

تهیه و ارزیابی شاخص‌های رنگی نانوکمپلکس‌های کورکومین

شقایق شیخ زاده^{a*}، محمد علیزاده^b، محمود رضازاد^b، حامد همیشه‌کار^c^a دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران^b دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران^c دانشیار مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۸/۱۴

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۵/۴

چکیده

مقدمه: کورکومین پلی‌فنل طبیعی و مهمترین جز رنگی زردچوبه است که دارای فعالیت‌های بیولوژیکی متعددی می‌باشد. با این حال استفاده از این ماده رنگی با ارزش به دلیل حلالیت آبی پایین و ناپایداری در شرایط نامطلوب شیمیایی محدود می‌باشد. انکپسولاسیون روشی برای غلبه بر این موانع می‌باشد. هدف از این پژوهش، تهیه و ارزیابی نانوکمپلکس‌های کورکومین به منظور حفظ و بهبود ویژگی‌های رنگی کورکومین می‌باشد.

مواد و روش‌ها: ابتدا فاز آلی شامل کورکومین در اتانول به فاز آبی شامل سدیم کازئینات، صمغ عربی و توپین ۲۰ اضافه شد. در مرحله بعدی با کاهش pH از ۷ به ۵/۲، ۵ و ۴/۸، نانوذرات تشکیل شدند. اندازه‌گیری سایز ذرات با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری سایز ذرات و ارزیابی شاخص‌های رنگی با استفاده از دستگاه هانتربل انجام شد. به منظور بررسی اثر ۴ متغیر مستقل غلظت سدیم کازئینات (۱-۳/۰٪)، غلظت صمغ عربی (۵-۱۰/۵٪)، غلظت توپین ۲۰ (۰-۲/۰٪) و pH (۴/۸-۵/۲) بر پاسخ‌های مد نظر از طرح Box-Behnken سطح پاسخ استفاده شد. جهت بررسی تشکیل کمپلکس بین اجزای سیستم و کورکومین از آزمون طیف‌سنجی فرورسرخ استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر متغیرهای مستقل بر پاسخ‌ها معنی‌دار بوده است. با افزایش غلظت بیوپلیمرها سایز ذرات از ۱۲۰ نانومتر به ۹۸۴ نانومتر افزایش یافت. با افزایش غلظت سدیم کازئینات، روشنایی نمونه‌ها کاهش یافت. نمونه‌های دارای توپین ۲۰ روشنایی و L* بالاتری داشتند. با کاهش سایز ذرات، شدت رنگ نمونه‌ها افزایش یافت. ناپدید شدن پیک‌های کورکومین در طیف نانو ذرات بیانگر کپسوله شدن آن می‌باشد.

نتیجه‌گیری: بهترین نمونه با کوچک‌ترین اندازه ذرات و بهترین شاخص‌های رنگی کورکومین در غلظت سدیم کازئینات ۲/۰٪، صمغ عربی ۷۵/۰٪، توپین ۲۰ به مقدار ۱/۰٪ و pH ۵ بدست آمد. نانوکمپلکس‌های تولیدی را می‌توان به عنوان حامل مواد مغذی هیدروفوب و در عین حال عامل رنگی در غذاهای عملگرا و محصولات نوشیدنی مورد استفاده قرار داد.

واژه‌های کلیدی: اسپکتروسکوپی فرورسرخ، سدیم کازئینات، شاخص‌های رنگی، صمغ عربی، کورکومین، نانوکمپلکس

مقدمه

رنگ ظاهری مشخصه کیفی اساسی محصولات غذایی می‌باشد که نقش تعیین‌کننده در پذیرش حسی و مقبولیت محصول از نظر مصرف‌کنندگان دارد. امروزه به علت آگاهی مصرف‌کنندگان از مضرات مختلف رنگ‌های شیمیایی مصنوعی از جمله تارترازین بر سلامتی بویژه در کودکان از جمله مشکلات رفتاری، پیش‌فعالی، معضلات گوارشی و آسمی، تومورهای تیروئیدی، واکنش‌های آلرژیک و انواع سرطان، تقاضا برای استفاده از رنگ‌های طبیعی در صنعت غذا افزایش یافته است. اساسا رنگ‌های غذایی مورد استفاده در محصولات غذایی به ۳ دسته طبیعی - شبه‌طبیعی و مصنوعی تقسیم می‌شوند (Mortensen, 2006). رنگ‌های طبیعی و شبه‌طبیعی (تولید شده به وسیله مواد شیمیایی مصنوعی با ساختار مشابه با نوع یافت شده در طبیعت) جایگزین‌های مناسبی برای انواع رنگ‌های مصنوعی به دلیل مسائل سلامتی و بهداشتی می‌باشند (Astete et al., 2009). اما رنگدانه‌های طبیعی به تخریب در حضور نور، گرما و تغییرات pH در شرایط آبی بسیار حساس هستند. همچنین اکثر رنگدانه‌های طبیعی (به جز آنتوسیانین‌ها) ماهیت هیدروفوب دارند. درحالی‌که انواع رنگ‌های مصنوعی شیمیایی در مقایسه با آن‌ها حلالیت آبی بهتری دارند. لازم به ذکر است، بنابر قوانین سختگیرانه صنعت غذا، تعداد محدودی از رنگ‌ها برای مصرف در محصولات غذایی مجاز شناخته شده‌اند و بسیاری از رنگ‌های مورد استفاده که قبلا مجاز بودند از جمله تارترازین، امروزه غیر مجاز و خطرناک شناخته شده‌اند. تارترازین یک ماده رنگ‌کننده شیمیایی، به رنگ نارنجی یا زرد لیمویی است که به صورت رنگ غذایی افزودنی، علی‌رغم غیر مجاز بودن مصرف می‌شود (Anon, 2014). بنابر این ابداع روش‌هایی برای استفاده از مواد رنگی هیدروفوب با درجه غذایی مجاز در محصولات نوشیدنی و غذایی ضروری به نظر می‌رسد.

کورکومین ترکیب پلی‌فنولی طبیعی با وزن مولکولی پایین می‌باشد که در ریشه زردچوبه (کورکوما لونگا) یافت می‌شود و مسئول رنگ زرد-نارنجی زردچوبه می‌باشد. قرن‌هاست که کورکومین به عنوان ادویه و مکمل غذایی و همچنین به عنوان ترکیب دارویی در آسیا مورد استفاده قرار می‌گیرد (Naksuriya et al., 2014). علاقه قابل توجهی

در زمینه استفاده از کورکومین به عنوان ترکیب عملکردی در صنایع غذایی و داروسازی به علت دارا بودن فعالیت‌های فیزیولوژیکی با ارزش از جمله آنتی‌اکسیدان قوی، ضد التهاب، ضد میکروب، ضد قارچ و ضد سرطان بودن وجود دارد (Anand et al., 2007; Anitha, et al., 2011; Zhao et al., 2012). همچنین در مطالعات اخیر نشان داده شده است که کورکومین دارای اثرات درمانی در مقابل بیماری‌های مزمن متعددی از جمله دیابت نوع ۲، آرتریت روماتوئید، مولتیپل اسکلروزیس (ام‌اس)، آلزایمر و آترواسکلروز می‌باشد (Duvoix et al., 2005; Goel et al., 2008; Shin et al., 2011; Naksuriya et al., 2014). لازم به ذکر است که کورکومین (E100) یکی از مهمترین رنگ‌های طبیعی مجاز مورد استفاده در صنایع غذایی است که به طور گسترده در محصولات غذایی از جمله ژله، انواع سوپ‌ها، پنیرها، ماست و بستنی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Mangolim et al., 2014). اما برخلاف فواید بیشماری که کورکومین دارد استفاده از آن با محدودیت‌هایی همراه می‌باشد. این محدودیت‌ها شامل زیست دسترسی پایین، حلالیت آبی پایین و ناپایداری شیمیایی از جمله تخریب سریع در شرایط pH قلیایی، تیمار حرارتی، نور، یون‌های فلزی، آنزیم، اکسیژن و اسیدآسکوربیک می‌باشد.

انکپسولاسیون، روشی برای محافظت ترکیبات مغذی از آسیب‌های محیطی، افزایش حلالیت و انتقال در یک مسیر کنترل شده می‌باشد. در میان روش‌های مختلف انکپسولاسیون، یکی از محبوب‌ترین و اقتصادی‌ترین روش‌ها برای حمل مواد مغذی هیدروفوب، سیستم نانو حامل بیوپلیمری می‌باشد. بیوپلیمرهای طبیعی مانند پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها، از مهم‌ترین مواد فعال سطحی هستند که ترجیحا در صنایع غذایی به منظور تولید نانو حامل‌ها با درجه غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Jones & McClements, 2010). کازئین که پروتئین اصلی شیر می‌باشد به علت غیرسمی بودن، هزینه پایین، دسترسی آسان و ویژگی‌های عملکردی خوب، بیشترین توجه را به عنوان حامل ترکیبات مغذی در میان پروتئین‌هایی که در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند، به خود جلب کرده است (Liu et al., 2012). سدیم کازئینات از میسل‌های کازئین کواگوله شده، از طریق

مواد -

کازئینات سدیم (۸۸٪ پروتئین با ۶٪ رطوبت) از شرکت DMV هلند، توپین ۲۰ و کورکومین از شرکت سیگما آمریکا، صمغ عربی، هیدروکلریدریک اسید و اتانول از شرکت شارلو اسپانیا، سایر مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

- آماده سازی محلول‌ها

پودر کورکومین (۰/۰۵ درصد وزنی/وزنی) در اتانول خالص به منظور تهیه فاز آلی، در دمای اتاق حل شد. با توجه اینکه کورکومین نسبت به نور حساس می‌باشد به منظور جلوگیری از اکسید شدن، دیواره‌های ظرف کاملاً توسط فویل آلومینیومی پوشانده شد. محلول‌های سدیم کازئینات، صمغ عربی و توپین ۲۰ با افزودن تدریجی مقادیر مورد نیاز از آن‌ها به بافر فسفات ۵ میلی مولار با pH ۷ در ظروف جداگانه تهیه شدند. سپس به منظور حل شدن، تحت همزن مغناطیسی با سرعت متوسط قرار گرفتند. محلول‌ها دارای سدیم آزید ۰/۰۲٪ به عنوان عامل ضد میکروبی بودند. محلول‌های سدیم کازئینات و صمغ عربی حداقل به مدت ۵ ساعت به منظور تهیه محلول همگن همزده شدند (Ye et al., 2006). در مورد سدیم کازئینات، محلول در حمام آب ۴ درجه سانتی‌گراد تهیه شد. اما صمغ عربی و توپین ۲۰ در دمای محیط آماده شدند. محلول‌ها به مدت یک شبانه روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به منظور جذب کامل آب نگهداری شدند. قبل از استفاده، محلول‌ها به منظور حذف ذرات جامد نامحلول و حباب‌های هوا تحت دور ۶۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. محلول سدیم کازئینات تازه و بصورت روزانه تهیه شد.

- تهیه نانودیسپرسیون

ابتدا فاز آلی شامل کورکومین در اتانول به تدریج با استفاده از یک سمپلر به فاز آبی (محلول سدیم کازئینات / صمغ عربی / توپین ۲۰) که در حال همزدن مداوم بر روی همزن می‌باشد اضافه گردید. در مرحله بعدی با استفاده از سرنگ انسولین ۳۰ g تیترا کردن تا pH‌های مورد نظر در طرح با هیدروکلریک اسید ۰/۱ و ۰/۰۱ نرمال در دمای اتاق انجام گرفت. pH محلول‌ها به طور مداوم توسط pH متر (pH 510, Eutech instruments, Singapore)

شستشو و خنثی‌سازی با هیدروکسید سدیم بدست می‌آید (Liu et al., 2012). صمغ عربی پلی ساکارید آنیونی طبیعی ترشح شده از درخت آکاسیا می‌باشد. در این مطالعه، صمغ عربی به علت ویژگی‌های فیزیکی و عملکردی مناسب شامل حالیت بالا، پایداری pH، غیرسمی بودن و ویژگی‌های امولسیفایری خوب به عنوان پلی‌ساکارید انتخاب شد (Gil et al., 2010). سورفاکتانت‌های غیریونی از جمله سری توپین نسبت به سورفاکتانت‌های یونی به علت غیرسمی بودن بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرند (Choi et al., 2014). سورفاکتانت غیر یونی توپین ۲۰، استر اسید چرب سوربیتان پلی‌اکسی‌اتیلن می‌باشد که به‌طور گسترده در محصولات غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Picone & Cunha, 2013). Paz و همکاران از نشاسته تغییر یافته استخراج شده از ذرت مومی به عنوان حامل برای کاربرد رنگ طبیعی بتاکاروتن استفاده کردند (de Paz et al., 2012). Arroyo-Maya و McClements به بررسی شاخص‌های رنگی آنتوسیانین پوشش داده شده توسط ایزوله پروتئین آب پنیر و پکتین پرداختند (Arroyo-Maya & McClements, 2015). Zhang و Zhong شاخص‌های رنگی بیکسین کپسوله شده در سدیم کازئینات را بررسی کردند (Zhang & Zhong, 2013). Mangolim و همکاران شاخص‌های رنگی کورکومین کپسوله شده در بتاسیکلودکسترین (Mangolim et al., 2014) و Gomez-Estaca و همکاران نیز کورکومین کپسوله شده با پروتئین زئین را بررسی نمودند (Gomez-Estaca et al., 2012). در این مطالعه برای اولین بار به بررسی تهیه سیستم کلوئیدی متشکل از سدیم کازئینات، صمغ عربی و توپین ۲۰ به عنوان حامل کورکومین پرداخته شد. سپس تاثیر غلظت سدیم کازئینات، غلظت صمغ عربی، غلظت توپین ۲۰ و pH بر اندازه ذرات سیستم و شاخص‌های رنگی کورکومین کپسوله شده با استفاده از طرح سطح پاسخ مورد بررسی قرار داده شد. همچنین به منظور بررسی دقیق‌تر تشکیل کمپلکس بین سدیم کازئینات و صمغ عربی و اثبات کپسوله شدن کورکومین از اسپکتروسکوپی فرورسرخ استفاده شد.

مواد و روش‌ها

$$TCD = \frac{1}{\sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2}} \quad (3)$$

- آزمون طیف سنجی فروسرخ (FTIR)

در این مطالعه اسپکتروسکوپی فروسرخ به منظور بررسی وقوع هر نوع اتصال بین مولکول‌های پروتئین، پلی‌ساکارید و کورکومین مورد استفاده قرار گرفت. چنین تعاملاتی باید از طریق تغییرات طیفی بیوپلیمر تنها و همان بیوپلیمر ارائه شده در نانوکمپلکس شناسایی شوند. ابتدا نمونه‌ها توسط فریزر ۸۰- منجمد شدند. سپس توسط دستگاه خشک‌کن انجمادی به شکل پودر جامد خشک درآمدند. سپس پودر حاصله با برمید پتاسیم با نسبت ۱ به ۱۰ مخلوط شده و آسیاب شدند. با اعمال فشار ۶۰ کیلو پاسکال، به مدت ۲ دقیقه در دستگاه تهیه قرص، به شکل قرص درآمدند. آنالیز توسط دستگاه طیف سنج (IR) (Prestige-21, Shimadzu, Japan) در حالت جذبی با قدرت تفکیک 4 cm^{-1} در بازه $4000-500 \text{ cm}^{-1}$ انجام شد.

- تجزیه و تحلیل آماری

در این مطالعه اثر ۴ متغیر مستقل شامل غلظت سدیم کازئیات (A) (۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد وزنی/وزنی)، غلظت صمغ عربی (B) (۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ درصد وزنی/وزنی)، غلظت توپین ۲۰ (C) (۰، ۰/۱ و ۰/۲ درصد وزنی/وزنی) و pH (D) (۴/۸، ۵ و ۵/۲) با بکارگیری طرح آماری Box-Behnken سطح پاسخ، بر پاسخ‌های اندازه ذرات، a^* ، b^* ، L^* ، TCD ، $chroma$ مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور معنی‌دار بودن فاکتورها و اثرات متقابل آن‌ها از روش ANOVA^۲ و توزیع فیشر استفاده شد و سطح معنی‌دار $\alpha=0/05$ در نظر گرفته شد. داده‌های آزمایشی در یک مدل چندجمله‌ای درجه ۲ که در معادله ۴ مشاهده می‌کنید، آورده شده است.

$$Y_i = \beta_0 + \sum \beta_i x_i + \sum \beta_{ii} x_i^2 + \sum \beta_{ij} x_i x_j \quad (4)$$

در معادله (۴)، Y_i پاسخ پیش بینی شده و β_0 ضریب ثابت، β_i اثر خطی، β_{ii} اثر مربعات و β_{ij} اثرات متقابل هستند و X_i و X_j متغیرهای مستقل کد بندی شده هستند.

اندازه‌گیری شد. محلول مورد نظر به مدت ۱ ساعت در دمای محیط و دور همزن ۵۰۰ rpm همزده شد. سپس حلال اتانول موجود در محلول با استفاده از دستگاه روتاری اوپراتور تحت خلا (R-200, BÜCHI, Switzerland) تبخیر شد.

- تعیین اندازه ذرات

توزیع اندازه ذرات و میانگین قطر حجمی ذرات با استفاده از دستگاه آنالیزکننده تفرق نوری لیزری مدل (Shimadzu, SALD 2101) ساخت ژاپن سنجیده شد. اندازه ذرات براساس میانگین قطر حجمی ذرات گزارش شد. حجم معادل (میانگین قطر حجمی) ذرات با استفاده از معادله ۱ محاسبه شد:

$$\bar{D} [4,3] = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} \quad (1)$$

در معادله (۱)، n_i تعداد ذرات با قطر d_i می‌باشد.

- اندازه‌گیری شاخص‌های رنگی

ارزیابی رنگ با استفاده از دستگاه هانترلب (CHROMA METER CR-400) ساخت ژاپن انجام شد. ابتدا صفحه سفید (صفحه کالیبراسیون مینولتا) با مقادیر استاندارد $Y=93/4$ ، $X=0/3135$ ، $Z=0/3197$ به منظور کالیبره کردن دستگاه مورد استفاده قرار گرفت. L^* مقدار Lightness-darkness (سفید=۱۰۰، سیاه=۰)، a^* محور Red-green (قرمز+=، سبز=-) و b^* محور Yellow-blue (زرد+=، آبی=-) می‌باشند. شاخص‌های اختلاف رنگ کل (TCD)^۱ و شدت رنگ Chroma طبق فرمول‌های ۲ و ۳ محاسبه شدند (silva et al., 2011). شاخص TCD بیان‌کننده تفاوت رنگ کل نمونه‌های تولیدی با نمونه شاهد می‌باشد. در این مطالعه نمونه شاهد تحت شرایط کاملا مشابه با نمونه‌های نانودی‌سپرسیون (غلظت یکسان کورکومین) تهیه شد. با این تفاوت که این بار کورکومین حل شده در اتانول، فقط در آب مقطر اضافه شد. به عبارتی مقادیر مینا، شاخص‌های رنگی کورکومین آزاد حل شده در اتانول می‌باشند.

$$Chroma = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (2)$$

¹ Total Colour Difference Analysis of Variance

² Analysis of Variance

کوچک‌ترین سایز ذرات، در غلظت میانه صمغ عربی (۰/۷۵) (% بدست آمد. بزرگترین سایز ذرات در غلظت بالای صمغ عربی و غلظت پایین سدیم کازئینات حاصل شد.

- تعیین شاخص‌های رنگی

در این مطالعه به منظور امکان استفاده از ماده رنگی و با ارزش کورکومین به بررسی تاثیر غلظت سدیم کازئینات، غلظت صمغ عربی، غلظت توپین ۲۰ و pH بر شاخص‌های رنگی کورکومین نانوکپسوله شده پرداخته شد.

- اثر غلظت بیوپلیمرها بر شاخص L*

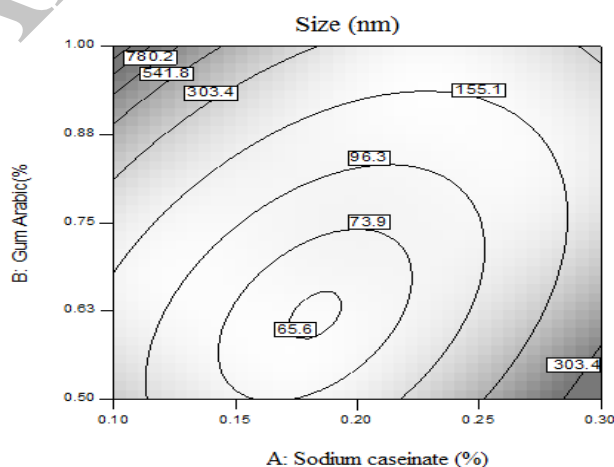
از بین فاکتورهای بررسی شده غلظت بیوپلیمرها، تأثیر معنی‌دار بر میزان پارامتر L* نشان داد (جدول ۱). پارامتر L* بیانگر روشنی و تیرگی نمونه‌ها (سفید=۱۰۰، سیاه=۰) می‌باشد. همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود با افزایش غلظت صمغ عربی میزان تیرگی نمونه‌ها افزایش یافت. بطوریکه در غلظت‌های ثابت سدیم کازئینات (۰/۲)٪، توپین ۲۰ (۰/۱)٪ و pH (۵/۲)، مقادیر این پارامتر از ۷۲/۸۴ در سطوح پایین صمغ عربی (۰/۵)٪ به ۶۳/۰۲ در سطوح بالای غلظت صمغ عربی (۱)٪ رسید. در کل نمونه‌ها با غلظت پایین بیوپلیمرها دارای روشنایی بیشتری بودند. بطوریکه پارامتر L* در غلظت کازئینات سدیم ۰/۱٪، صمغ عربی ۰/۵٪ و توپین ۲۰ ۰/۱٪ دارای بیشترین مقدار L* ۷۳/۹۵ و در غلظت کازئینات سدیم ۰/۳٪، صمغ عربی ۰/۷۵٪ و توپین ۲۰ ۰/۱٪ دارای کمترین L* ۵۶/۹۹ بود.

آنالیز با استفاده از واحدهای کد شده مورد ارزیابی قرار گرفت. مقادیر ضرایب تبیین و تبیین اصلاح شده به منظور نشان دادن شایستگی مدل مورد ارزیابی قرار گرفت. برای آنالیز داده‌ها و رسم نمودار از نرم‌افزار SAS Version 9.2, Institute. Inc. استفاده شد.

یافته‌ها

- اندازه ذرات

اندازه ذرات یکی از مهمترین ویژگی‌های سیستم حاوی نانو ذرات می‌باشد، چرا که تاثیر به سزایی بر ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و خواص حسی محصولات غذایی دارد (Luo et al., 2011). شکل ۱ کانتور پلات اندازه ذرات را بعنوان تابعی از غلظت سدیم کازئینات - صمغ عربی نشان می‌دهد. آنالیز حاصل از داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثر متقابل سدیم کازئینات - صمغ عربی بر اندازه ذرات معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.01$). با توجه به شکل ۱ مشاهده می‌شود، زمانی که در غلظت ثابتی از صمغ عربی (۰/۵)٪ غلظت سدیم کازئینات از ۰/۱ به ۰/۳٪ افزایش می‌یابد، سایز ذرات سیستم به طور قابل توجهی افزایش یافت، بطوریکه این مقدار از ۱۲۰ نانومتر برای سدیم کازئینات ۰/۱٪ به ۹۸۴ نانومتر برای سدیم کازئینات ۰/۳٪ رسید. از طرف دیگر، با افزایش غلظت صمغ عربی از ۰/۵ به ۰/۷۵٪، میانگین سایز ذرات سیستم کاهش می‌یابد. چنانکه در شکل ۱ ملاحظه می‌شود در غلظت بالای سدیم کازئینات (۰/۳)٪ کاهش غلظت صمغ عربی از ۱٪ به ۰/۵٪ منجر به افزایش اندازه ذرات از ۳۱۷ نانومتر به ۹۸۲ نانومتر گردید.



شکل ۱- کانتور پلات اثر متقابل سدیم کازئینات و صمغ عربی بر اندازه ذرات

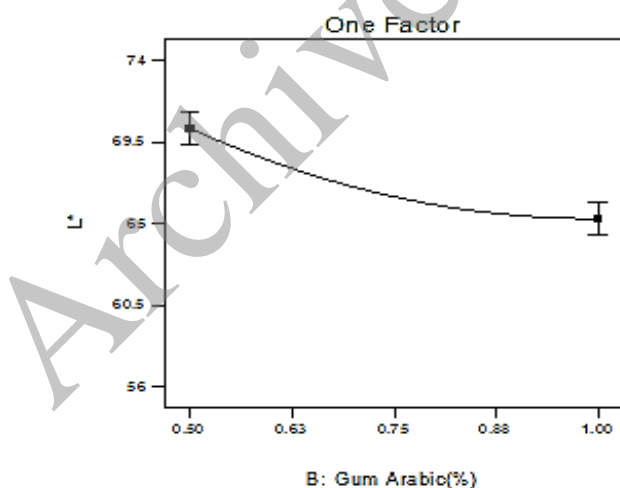
جدول ۱- جدول تجزیه آنالیز واریانس ضرایب رگرسیونی مدل‌های بدست آمده

منبع تغییرات	Ln(size)	TCD	L*	a*	b*	Chroma
مدل	۴/۳۲۱	۴۸/۳۰۱	۶۶/۴۹۱	-۱۵/۴۷۴	۵۰/۱۷۱	-۵۲/۵۰
تأثیر خطی						
A	-۰/۰۲۵ ^{ns}	۱/۸۶۳*	-۶/۸۱۸***	۰/۰۲۴ ^{ns}	۲/۹۵۷***	۳/۲۰۸***
B	۰/۵۷۳***	-۳/۷۲۸**	-۲/۴۸۰***	-۰/۴۴۶ ^{ns}	-۴/۵۹۳***	-۴/۴۱۸***
C	-۰/۹۱۴***	۹/۳۶۹***	۲/۲۸۹***	-۲/۱۲۶***	۷/۷۳۸***	۸/۸۰۰***
D	۰/۰۶۳ ^{ns}	-۰/۲۱۵ ^{ns}	-	۰/۰۹۲۳ ^{ns}	-۰/۰۲۱۹ ^{ns}	-۰/۲۱۷ ^{ns}
تأثیر متقابل						
AB	-۰/۷۱۸*	-	-	-۱/۱۳*	-	-
AC	-	-	-۲/۹۹۱*	-	۳/۱۶۲*	-
AD	-	-	-	-	-	۱/۲۲۲ ^{ns}
BC	-	-	-	-	-۴/۴۵۳*	-
تأثیر درجه ۲						
A ²	۱/۰۰۲***	-۴/۸۹۵**	-۲/۲۱۷**	۱/۴۱۱**	-۵/۳۶۶***	-۴/۸۳۴***
B ²	۰/۶۶۸***	-۲/۴۳۱*	۱/۲۷۲*	۱/۱۷۵*	-۲/۹۱۹**	-۲/۱۱۵*
C ²	۱/۳۴۶***	-۶/۹۲۳***	-	۲/۴۴۳***	-۷/۷۳۶***	-۵/۶۳۸***
D ²	۰/۴۸۶***	-۵/۴۲۶***	-	۱/۰۶۶*	-۴/۹۳۴***	-۶/۴۳۹***
R ²	۰/۹۸۴	۰/۹۳۴	۰/۹۴۴	۰/۸۸۶	۰/۹۷۴	۰/۹۷۰
Adj-R ²	۰/۹۶۷	۰/۹۰۵	۰/۹۲۹	۰/۸۳۵	۰/۹۵۷	۰/۹۵۲
مدل F ارزش	۵۸/۹۵۵	۲۷/۹۸۵	۶۲/۱۱۴	۱۷/۳۶۱	۵۶/۸۹۱	۵۴/۰۷۴
P ارزش	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱

A: غلظت سدیم کازئینات (wt%)، B: غلظت صمغ عربی (wt%)، C: غلظت توپین ۲۰ (wt%)، D: pH

معنی دار در سطح P < 0/0001 - *** P < 0/001 - ** P < 0/05 - * n.s: غیر معنی دار

R²: ضریب تعیین، Adj-R²: ضریب تعیین اصلاح شده



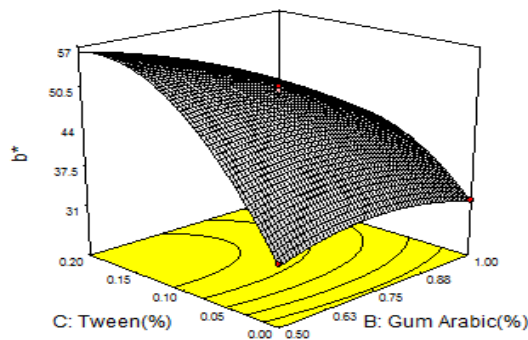
شکل ۲- تأثیر غلظت صمغ عربی بر شاخص L*

افزایش داشت و به مقادیر ۶۹/۶۶ رسید. همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود با افزایش غلظت سدیم کازئینات در تمامی مقادیر توپین ۲۰ نیز تیرگی نمونه‌ها افزایش یافت. بطوریکه این مقدار از ۷۱/۷۶، در غلظت ۱٪ سدیم کازئینات در مقادیر ثابت توپین ۲۰ (۱٪)، به ۵۶/۷۶ در

اثر متقابل سدیم کازئینات - توپین ۲۰ بر پارامتر L*

با توجه به شکل ۳ در نمونه‌های فاقد توپین ۲۰ در همه سطوح سدیم کازئینات میزان L* بسیار کم و در حدود ۶۴/۵۰ بود و با افزایش مقادیر توپین ۲۰ در مقادیر ثابت سدیم کازئینات تا ۰/۲٪، مقادیر پارامتر L* روند رو به

- اثر متقابل صمغ عربی-توئین ۲۰ بر شاخص b^* با توجه به نتایج حاصل از آنالیز داده‌ها (جدول ۱) اثر متقابل صمغ عربی-توئین ۲۰ بر پارامتر b^* معنی‌دار بود ($p < 0.01$). همانطور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، بیشترین مقدار پارامتر b^* ۴۹/۷۷ در مقادیر ۰/۱٪ توئین ۲۰ و ۰/۷۵٪ صمغ عربی بدست آمد. افزایش غلظت صمغ عربی منجر به کاهش رنگ زرد در نمونه‌ها شد. بطوریکه در مقادیر ثابت ۰/۱٪ توئین ۲۰، با افزایش غلظت صمغ عربی از ۰/۵٪ به ۱٪ فاکتور زردی از ۴۵/۰۹ به ۳۷/۱۱ کاهش یافت.

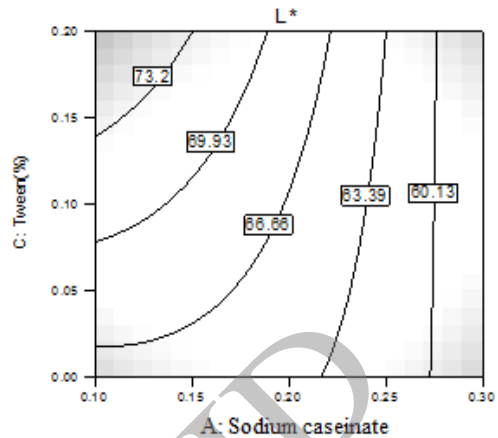


شکل ۵- سطح پاسخ اثر متقابل صمغ عربی-توئین ۲۰ بر پارامتر b^*

۳۹

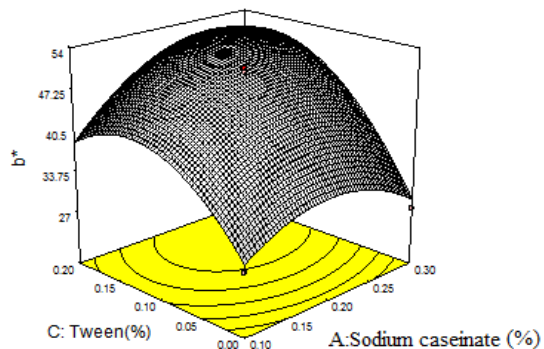
- اثر غلظت توئین ۲۰ بر شاخص a^* بر مبنای آنالیز واریانس داده‌ها (جدول ۱) تأثیر غلظت توئین ۲۰ بر میزان پارامتر a^* بسیار معنی‌دار بود ($p < 0.0001$). a^* معرف محور Red-green (قرمز=+، سبز=-) می‌باشد. همانطور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود شاخص a^* در مطالعه حاضر بیانگر رنگ سبز و در محدوده منفی قرار داشت. با افزایش مقدار توئین ۲۰ از ۰ به ۰/۱٪ شاخص a^* از ۱۰/۱۶- به ۱۳/۶۵- رسید. چرا که با توجه به مشاهدات چشمی نیز در حین آزمایشات مشاهده شد که رنگ نمونه‌ها در عدم حضور توئین ۲۰ دارای سایه کم‌رنگی از رنگ قرمز بود که نشانگر دور شدن شاخص a^* از محدوده منفی و نزدیک شدن این شاخص به صفر و تمایل آن به محدوده رنگ قرمز می‌باشد. با افزایش بیشتر توئین ۲۰ شاخص a^* به میزان جزئی نسبت به نمونه‌های دارای ۰/۱٪ توئین ۲۰ کاهش یافت.

غلظت ۰/۳٪ سدیم کازئینات کاهش یافت. افزایش غلظت سدیم کازئینات شفافیت نمونه‌ها را کاهش داد که این کاهش شفافیت تا حدودی در حضور توئین ۲۰ بهبود یافت.



شکل ۳- کانتور پلات اثر متقابل سدیم کازئینات-توئین ۲۰ بر شاخص L^*

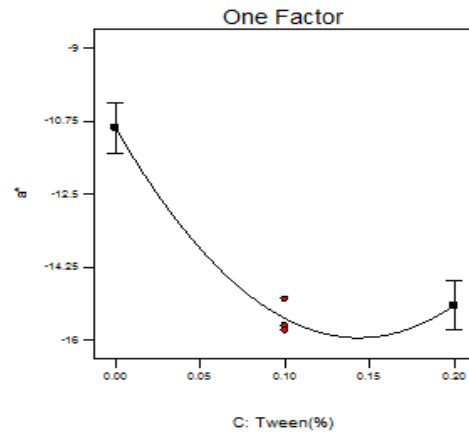
- اثر متقابل سدیم کازئینات-توئین ۲۰ بر پارامتر b^* همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، بیشترین مقدار پارامتر b^* (زردی) ۵۰/۶۸ در غلظت ۰/۲٪ سدیم کازئینات و ۰/۱٪ توئین ۲۰ بدست آمد. این مقدار با کاهش سدیم کازئینات به ۰/۱٪ در مقادیر ثابت توئین ۲۰ (۰/۱٪) به ۴۳/۷۷ کاهش یافت. با افزایش توئین ۲۰ از ۰ تا ۰/۱ غلظت ثابت سدیم کازئینات ۰/۱٪ همانطور که مشاهده می‌شود، b^* از ۲۸/۱۲ به ۳۸/۵۴ رسید.



شکل ۴- سطح پاسخ اثر متقابل سدیم کازئینات-توئین ۲۰ بر پارامتر b^*

تهیه و ارزیابی شاخص‌های رنگی نانوکمپلکس‌های کورکومین

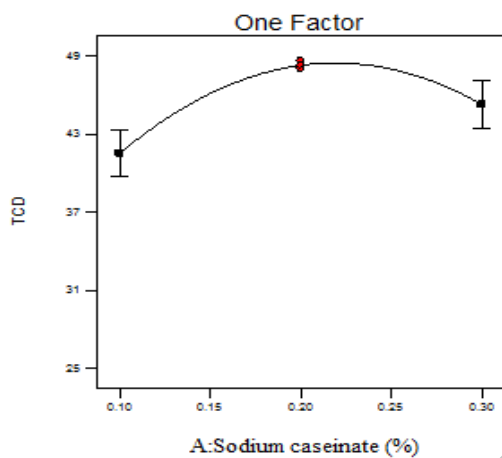
وجود دارد. بطوریکه این اختلاف رنگ از ۳۸/۰۶ در غلظت ۰/۱٪ به ۴۸/۶۳ در غلظت ۰/۲٪ سدیم کازئینات رسیده است و با افزایش دوباره غلظت سدیم کازئینات به ۰/۳٪، TCD به ۴۱/۲۱ کاهش یافت. با توجه به شکل ۹ تفاوت شاخص TCD با در نظر گرفتن غلظت صمغ عربی نیز بسیار معنی دار بود ($p < 0.001$). با افزایش غلظت صمغ عربی اختلاف رنگ کل کاهش شدیدی پیدا کرد. بطوریکه از مقدار ۴۷/۱۸ در مقدار ۰/۵٪ به ۳۹/۱۵ در حداکثر مقدار صمغ عربی (۱٪) رسید. که می‌تواند ناشی از اندازه بزرگ ذرات و توده‌ای شدن ناشی از غلظت بالای صمغ عربی باشد.



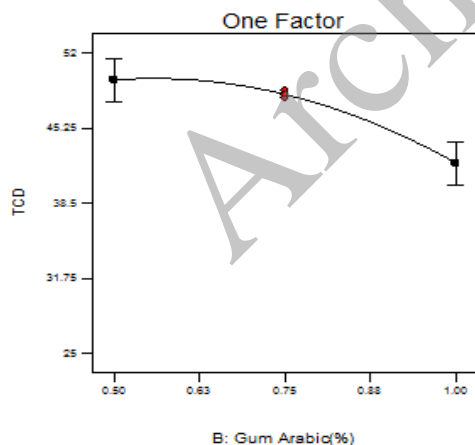
شکل ۶- اثر غلظت توپین ۲۰ بر پارامتر a^*

تأثیر متقابل سدیم کازئینات-صمغ عربی بر پارامتر a^*

بر مبنای آنالیز واریانس تأثیر متقابل سدیم کازئینات - صمغ عربی بر میزان پارامتر a^* معنی‌دار بود ($p < 0.01$). بیشترین میزان پارامتر a^* ۱۵/۶۷- در محدوده کازئینات سدیم ۰/۲٪ و صمغ عربی ۰/۷۵٪ مشاهده شد (شکل ۷). همانطور که در بخش بررسی اندازه ذرات گفته شد، این نمونه دارای کوچکترین اندازه ذرات بود. با افزایش غلظت کازئینات سدیم از ۰/۲٪ به ۰/۳٪ فاکتور a^* از ۱۴/۱۱- به ۹/۴۱- رسید.



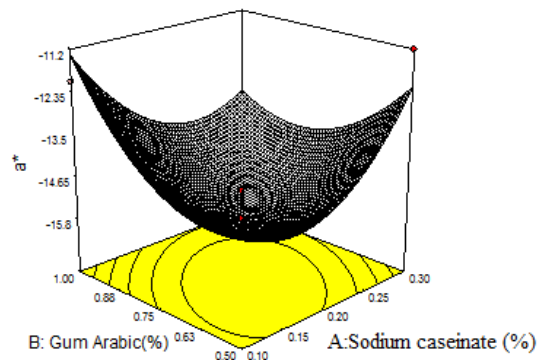
شکل ۸- اثر غلظت کازئینات سدیم بر اختلاف رنگ کل



شکل ۹- اثر غلظت صمغ عربی بر اختلاف رنگ کل

شاخص Chroma -

شاخص Chroma نشان‌دهنده شدت رنگ می‌باشد. آنالیز حاصل از داده‌ها نشان دهنده اثر معنی‌دار فاکتورهای



شکل ۷- سطح پاسخ اثر متقابل سدیم کازئینات-صمغ عربی بر پارامتر a^*

تفاوت رنگ کل (TCD) -

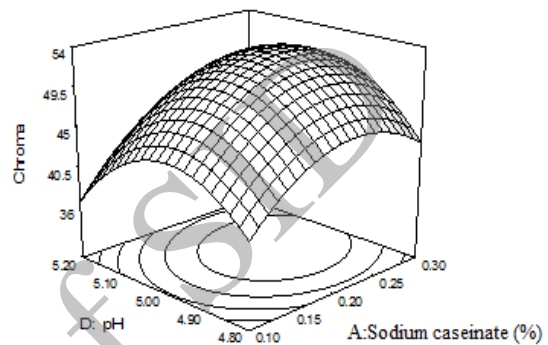
طبق نتایج حاصل از آنالیز داده‌ها اثر همه فاکتورها بر میزان تفاوت رنگ کل معنی‌دار بوده است. همانطور که در شکل ۸ مشاهده می‌شود، اختلاف معنی‌داری بین غلظت سدیم کازئینات در مقادیر ۰/۲٪ و ۰/۱٪ در شاخص TCD

- آنالیز اسپکتروسکوپی فرسرخ (FTIR)

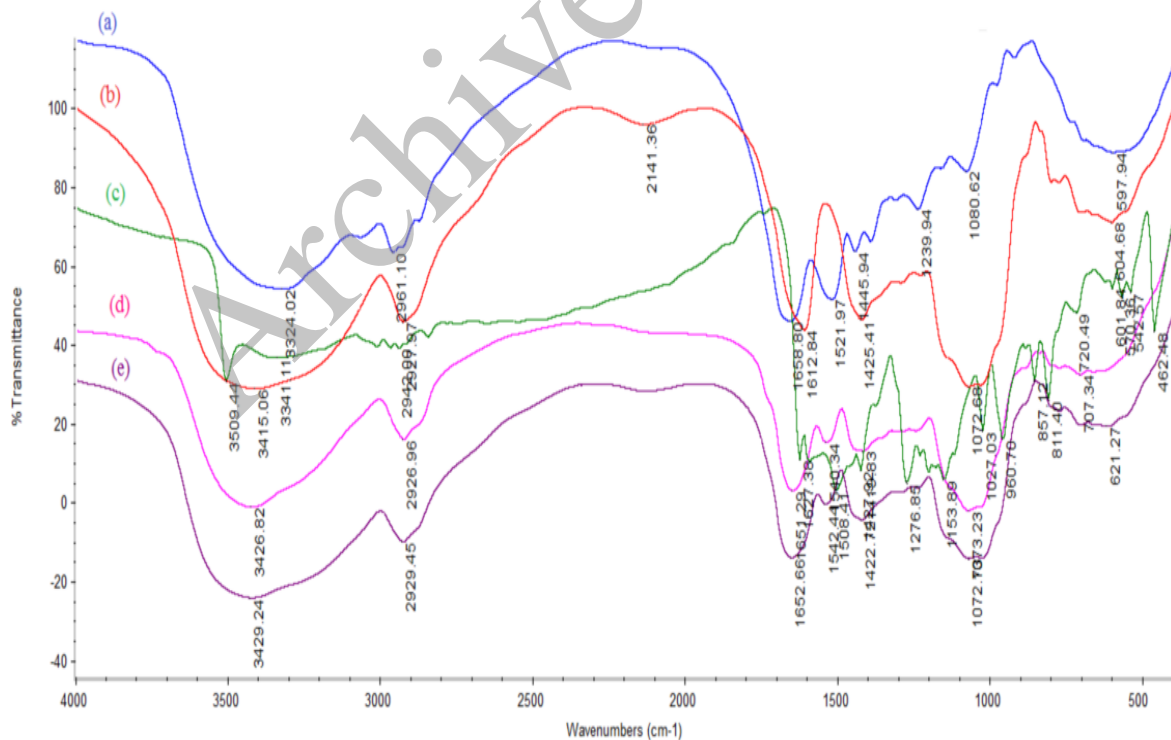
طیف FTIR سدیم کازئینات شامل پیک‌های جذبی ویژه امید I در $1658.80/1612.84$ cm^{-1} (ارتعاشات کششی C-O)، باند امید II در $1521.97/1445.94$ cm^{-1} (ارتعاشات کششی C-N جفت شده با حالت خمیدگی N-H) و باند امید III در $1276.85/1153.89$ cm^{-1} (حالت خمیدگی N-H جفت شده با ارتعاشات کششی C-N) می باشد (شکل ۱۱). این مقادیر برای پیک‌های امید I، II و III در توافق با مقادیری که قبلاً برای سدیم کازئینات گزارش شده است، می‌باشند (Jiménez *et al.*, 2014; Santinho *et al.*, 1999).

طیف FTIR صمغ عربی پیک‌های جذبی اساسی در $3429.24/3426.82$ cm^{-1} و $2929.45/2926.96$ cm^{-1} به ترتیب متعلق به ارتعاشات -OH و ارتعاشات -CH- ظاهر شدند. پیک‌های قوی در $1652.66/1651.27$ cm^{-1} و $1422.72/1420.83$ cm^{-1} متعلق به ارتعاشات سیمتریک و آسیمتریک کششی -COO⁻ می‌باشند. همچنین پیک‌های $1072.68/1072.70$ cm^{-1} و $1027.03/1027.03$ cm^{-1} به علت پیک ارتعاشی C-O رخ دادند (Nayak *et al.*, 2012) (شکل ۱۱).

مورد بررسی بر شدت رنگ می‌باشد. شکل ۱۰ نشان‌دهنده اثر متقابل سدیم کازئینات-pH بر شاخص chroma می‌باشد. همانطور که مشاهده می‌شود، بیشترین شدت رنگ ۵۲/۵۰ در محدوده سدیم کازئینات با غلظت ۰/۲٪ و pH ۵ ایجاد شد. با افزایش غلظت سدیم کازئینات به ۰/۳٪ شاخص chroma به مقدار ۴۵/۲۲ کاهش یافت. با در نظر گرفتن مقادیر ثابت سدیم کازئینات با افزایش و کاهش pH در هر ۲ مورد کاهش شدت رنگ مشاهده شد. این کاهش در مقادیر بالاتر سدیم کازئینات بیشتر بود.



شکل ۱۰- سطح پاسخ اثر متقابل سدیم کازئینات-pH بر شاخص chroma



شکل ۱۱- طیف FTIR نمونه های (a) سدیم کازئینات، (b) صمغ عربی، (c) کور کومین، (d) نانوکمپلکس سدیم کازئینات - صمغ عربی، (e) نانوکمپلکس سدیم کازئینات-صمغ عربی-کور کومین

می‌باشد (Ilyasoglu & El, 2013) و به عبارت دیگر، مولکول‌های سدیم کازئینات کمتری برای پیوند با هر مولکول صمغ عربی، در دسترس می‌باشد (Ye *et al.*, 2006) و در نتیجه سایز ذرات سیستم کاهش می‌یابد. در غلظت میانه صمغ عربی کوچک‌ترین ذرات مشاهده شد، که می‌تواند در ارتباط با تشکیل کمپلکس ما بین اکثریت مولکول‌های سدیم کازئینات و مولکول‌های صمغ عربی باشد و در نتیجه مولکول‌های سدیم کازئینات در معرض خود تجمعی قرار نمی‌گیرند (Ye *et al.*, 2006). این نتایج در تطابق با نتایج Cho و McClements (۲۰۰۹) می‌باشد. آن‌ها گزارش کردند که غلظت‌های بالا یا پایین پلی‌ساکارید منجر به ایجاد امولسیون ناپایدار به علت انبوهش ناشی از تشکیل پل یا انبوهش ناشی از تهی شدن می‌شود. در حالیکه در غلظت متوسط پلی‌ساکارید سیستم پایدار بوجود می‌آید (Cho & McClements, 2009). بزرگ‌ترین سایز ذرات در غلظت بالای صمغ عربی و غلظت پایین سدیم کازئینات بوجود آمد. در این مورد نیز احتمالاً مولکول‌های پلی‌ساکارید اضافی به علت کافی نبودن مولکول سدیم کازئینات با یکدیگر تشکیل پیوند داده و یک شبکه ضعیف ژل در سیستم را تشکیل می‌دهند که منجر به افزایش سایز ذرات سیستم می‌شود (Dickinson, 1998).

- شاخص‌های رنگی

افزایش تیرگی نمونه‌ها متعاقب افزایش غلظت بیوپلیمرها، به این علت می‌باشد که در غلظت‌های بالای سدیم کازئینات و صمغ عربی تعداد کمپلکس‌های تشکیل شده بیشتر می‌شود. در قسمت بررسی اندازه ذرات نیز بیان شد که بزرگترین ذرات در غلظت‌های بالای بیوپلیمرها تولید شدند که منجر به کاهش شفافیت و افزایش تیرگی نمونه‌ها گردید. علت کاهش L^* در غیاب توپین ۲۰ نیز می‌تواند در ارتباط با اندازه بزرگ ذرات و در نتیجه عدم پایداری و رسوب ذرات بزرگ در عدم حضور توپین ۲۰، که منجر به تیرگی نمونه می‌شود، باشد. افزایش زردی نمونه‌ها با افزایش غلظت توپین ۲۰ از ۰ تا ۰/۱٪، به علت افزایش حلالیت کورکومین و در نتیجه افزایش شدت رنگ زرد کورکومین در حضور توپین ۲۰ می‌باشد. چرا که Bergonzi و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که میزان حلالیت کورکومین در توپین ۲۰ در مقایسه با سایر روغن‌ها و

در طیف FTIR کورکومین، پیک‌های جذبی اساسی در $3509/44 \text{ cm}^{-1}$ ناشی از ارتعاشات کششی فنلی O-H، در $1627/38 \text{ cm}^{-1}$ متعلق به ارتعاشات کششی حلقه بنزن، ۲ پیک در 2942 cm^{-1} و $1427/92 \text{ cm}^{-1}$ احتمالاً مربوط به ارتعاشات خمشی C-H مشاهده شد. به علاوه پیک‌های $1276/85 \text{ cm}^{-1}$ ، $1153/89 \text{ cm}^{-1}$ و $1027/03 \text{ cm}^{-1}$ متعلق به ارتعاشات کششی آروماتیک C-O می‌باشند. پیک قوی در 960 cm^{-1} نیز مرتبط به حالت خمیدگی صفحه آروماتیک C-H می‌باشد. این پیک‌ها در توافق با پیک‌های گزارش شده در مطالعات قبلی، می‌باشند (Anitha *et al.*, 2011; López-Tobar *et al.*, 2012).

در طیف نانوکمپلکس سدیم کازئینات/ صمغ عربی، پیک‌های مشخصه هر ۲ سدیم کازئینات و صمغ عربی البته با انحرافات قابل توجه‌ای قابل مشاهده است. در مقایسه طیف سدیم کازئینات با نانوذرات سدیم کازئینات/ صمغ عربی، پیک‌های $1658/80 \text{ cm}^{-1}$ و $1521/97 \text{ cm}^{-1}$ متعلق به گروه‌های آمید I و II به ترتیب، به $1638/24 \text{ cm}^{-1}$ و $1540/34 \text{ cm}^{-1}$ منتقل شدند. همه پیک‌های متعلق به کورکومین در طیف نهایی نانوکمپلکس سدیم کازئینات-صمغ عربی - کورکومین ناپدید شدند.

بحث

- اندازه ذرات

افزایش اندازه ذرات با افزایش غلظت سدیم کازئینات در غلظت ثابت صمغ عربی می‌تواند در ارتباط با این حقیقت باشد که مولکول‌های پلی‌ساکارید موجود در سیستم به‌منظور پوشاندن کامل سطح مولکول‌های پروتئین ناکافی می‌باشند و بیش از یک مولکول پروتئین به طور همزمان به یک زنجیره پلی‌ساکاریدی متصل می‌شوند (Dickinson, 1998)، در نتیجه پدیده انبوهش ناشی از تشکیل پل رخ می‌دهد. از طرف دیگر، خود تجمعی مولکول‌های سدیم کازئینات آزاد که با مولکول‌های صمغ عربی کمپلکس نشده‌اند نیز منجر به ناپایداری سیستم می‌شود. روند مشابهی توسط Ye و همکاران (۲۰۰۶) مشاهده شد. این محققین گزارش کردند که همانطور که نسبت پروتئین - پلی‌ساکارید کاهش می‌یابد، سایز ذرات اندکی کاهش می‌یابد. زیرا در این شرایط، مولکول‌های پلی‌ساکارید کافی برای جلوگیری از خودتجمعی مولکول‌های پروتئین موجود

می‌یابد (Pan *et al.*, 2013). Fu و همکاران بیان کردند که شدت پراکندگی نور به طول موج نور، سایز ذرات پراکنده شده، غلظت ذرات و تفاوت بین شاخص انکسار حامل و ذرات پراکنده شده بستگی دارد (Fu *et al.*, 1998). در حالت کلی شدت نور پراکنده شده از سیستم حامل رنگ به غلظت ماده رنگی افزوده شده و سایز و تعداد ذرات بستگی دارد. از آنجا که در این تحقیق میزان کورکومین برای همه نمونه‌ها یکسان در نظر گرفته شده است، اختلاف رنگ نمونه‌ها می‌تواند ناشی از تغییرات در سایز و تعداد ذرات باشد.

- طیف سنجی فروسرخ

یکی از ابزارهای مورد استفاده به منظور مطالعه دقیق ویژگی‌های فیزیکی و ساختار مولکولی بیوپلیمرها اسپکتروسکوپی فرو سرخ می‌باشد. انتقال پیک‌های مرتبط به گروه‌های آمید I و II در مقایسه با طیف سدیم کازئینات تنها و کمپلکس سدیم کازئینات/ صمغ عربی می‌تواند در ارتباط با ایجاد برهم‌کنش بین سدیم کازئینات و صمغ عربی باشد. باند آمید III سدیم کازئینات ($1239/94 \text{ cm}^{-1}$) و پیک‌های ارتعاشی C-O - صمغ عربی در $1612/84 \text{ cm}^{-1}$ و $1425/41 \text{ cm}^{-1}$ در طیف FTIR نانو ذرات کمپلکس سدیم کازئینات/ صمغ عربی ناپدید شدند. نبود این باندها نیز می‌تواند مدرک محکمی برای نشان دادن تشکیل برهم‌کنش الکترواستاتیکی بین گروه‌های آمین با بار مثبت ($-\text{NH}_3^+$) سدیم کازئینات با گروه‌های کربوکسیل با بار منفی صمغ عربی (COO^-) باشد (شکل ۱۱). این نتیجه با مطالعات قبلی که برهم‌کنش بین پروتئین و پلی ساکارید را بوسیله FTIR گزارش کردند توافق دارد (Huang *et al.*, 2012; Luo *et al.*, 2011). طیف‌های سدیم کازئینات و صمغ عربی هر دو به تنهایی باندهای ویژه‌ای را به ترتیب در $3324/02 \text{ cm}^{-1}$ و $3415/06 \text{ cm}^{-1}$ نشان دادند، که ناشی از ارتعاشات OH- باندهای درون مولکولی گروه‌های OH بیوپلیمرها می‌باشند. در مورد نانوذرات سدیم کازئینات/ صمغ عربی، این پیک‌ها به $3426/82 \text{ cm}^{-1}$ انتقال یافتند، که نشان‌دهنده این است که علاوه بر برهم‌کنش‌های الکترواستاتیکی، پیوندهای هیدروژنی نیز در تشکیل کمپلکس پروتئین- پلی ساکارید شرکت می‌کنند (Huang *et al.*, 2012).

سورفاکتانت‌ها بیشتر می‌باشد. زیرا مولکول‌های توپین ۲۰، مولکول‌های آمفی‌فیلیک هستند که به هر دو گروه قطبی و غیر قطبی کورکومین تمایل دارند و در نتیجه باعث افزایش حلالیت کورکومین می‌شوند (Bergonzi *et al.*, 2014). بیشترین میزان زردی در نمونه‌های با غلظت ۰/۲٪ سدیم کازئینات، ۰/۱٪ توپین ۲۰ و ۰/۷۵٪ صمغ عربی بدست آمد که با توجه به داده‌های تعیین اندازه ذرات دارای کوچکترین اندازه بودند. در حالت کلی شدت رنگ کورکومین داخل ذرات کلئیدی به توزیع سایز ذرات آن‌ها و واکنش تخریب کورکومین مانند اکسیداسیون بستگی دارد. با کاهش متوسط اندازه ذرات، مساحت سطح کل و در نتیجه تعداد مولکول‌های موجود در سطح افزایش می‌یابد (Fu *et al.*, 1998)، که منجر به افزایش در ضریب جذب و ضریب پراکندگی ذرات کلئیدی می‌شود (Anarjan *et al.*, 2012). ضریب جذب به طور عمده با توجه به تعداد کل مولکول‌های موجود در سطح ذرات تعیین می‌شود، اما ضریب پراکندگی عمدتاً با توجه به سایز ذرات تعیین می‌شود (Anarjan *et al.*, 2012). کاهش رنگ زرد نمونه‌ها با افزایش غلظت صمغ عربی می‌تواند در ارتباط با افزایش تعداد کپسول‌های تشکیل شده و در نتیجه پوشانده شدن رنگ زرد نمونه‌ها باشد. علت رسیدن a^* از ۱۴/۱۱- به ۹/۴۱- با افزایش غلظت کازئینات سدیم از ۰/۲ به ۰/۳٪ نیز می‌تواند در ارتباط با پوشانده شدن رنگ کورکومین توسط کپسول‌های با اندازه ذرات بزرگتر و تعداد بیشتر، در نتیجه کاهش انعکاس رنگ باشد. این نتایج مطابق با نتایج حاصل از پژوهش Anarjan و همکاران در سال ۲۰۱۲ بود. این محققین به بررسی رنگ ذرات کلئیدی آستاگزانتین نانو کپسوله شده پرداختند و مشاهده کردند که ذرات با کوچکترین میانگین سایز ذرات دارای قرمزی بالاتر (a^*) و زردی بالاتر (b^*) و در نتیجه شدت رنگ بیشتر در مقایسه با سایر ذرات با اندازه بزرگتر هستند (Anarjan *et al.*, 2012). آنها بیان کردند همانطور که سایز ذرات کاهش می‌یابد، میزان نسبی شدت رنگ تغییر می‌کند، که منجر به افزایش a^* و b^* و همچنین شدت رنگ ذرات کلئیدی آستاگزانتین می‌شود. Pan و همکاران در سال ۲۰۱۳ نیز گزارش کردند که بین اندازه ذرات و رنگ سوپانسیون ارتباط و همبستگی وجود دارد و هرچه سایز ذرات کوچک‌تر باشد شدت رنگ افزایش

منابع

- Anand, P., Kunnumakkara, A. B., Newman, R. A., & Aggarwal, B. B. (2007). Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Mol Pharm*, 4(6), 807-818.
- Anarjan, N. & Tan, C. P. (2013). Developing a three component stabilizer system for producing astaxanthin nanodispersions. *Food Hydrocolloids*, 30, 437-447.
- Anarjan, N., Tan, C. P., Nehdi, I. A. & Ling, T. C. (2012). Colloidal astaxanthin: Preparation, characterisation and bioavailability evaluation. *Food Chemistry*, 135, 1303-1309.
- Anitha, A., Maya, S., Deepa, N., Chennazhi, K. P., Nair, S. V., Tamura, H. & Jayakumar, R. (2011). Efficient water soluble O-carboxymethyl chitosan nanocarrier for the delivery of curcumin to cancer cells. *Carbohydrate Polymers*, 83(2), 452-461.
- Anon. (2014). Website of the Ministry of Health and Medical Education (comprehensive base of education and health culture). <http://www.salamat.gov.ir/news/118470>.
- Arroyo-Maya, I. J. & McClements, D. J. (2015). Biopolymer nanoparticles as potential delivery systems for anthocyanins: Fabrication and properties. *Food Research International*, 69, 1-8.
- Astete, C. E., Sabliov, C. M., Watanabe, F. & Biris, A. (2009). Ca²⁺ cross-linked alginate nanoparticles for solubilization of lipophilic natural colorants. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57, 7505-7512.
- Bergonzi, M. C., Hamdouch, R., Mazzacova, F., Isacchi, B. & Bilia, A. R. (2014). Optimization, characterization and in vitro evaluation of curcumin microemulsions. *LWT - Food Science and Technology*, 59(1), 148-155.
- Cho, Y. H. & McClements, D. J. (2009). Theoretical Stability Maps for Guiding Preparation of Emulsions Stabilized by Protein-Polysaccharide Interfacial Complexes. *Langmuir*, 25(12), 6649-6657.
- Choi, K. O., Aditya, N. P. & Ko, S. (2014). Effect of aqueous pH and electrolyte concentration on structure, stability and flow behavior of non-ionic surfactant based solid lipid nanoparticles. *Food Chemistry*, 147(0), 239-244.

در بررسی طیف FTIR نانوکمپلکس‌های سدیم کازئینات / صمغ عربی حامل کورکومین، انتقال پیک C-O ارتعاش کششی باند آمید I از $1638/24\text{ cm}^{-1}$ به $1644/31\text{ cm}^{-1}$ و C-N ارتعاش کششی توام با حالت خمیدگی آمید II سدیم کازئینات از 1531 cm^{-1} به $1535/14\text{ cm}^{-1}$ در سیستم مرکب نشانگر اتصال سدیم کازئینات با کورکومین می‌باشد. نکته جالب توجه اینکه همه پیک‌های کورکومین در طیف نانوذرات بعد از انکپسوله شدن کورکومین، ناپدید شدند. این نتیجه یک گواهی خوب برای اثبات اتصالات عالی کورکومین با بیوپلیمرهای استفاده شده در تهیه نانوذرات کلوتیدی و نشانگر انکپسوله شدن موفقیت‌آمیز کورکومین می‌باشد. سایر مطالعات نیز وجود اتصالات بین کورکومین و پروتئین را گزارش کردند (Pan *et al.*, 2013).

نتیجه‌گیری

نتایج اسپکتروسکوپی فروسرخ نشان داد که نانوکپسول‌های سدیم کازئینات-صمغ عربی حامل کورکومین با موفقیت تولید شدند. نتایج آنالیز آماری داده‌ها نیز نمایانگر تاثیر معنی‌دار غلظت سدیم کازئینات و صمغ عربی بر کاهش اندازه ذرات سیستم می‌باشد ($p < 0.01$). همه فاکتورهای مورد بررسی (غلظت سدیم کازئینات، غلظت صمغ عربی، غلظت توپین ۲۰ و pH) تاثیر معنی‌داری بر شاخص‌های رنگی کورکومین (a^* , b^* , L^* ، کروما و تفاوت رنگ کل) داشتند. بهترین نمونه با کوچکترین اندازه ذرات و بهترین شاخص‌های رنگی کورکومین در غلظت سدیم کازئینات ۰/۲٪، صمغ عربی ۰/۷۵٪، توپین ۲۰ به مقدار ۰/۱٪ و pH ۵ بدست آمد. در کل نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که با توجه به محدودیت‌های استفاده از کورکومین، انکپسولاسیون کورکومین و بویژه نانوذرات منجر به بهبود کیفیت و شدت رنگ کورکومین می‌شود. بنابراین امکان استفاده از نانو ذرات کورکومین به منظور فراهم کردن رنگ زرد جذاب در محصولات نوشیدنی و غذایی به جای رنگ‌های شیمیایی مضر از جمله تارترازین، را فراهم می‌کند. این محصولات علاوه بر دارا بودن رنگ طبیعی دارای خواص سلامتی بخش و درمانی فراوانی نیز می‌باشند.

De Paz, E., Martín, Á., Estrella, A., Rodríguez-Rojo, S., Matias, A. A., Duarte, C. M. M. & Cocero, M. J. (2012). Formulation of β -carotene by precipitation from pressurized ethyl acetate-on-water emulsions for application as natural colorant. *Food Hydrocolloids*, 26(1), 17-27.

Duvoix, A., Blasius, R., Delhalle, S., Schnekenburger, M., Morceau, F. & Henry, E. (2005). Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer Lett*, 223, 181-90.

Dickinson, E. (1998). Stability and rheological implications of electrostatic milk protein-polysaccharide interactions. *Trends in Food Science & Technology*, 9(10), 347-354.

Fu, J. M., Li, Y. & Guo, J. L. (1998). Optical behavior of organic pigments in aqueous dispersions and its application. *Journal of Colloid and Interface Science*, 202(2), 450-455.

Gils, P. S., Ray, D. & Sahoo, P. K. (2010). Designing of silver nanoparticles in gum arabic based semi-IPN hydrogel. *International Journal of Biological Macromolecules*, 46(2), 237-244.

Goel, A., Kunnumakkara, A. B. & Aggarwal, B. B. (2008). Curcumin as "curecumin": from kitchen to clinic. *Biochem Pharmacol*, 75, 787-809.

Gomez-Estaca, J., Balaguer, M. P., Gavara, R. & Hernandez-Munoz, P. (2012). Formation of zein nanoparticles by electrohydrodynamic atomization: Effect of the main processing variables and suitability for encapsulating the food coloring and active ingredient curcumin. *Food Hydrocolloids*, 28(1), 82-91.

Huang, G. Q., Sun, Y. T., Xiao, J. X. & Yang, J. (2012). Complex coacervation of soybean protein isolate and chitosan. *Food Chemistry*, 135(2), 534-539.

Ilyasoglu, H. & El, S. N. (2013). Nanoencapsulation of EPA/DHA with sodium caseinate-gum arabic complex and its usage in the enrichment of fruit juice. *LWT - Food Science and Technology*, 56(2), 461-468.

Jiménez, A., Sánchez-González, L., Desobry, S., Chiralt, A. & Tehrany, E. A. (2014). Influence of nanoliposomes incorporation on properties of film forming dispersions and films based on corn starch and sodium caseinate. *Food Hydrocolloids*, 35(0), 159-169.

Jones, O. G. & McClements, D. J. (2010). Functional Biopolymer Particles: Design, Fabrication, and Applications. *Comprehensive*

Reviews in Food Science and Food Safety, 9(4), 374-397.

Levy, M. C., Lefebvre, S., Rahmouni, M., Andry, M. C. & Manfait, M. (1991). Fourier transform infrared spectroscopy studies of human serum albumin microcapsules prepared by interfacial cross-linking with terephthaloylchloride: influence of polycondensation pH on spectra and relation with microcapsule morphology and size. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 80, 578-585.

Liu, L., Zhao, Q., Liu, T., Kong, J., Long, Z. & Zhao, M. (2012). Sodium caseinate/carboxymethylcellulose interactions at oil-water interface: Relationship to emulsion stability. *Food Chemistry*, 132(4), 1822-1829.

López-Tobar, E., Blanch, G. P., Ruiz del Castillo, M. L. & Sanchez-Cortes, S. (2012). Encapsulation and isomerization of curcumin with cyclodextrins characterized by electronic and vibrational spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*, 62(0), 292-298.

Luo, Y., Teng, Z. & Wang, Q. (2011). Development of Zein Nanoparticles Coated with Carboxymethyl Chitosan for Encapsulation and Controlled Release of Vitamin D3. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(3), 836-843.

Mangolim, C. S., Moriwaki, C., Nogueira, A. C., Sato, F., Mauro Luciano Baesso, M. L., Neto, A. M. & Matioli, G. (2014). Curcumin- β -cyclodextrin inclusion complex: Stability, solubility, characterisation by FT-IR, FT-Raman, X-ray diffraction and photoacoustic spectroscopy, and food application. *Food chemistry*, 153, 361-370.

Mortensen, A. (2006). Carotenoids and other pigments as natural colorants. *Pure and Applied Chemistry*, 78, 1477-1491.

Naksuriya, O., Okonogi, S., Schiffelers, R. M. & Hennink, W. E. (2014). Curcumin nanoformulations: A review of pharmaceutical properties and preclinical studies and clinical data related to cancer treatment. *Biomaterials*, 35, 3365-3383.

Nayak, A. K., Das, B. & Maji, R. (2012). Calcium alginate/gum Arabic beads containing glibenclamide: Development and in vitro characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 51(5), 1070-1078.

Pan, Y., Tikekar, R. V. & Nitin, N. (2013). Effect of antioxidant properties of lecithin emulsifier on oxidative stability of encapsulated bioactive compounds.

International Journal of Pharmaceutics, 450(1-2), 129-137.

Pan, K., Zhong, Q. & Baek, S. J. (2013). Enhanced Dispersibility and Bioactivity of Curcumin by Encapsulation in Casein Nanocapsules. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(25), 6036-6043.

Picone, C. S. F. & Cunha, R. L. (2013). Formation of nano and microstructures by polysorbate-chitosan association. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 418(0), 29-38.

Santinho, A. J. P., Pereira, N. L., de Freitas, O. & Collett, J. H. (1999). Influence of formulation on the physicochemical properties of casein microparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 186(2), 191-198.

Shin, S. K., Ha, T. Y., McGregor, R. A. & Choi, M. S. (2011). Longterm curcumin administration protects against atherosclerosis via hepatic regulation of lipoprotein cholesterol metabolism. *Mol Nutr Food Res*, 55, 1829-1840.

Silva, H. D., Cerqueira, M. A., Souza, B. W. S., Ribeiro, C., Avides, M. C. & Quintas, M. A. C. (2011). Nanoemulsions of b-carotene using a high-energy emulsification-evaporation technique. *Journal of Food Engineering*, 102(2), 130-135.

Ye, A., Flanagan, J. & Singh, H. (2006). Formation of stable nanoparticles via electrostatic complexation between sodium caseinate and gum arabic. *Biopolymers*, 82(2), 121-133.

Zhang, Y. & Zhong, Q. (2013). Encapsulation of bixin in sodium caseinate to deliver the colorant in transparent dispersions. *Food Hydrocolloids*, 33(1), 1-9.

Zhao, L., Du, J., Duan, Y., Zang, Y., Zhang, H., Yang, C., Cao, F. & Zhai, G. (2012). Curcumin loaded mixed micelles composed of Pluronic P123 and F68: preparation, optimization and in vitro characterization. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 97, 101-108.