcapsules revealed that size of capsules produced with pectin (430 nm) is smaller than gum Arabic (760 nm) stabilized capsules and its surface charge is higher. The Zeta potential of gum Arabic stabilized microcapsules was -18 meV but it was equal to -28.6 meV for pectin stabilized samples, revealing the higher stability of pectin microcapsules in comparison to gum Arabic. The SEM images indicated that the homogenous microcapsules are produced by both of biopolymers but the uniform dispersion of pectin microcapsules was higher than gum Arabic. Results of the apple juice fortification indicated that the addition of microcapsules or free zinc had no significant effect on pH, acidity and formalin index of apple juice. These parameters were in the standard range of fruit beverages. This is an important factor for a fortified food that its characteristics are similar to the pure and non-fortified food (Younas et al., 2014). Effect of gum Arabic stabilized microcapsules on turbidity of apple juice was more than pectin-zinc microcapsules. Higher molecular weight and lower purity of gum Arabic in comparison to pectin was the reasons of this observation. On the other hand, gum Arabic enhanced the color index of apple juice but pectin had no effect. Addition of microcapsules increased the viscosity of juice and the effect of gum Arabic was more than pectin. Fortification of apple juice with microcapsules increased the psychrophilic counts during storage. This observation

can be attributed to the cross contamination of microcapsules during production and storage of them. However, by a good heat processing of apple juice after fortification, this problem can be resolved. Also, the total acceptance of apple juice samples containing microcapsules had no significant difference with control sample. At 60^{th} day of storage the sample fortified with pectin stabilized microcapsules had the highest total acceptance storage. The consumer acceptability is the most important factor for designing of fortified foods. Because the fortification can adversely affect the acceptance of fortified food or beverage by consumers (Das and Green 2016).

Conclusion: This research revealed that the encapsulation of zinc with gum Arabic and pectin biopolymers is possible and these microcapsules had acceptable characteristics for using in food fortification. But the efficiency of pectin was more than gum Arabic and it was suggested as the best candidate for production of zinc microcapsules with spray drying method. The spry drying method was proposed as a suitable method for production of zinc loaded microcapsules by both of biopolymers. According to the results of the second stage, fortification of apple juice with zinc microcapsules had no significant effect on the most of physical and chemical properties of beverage and thus the fabricated microcapsules can be used in food and beverage fortification. Generally, the results indicated that a new fortified product could be produced by incorporation of zinc coated microcapsules to apple juice without any altering in its physicochemical properties. The lower changes in the physicochemical characteristics of apple juice after incorporation of zinc microcapsules was the best achievement of this research. This product can be proposed to food and beverage companies as a new fortified product for zinc supplying and increasing of the absorption of this element with consumers. However, it should be noted that a comprehensive research is required for determining the bioavailability of zinc micronutrient in the fortified beverages and in the different consumers regarding their age and gender. Further studies on the bioavailability of encapsulated zinc and its release profile in gastrointestinal simulants are suggested to complete this research.

Key words: Apple juice, Zinc, Fortification, Encapsulation, Morphology, Physicochemical properties