



نانوکمپلکس‌های صمغ عربی - کازئینات حامل بتا کاروتن (۱): بررسی تشکیل کمپلکس توسط FTIR، DSC، کدورت و رئولوژی

معصومه اکرمی^۱، بابک قنبرزاده^{۲*}، رسول دیناروند^۳، جلال دهقان نیا^۴ و محمدیار حسینی^۴

تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۳ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۰/۱۳

^۱ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تبریز

^۲ به ترتیب استاد و دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه تبریز

^۳ استادیار دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران

^۴ دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه ایلام

* مسئول مکاتبات: Email: Ghanbarzadeh@tabrizu.ac.ir

چکیده

در این تحقیق، تولید نانوکمپلکس‌های بر پایه دو بیوپلیمر صمغ عربی - کازئینات به منظور ایجاد یک سیستم حامل برای بتا کاروتن، توسط تکنیک‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور، ابتدا محلول‌های کازئینات سدیم در دو سطح غلظت ۰/۱ و ۰/۵ (درصد وزنی-حجمی) و صمغ عربی در سه سطح غلظت ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد (درصد وزنی-حجمی) تهیه شدند. سپس بتاکاروتن در محلول‌های کازئینات سدیم بارگذاری شد و صمغ عربی در غلظت‌های مختلف به آنها اضافه گردید و با تنظیم pH، بر همکنش الکترواستاتیک بین بیوپلیمرها ایجاد گردید. ایجاد کمپلکس بین صمغ عربی - کازئینات و کازئینات-بتا کاروتن توسط آزمون‌های طیف سنجی فرو سرخ نزدیک (FT-IR)، گرماسنجی پویایی افتراقی (DSC)، کدورت‌سنجی و رئومتری ارزیابی شدند. نتایج آزمون FT-IR نمونه‌ها نشان داد که طیف اختصاصی محلول بیوپلیمری حاوی بتاکاروتن، متفاوت از طیف‌های اختصاصی هر کدام از بیوپلیمرها و بتاکاروتن می‌باشد. در آزمون DSC نمونه‌ها نیز، الگوی تغییرات حرارتی کمپلکس بیوپلیمری حاوی بتاکاروتن با هر کدام از بیوپلیمرها و بتاکاروتن، تفاوت چشمگیری داشت که به انکپسولاسیون بتاکاروتن در کمپلکس کازئینات - صمغ عربی نسبت داده شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری کدورت محلول‌ها نشان داد که با افزایش غلظت صمغ عربی، کدورت افزایش یافت و بیشترین کدورت (۱۳۴ NTU) مربوط به غلظت کازئینات سدیم ۰/۱٪ - صمغ عربی ۱٪ بود. بررسی ویژگی‌های رئولوژیکی محلول‌ها نشان داد که افزایش غلظت صمغ عربی از ۰/۱ به ۱٪، باعث افزایش ویسکوزیته محلول‌های بیوپلیمری شد که به افزایش تعداد ذرات کمپلکس نسبت داده شد.

واژگان کلیدی: کمپلکس کازئین - صمغ عربی، بتا کاروتن، طیف سنجی فروسرخ، گرماسنجی پویایی افتراقی

^۱ این مقاله با کد ۹۳۰۰۷ به تاریخ ۹۳/۳/۲۱ در نشریه "پژوهش‌های صنعت غذا" دانشگاه ارومیه مورد پذیرش واقع شده بود، به علت انحلال مجله مذکور به این نشریه ارسال و پس از بررسی اجمالی مجدداً در تاریخ فوق‌الذکر مورد پذیرش قرار گرفت.

مقدمه

کمپلکس‌های پروتئین-پلی‌ساکارید، یکی از انواع حاملهایی است که می‌توانند به عنوان کپسول‌های مواد زیست‌فعال، در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده واقع شوند (زیمت و همکاران ۲۰۰۹؛ ران و همکاران ۲۰۱۰؛ یه و همکاران ۲۰۰۸؛ زویدم و همکاران ۲۰۱۰).

هنگامی که پروتئین و پلی‌ساکارید، در یک محیط مایع با هم مخلوط می‌شوند، دو وضعیت مختلف می‌تواند بین دو بیوپلیمر رخ دهد: غلبه بر همکنش‌های جذبی و در نتیجه تشکیل کمپلکس‌های محلول و نامحلول و یا غلبه بر همکنش‌های دفعی و در نتیجه، جدا شدن دو بیوپلیمر از هم و قرار گرفتن بصورت مجزا بسته به بار الکتریکی موجود بر روی هر دو بیوپلیمر و همچنین فاکتورهای موثر بر بار آنها مانند pH و قدرت یونی، یکی از این دو فرایند، رخ خواهد داد (لانگر و همکاران ۲۰۰۳).

برهمکنش‌های جذبی، بیشتر از طریق ایجاد پیوندهای الکترواستاتیک بین بارهای مخالف بیوپلیمرها صورت می‌گیرد و بین پروتئین‌های با بار مثبت در زیر نقطه ایزوالکتریک ($pH < pI$) و پلی‌ساکاریدهای آنیونی در pH بالای pK_a ؛ و یا پروتئین با بار خالص منفی ($pH > pI$) و پلی‌ساکاریدهای کاتیونی (مانند کیتوزان) رخ می‌دهد (ماتالانیز و همکاران ۲۰۱۱). تشکیل کمپلکس محلول یا نامحلول به نسبت مولاریته دو پلیمر، pH و قدرت یونی محیط وابسته است. کمپلکس‌های محلول، زمانی تشکیل می‌شوند که بارهای مخالف دو ماکروبیون موجود در کمپلکس، از نظر تعداد با هم برابر نباشند و در نتیجه شبکه باردار، اجازه حلالیت را به کمپلکس می‌دهد؛ اما زمانی که بارهای مخالف دو پلیمر، همدیگر را خنثی می‌کنند کمپلکس نامحلول ایجاد شده و در نتیجه رسوب می‌دهد (یه و همکاران ۲۰۰۸).

عامل مهم دیگر در محلول یا نامحلول شدن کمپلکس، توالی و ترتیب اختلاط بیوپلیمرها و تغییرات آنها در طی آماده سازی است، زمانی که اسیدیفیکاسیون محلول پس از اختلاط انجام شود، اندازه کمپلکس نسبت به

حالتی که این عمل قبل از اختلاط انجام شود، ثبات بیشتری دارد، بنابراین برهمکنش الکترواستاتیک بین پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها، ممکن است باعث تشکیل کمپلکس‌های محلول یا توده‌ای شود که به فاکتورهای مختلفی از جمله نوع پلی‌ساکارید (آنیونی یا کاتیونی)، قدرت یونی، نسبت پلی‌ساکارید به پروتئین و pH بستگی دارد (زیمت و همکاران ۲۰۰۹؛ ران و همکاران ۲۰۱۰؛ یه و همکاران ۲۰۰۸). پروتئین‌ها به تنهایی یا بصورت کمپلکس با پلی‌ساکاریدها برای انکپسولاسیون بکار می‌روند در سالهای اخیر، پژوهش‌های متعددی روی ویژگی‌های نانوحامل‌های بر پایه کمپلکس‌های پلی‌ساکارید-پروتئین، انجام شده است (آنال و همکاران ۲۰۰۸؛ چاناساترو و همکاران ۲۰۰۹؛ جونز و همکاران ۲۰۱۰؛ لئو و همکاران ۲۰۱۱؛ ران و همکاران ۲۰۱۰؛ زیمت و لیونی ۲۰۰۹). توده‌های پروتئینی به علت داشتن نواحی قطبی و غیر قطبی و فعالیت سطحی، قابلیت بالایی در انکپسولاسیون مواد فعال آگریز و آبدوست دارند (رلکین و همکاران ۲۰۱۲؛ لیونی و همکاران ۲۰۱۰؛ سمئو و همکاران ۲۰۰۷؛ لیانگ و همکاران ۲۰۱۱).

تاکنون پروتئین‌های شیر رایج‌ترین پروتئین‌ها برای این هدف بوده‌اند. کازئین، ۸۰-۷۵٪ پروتئین شیر را شامل می‌شود و به شکل میسلی در شیر وجود دارد. این میسل‌ها، کلوئیدهایی کروی با اندازه ۵۰-۵۰۰ نانومتر (به طور متوسط ۱۵۰ نانومتر) هستند (سمئو و همکاران ۲۰۰۷). نانوکپسول‌های تشکیل شده از میسل کازئینی می‌توانند به عنوان نانوحامل‌هایی برای حفاظت و انتقال کلسیم، فسفات و همچنین مواد مغذی آگریز حساس به کار روند (چن و همکاران ۲۰۰۶؛ هوگان و همکاران ۲۰۰۱؛ سمئو و همکاران ۲۰۰۷).

از واکنش کازئین با هیدروکسید سدیم، کازئینات سدیم به دست می‌آید که رایج‌ترین محصول کازئین در صنایع غذایی است.

صمغ عربی یک پلی‌ساکارید تراوشی و انشعابی است که زنجیر اصلی آن از گالاکتوز و زنجیرهای فرعی آن

ساخت آلمان)، همزن مغناطیسی (شرکت Memmert مدل WB14، ساخت آلمان)، pH متر (شرکت Seven Multi، ساخت سوئیس)، دستگاه زتا سایزر (شرکت Malvern Zetasizer مدل ZS، ساخت انگلیس)، سانتریفیوژ (شرکت Sigma مدل 3k30، ساخت آلمان)، کروماتوگرافی HPLC (شرکت Knauer مدل Smartline، ساخت آلمان) طی این پروژه استفاده گردید.

تهیه محلول‌های کازئینات سدیم

جهت تهیه محلول‌های کازئینات سدیم (در دو غلظت ۰/۱ و ۰/۵ درصد)، پودر کازئینات توزین و داخل ۲۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه حل گردیده و حدود ۲۰ دقیقه در داخل سونیکاتور قرار داده شد. پس از حل شدن پودر و به دست آمدن محلول‌های شفاف، به مدت ۵ ساعت روی همزن مغناطیسی، در دور متوسط، هم زده شدند. نمونه‌های تهیه شده، برای آگیری بهتر، به مدت یک شبانه روز در یخچال نگهداری شدند (به و همکاران ۲۰۰۶).

تهیه محلول‌های صمغ عربی

جهت تهیه محلول‌های صمغ عربی (در سه غلظت ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد)، پودر صمغ عربی توزین و در آب دیونیزه حل گردید و سپس در سونیکاتور قرار داده شدند تا محلول‌ها بصورت شفاف در آیند و سپس به مدت ۵ ساعت روی همزن مغناطیسی به هم زده شدند. محلول‌های آماده شده، به مدت یک شبانه روز در یخچال نگهداری شد.

تهیه محلول بتاکاروتن

برای تهیه محلول بتاکاروتن (۰/۰۳٪)، پودر بتاکاروتن در یک ظرف تیره توزین و بعد با استفاده از محلول استون دی کلرومتان با نسبت ۴ (استون) به ۶ (دی کلرومتان) به حجم مورد نظر رسانده شد. محلول بتا کاروتن، داخل ظرف درب بسته (چون بتاکاروتن نسبت به نور و اکسیژن، بسیار حساس است) به مدت ۱ ساعت روی همزن مغناطیسی در دور متوسط هم زده

از قندهای گالاکتوز، آرابینوز، رامنوز و اسید گلوکورونیک تشکیل شده است. به علت وجود اسید گلوکورونیک در ساختار آن، کمی باردار بوده و بنابراین، ویسکوزیته آن تحت تاثیر pH قرار می‌گیرد (حداکثر ویسکوزیته در ۸-۶ pH). صمغ عربی دارای وزن مولکولی کم، حلالیت بالا در آب و ویسکوزیته پایین می‌باشد. به علت اتصال به پروتئین، دارای فعالیت سطحی بوده و به عنوان امولسیفایر، انکپسوله کننده و بازدارنده رشد کریستالهای قند و یخ در صنعت غذا بکار می‌رود (به و همکاران ۲۰۰۶؛ یونکسیا و همکاران ۲۰۱۱).

تشکیل کمپلکس بین دو بیوپلیمر پلی‌ساکاریدی و پروتئینی، ماده فعال - بیوپلیمر توسط محققین مختلف بررسی شده است.

در این تحقیق، ابتدا تشکیل کمپلکس بین کازئینات - صمغ عربی و اتصال بتا کاروتن به آن توسط روشهای مختلف بررسی شد که نتایج آن در مقاله حاضر (مقاله اول) ارائه گردیده است و سپس خواص فیزیکی این کمپلکس‌ها در جهت کاهش اندازه ذرات و افزایش کارایی انکپسولاسیون بررسی گردید که نتایج آن در مقاله دوم ارائه می‌شود.

مواد و روش‌ها

مواد

کازئینات (شرکت Sigma، نیوزلند)، صمغ عربی (شرکت Merck، آلمان) بتاکاروتن با درجه خلوص ۹۹٪ (شرکت Sigma-Aldrich، آمریکا)، سیترات سدیم، کلریدکلسیم، پیروفسفات پتاسیم، اتیلن، دی کلرومتان، EDTA، هپتان، اسیدکلریدریک، هیدروکسید سدیم و همچنین استونیتریل، متانول، تترا هیدرو فورانول (THF) با درجه خلوص HPLC (شرکت Merck آلمان) برای انجام این پروژه استفاده شدند. از تجهیزات ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۰۰۱ و ۰/۰۱ گرم (شرکت Sartorius مدل CP1245،

شد تا ذرات بتاکاروتن بصورت کامل حل شود (سیلوا و همکاران ۲۰۱۱).

تهیه محلول کازئینات سدیم حاوی بتاکاروتن

محلول‌های کازئینات سدیم به مدت چند دقیقه روی همزن مغناطیسی، هم زده و سپس در دستگاه پروب سونیک قرار داده شدند. محلول بتاکاروتن بوسیله سرنگ با نسبت ۱ به ۹ (نسبت به محلول کازئینات سدیم) داخل محلول تزریق و بعد در دستگاه پروب سونیک فراصوت شد (۳ دقیقه) تا پخش ذرات بتاکاروتن، بهتر صورت گیرد. برای حذف حلال، محلول‌های کازئینات حاوی بتاکاروتن، داخل دستگاه روتاری اوپراسیون (دور rpm ۱۰۰، دمای °C ۴۰ درجه سانتیگراد و مدت زمان ۱ ساعت) قرار داده شدند (حدود ۱۰ دقیقه در ابتدای کار، میزان چرخش و درجه حرارت، بایستی خیلی کم باشد و به تدریج افزایش یابد چون احتمال کف کردن محلول‌ها در این مرحله زیاد می باشد). افزودن بافرها به محلول‌های کازئینات حاوی بتاکاروتن، روی هم زن به ترتیب انجام شد. در ابتدا ۰/۴ میلی لیتر تری سیترات سدیم به محلول کازئینات ۰/۱٪ و ۲ میلی لیتر به محلول کازئینات ۰/۵٪ اضافه گردید. با استفاده از سمپلر در طی ۸ مرحله و در طول ۱۵ دقیقه، پیروفسفات پتاسیم (۲/۴ میلی لیتر برای محلول کازئینات ۰/۱٪ و ۱۲ میلی لیتر به محلول کازئینات ۰/۵٪) و کلریدکلسیم (۲ میلی لیتر برای محلول کازئینات ۰/۱٪ و ۱۰ میلی لیتر برای محلول کازئینات ۰/۵٪) افزوده شدند. سپس pH محلول‌ها با استفاده از هیدروکسید پتاسیم و اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال، بین ۷-۶/۹ تنظیم شد. بعد از تنظیم pH محلول در محدودهٔ خنثی، محلول‌ها با استفاده از آب دیونیزه، جهت رسیدن به غلظت‌های نهایی ۰/۱ و ۰/۵٪، به حجم رسانده شدند و سپس حدود نیم ساعت روی همزن مغناطیسی، هم زده شدند و در انتهای این مرحله، ۵۰۰ میلی لیتر محلول‌های کازئینات ۰/۱ و ۰/۵٪ حاوی بتاکاروتن تهیه

شدند (سمئو و همکاران ۲۰۰۷؛ سیلوا و همکاران ۲۰۱۱).

تهیه نانوکمپلکس کازئینات سدیم - صمغ عربی

حاوی بتاکاروتن

در چهار ویال شیشه‌ای، ۲۵ میلی لیتر محلول ۰/۱٪ و در چهار ویال دیگر ۲۵ میلی لیتر محلول ۰/۵٪ کازئینات سدیم - بتاکاروتن ریخته شد. سپس ۲۵ میلی لیتر محلول‌های صمغ عربی در سه غلظت ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد، به روی محلول‌های کازئینات-بتاکاروتن اضافه گردید (برای غلظت صمغ عربی صفر٪ به هر کدام از دو غلظت محلول کازئینات، ۲۵ میلی لیتر آب دیونیزه اضافه شد). بنابراین ۸ نمونه (دو نمونه کازئینات و ۶ نمونه کمپلکس کازئینات-صمغ عربی) تولید شد. pH محلول‌ها با استفاده از اسیدکلریدریک و هیدروکسید پتاسیم ۰/۱ نرمال، به تدریج به ۴/۸ رسانده شد. بعد از تنظیم pH، ویالها حدود ۵ دقیقه در سونیکاتور قرار داده شدند تا بر همکنش بین بیوپلیمرها و در نتیجه تشکیل کمپلکس، بهتر صورت گیرد (یه و همکاران ۲۰۰۶).

طیف‌سنجی فروسرخ (FTIR)

طیف‌سنجی فروسرخ در دستگاه FTIR مدل Nicolet 550 (ژاپن) انجام شد. ابتدا نمونه‌ها در فریزر °C ۸۰- منجمد شدند و سپس در دستگاه لیوفیلیزاتور (Christ Alpha 2-4LD، آلمان) به شکل پودر جامد خشک در آمدند. از پودرهای کمپلکس برای تهیهٔ قرص‌های جامد شفاف استفاده شد. روش تهیه قرص به این صورت بود که ابتدا پودر لیوفیلیزه شده و برمید پتاسیم با نسبت‌های ۱ به ۱۰ مخلوط شده و آسیاب شدند. سپس در دستگاه تهیه قرص با استفاده از دستگاه پرس (به مدت ۲ دقیقه و فشار ۶۰ کیلو نیوتن) به شکل قرص در آمدند و برای آنالیز، در دستگاه FTIR قرار گرفتند.

اندازه‌گیری خواص حرارتی (DSC)

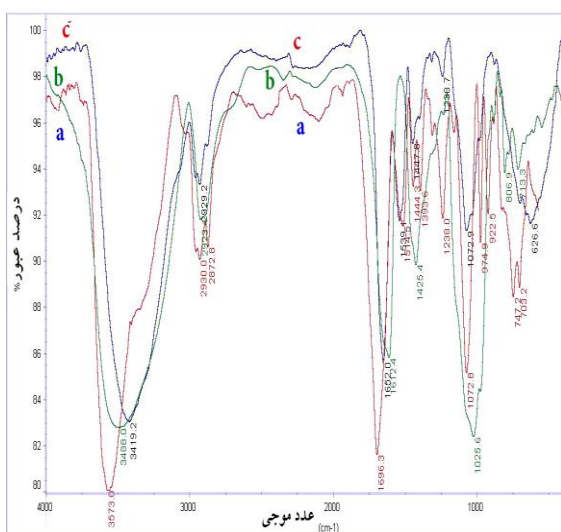
برای اندازه‌گیری خواص حرارتی و دماهای تغییر فاز، از دستگاه کالریمتری اسکنی افتراقی (DSC 200 F 3)

در سطح (version 16.0 for Windows, SPSS Inc) احتمال ۰/۰۵ (P < ۰/۰۵) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای تأیید وجود اختلاف بین میانگین‌ها انجام گرفت.

نتایج و بحث

طیف سنجی فرو سرخ (FT-IR)

با توجه به اینکه گروه‌های عاملی و پیوندهای مختلف، دارای جذب در عددهای موجی (فرکانس‌های) معینی هستند، ایجاد برهم کنش‌های جدید و تغییر در ساختار مواد، سبب تغییر در عددهای موجی جذبی می‌شود؛ بنابراین طیف سنجی فرو سرخ، ابزاری مناسب در تشخیص و نمایش تغییرات ساختاری در مواد می‌باشد. در این پژوهش، آنالیز طیف سنجی فرو سرخ، به منظور شناسایی گروه‌های عاملی در کازئینات سدیم، صمغ عربی و بتا کاروتن و تعیین برهمکنش‌های احتمالی ایجاد شده بین صمغ عربی و کازئینات سدیم و در نهایت تعیین اتصال احتمالی بتا کاروتن به کمپلکس تشکیل شده، انجام گرفت. در شکل ۱ طیف‌های فرو سرخ مربوط به پودرهای کازئینات سدیم (a)، صمغ عربی (b) و کازئینات-صمغ عربی (c) ارائه شده‌اند.



شکل ۱- طیف FTIR نمونه‌های کازئینات سدیم (a)،

صمغ عربی (b)، کمپلکس کازئینات ۰/۵٪-صمغ عربی ۰/۵٪

(c)، در pH=۴/۸

(Maia، سوئیس) استفاده شد. کالیبراسیون دستگاه، توسط ایندیوم و نقره صورت گرفت و ظرف آلومینیومی خالی به عنوان مرجع مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌های خشک شده با وزن تقریبی ۳ میلی گرم، با سرعت ۳۰ درجه سانتی گراد در دقیقه در گسترده دمایی ۲۰ تا ۳۰۰ درجه سانتی گراد اسکن شدند. از روی ترموگرام حاصل، نقطه ذوب ترکیبات تعیین شد (سوتر و همکاران ۲۰۰۷).

اندازه‌گیری کدورت

کدورت کمپلکس‌های بیوپلیمری حاوی بتا کاروتن (در غلظت‌هایی که رسوب نداده بودند) توسط دستگاه توربیدومتر شرکت HACH مدل P ۲۱۰۰، ساخت آمریکا اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری خواص رئولوژیکی

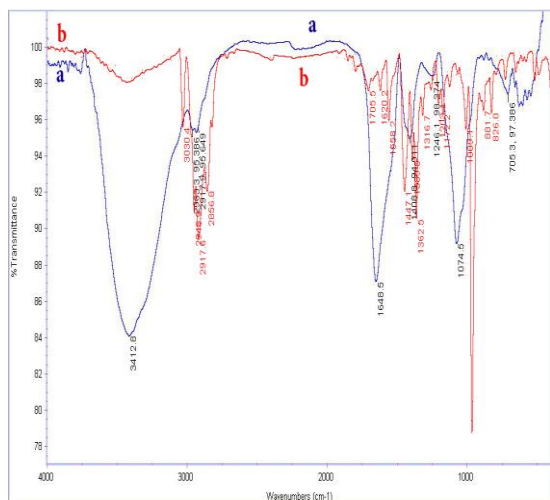
اندازه‌گیری ویژگی‌های رئولوژیکی نمونه‌ها، یک روز پس از آماده‌سازی نمونه‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد با استفاده از دستگاه رئومتر (Physica Anton Paar MCR 301، اتریش) مجهز به رئومتری استوانه-ای هم مرکز مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور نمونه‌های کازئینات سدیم - صمغ عربی در غلظت‌های (درصد وزنی-وزنی) کازئینات سدیم ۰/۱ - صمغ عربی ۰/۱، کازئینات سدیم ۰/۱ - صمغ عربی ۰/۵، کازئینات سدیم ۰/۱ - صمغ عربی ۱، و همچنین غلظت‌های خالص ۰/۱ و ۰/۵ و ۱ صمغ عربی و غلظت خالص ۰/۱ کازئینات سدیم تهیه گردیدند. مقادیر تنش برشی و ویسکوزیته، به صورت تابعی از سرعت برشی در سرعت برشی (۱۰۰-۰/۰۱ در هر ثانیه) اندازه‌گیری شدند و سپس در مدل قانون توان برازش شده و مقادیر شاخص جریان (n) و ضریب قوام (K) تعیین شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

آزمون‌ها در سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شدند. تحلیل و ارزیابی (ANOVA) با استفاده از مدل خطی (G.L.M) نرم افزار آماری SPSS 16

نسبت داد. همچنین مشاهده می‌شود که پیک مربوط به پیوند هیدروژنی در کمپلکس نسبت به کاربنات پهن‌تر و نسبت به صمغ عربی باریک‌تر گشته است که به ترتیب نشان دهنده افزایش پیوندهای هیدروژنی نسبت به کاربنات و کاهش آن نسبت به صمغ عربی است. بحرانی و همکاران (۱۳۹۲a) طی بررسی کمپلکس پکتین-کاربنات، ظهور پیک جدیدی را در عدد موجی ۲۳۳۹. جابه جایی پیک‌های گروه‌های کربوکسیل پکتین (1750 cm^{-1} و 1650 cm^{-1}) و گروه آمونیومی کاربنات سدیم (1570 cm^{-1}) به عدد موج های 1652 و 1544 cm^{-1} گزارش کردند و این دو پدیده (جابه‌جایی پیک‌های اولیه و ظهور پیک جدید) را به ایجاد پیوندهای الکتروستاتیک بین گروه‌های عاملی NH_3^+ کاربنات و COO^- پکتین نسبت دادند. همچنین آنها گزارش دادند که پیک‌های مربوط به عدد موجی محدوده $3100 - 3500$ باریک‌تر شده که تشکیل پیوندهای هیدروژنی ضعیف‌تر را در حالت تشکیل کمپلکس نشان می‌دهد.

در شکل ۲، طیف فرو سرخ مربوط به کمپلکس-بتا کاروتن (a) و بتا کاروتن (b) ارائه شده است (جنان آسامب آندان و همکاران ۲۰۰۰).



شکل ۲- طیف FTIR نمونه‌های کمپلکس کاربنات (۵/۰ درصد) - صمغ عربی (۵/۰ درصد) - بتا کاروتن (a)، بتا کاروتن (b) در $\text{pH}=4/8$

پیوندهای هیدروژنی مربوط به NH^- کاربنات سدیم، پیکی در عدد موجی 3573 cm^{-1} و ارتعاشات کششی مربوط به گروه‌های N-H در عددهای موجی 12380 cm^{-1} ، 15140 cm^{-1} و 1696 cm^{-1} پیک‌های جذب را نشان دادند. لازم به ذکر است که محدوده عدد موجی مربوط به پیوندهای هیدروژنی 3000 تا 3600 cm^{-1} می‌باشد.

در طیف صمغ عربی، پیک مربوط به عدد موجی 1610 cm^{-1} ، می‌تواند مربوط به گروه‌های کربوکسیل اسیدی یا گروه آمید پروتئین متصل به صمغ عربی باشد. پیک‌های مربوط به عدد موجی 2926 cm^{-1} و 2458 cm^{-1} نیز به ترتیب به ارتعاشات کششی CH^- و پیوندهای هیدروژنی درون مولکولی گروه OH می‌تواند مربوط باشد. از آنالیز FTIR برای تعیین درجه استریفیکاسیون پکتین استفاده کردند و نشان دادند که محدوده عدد موجی $1745-1760\text{ cm}^{-1}$ و $1620-1640\text{ cm}^{-1}$ به ترتیب مربوط به گروه‌های کربوکسیل استری شده و گروه‌های کربوکسیل اسیدی است و با کاهش درجه استریفیکاسیون پکتین، سطح پیک مربوط به عدد موج گروه‌های استری کاهش می‌یابد.

با توجه به طیف IR در پودر کاربنات سدیم (۵/۰ درصد) - صمغ عربی (۵/۰ درصد) در سه منطقه، جابجایی پیک نسبت به ترکیبات اولیه کاربنات و صمغ عربی مشاهده می‌شود. پیک مربوط به پیوند هیدروژنی به عدد موجی 3419 cm^{-1} انتقال یافته و پیک مربوط به ارتعاشات کششی CH^- ، به عدد موجی 2959 cm^{-1} تغییر مکان داده است. پیک مربوط به گروه آمیدی 1696 cm^{-1} در کاربنات و گروه کربوکسیل آزاد 1610 cm^{-1} در صمغ عربی به عدد موجی 1650 تغییر مکان داده است. این جابه‌جایی پیک را می‌توان به ایجاد برهمکنش بین کاربنات و صمغ عربی

موجود در 1671 cm^{-1} و 1526 cm^{-1} (مربوط به امید یک و دومی مربوط به امید دو) به 1650 cm^{-1} و 1740 cm^{-1} منتقل گردید و در عدد موجی 1740 cm^{-1} پیک جدیدی مشاهده شد که به تشکیل گروه استری در اثر واکنش گروه های OH ویتامین D با گروه‌های کربوکسیل زنجیرهای جانبی اسید های آمینه کازئینات سدیم نسبت داده شد (خوش منظر و همکاران ۱۳۹۲).

گرماسنجی اسکنی افتراقی (DSC)

آنالیز DSC به منظور بررسی تشکیل کمپلکس بین کازئینات-صمغ عربی و کاروتن انجام شد. شکل ۳، منحنی گرمایشی DSC مربوط به پودرهای خشک شده بیوپلیمرهای صمغ عربی و کازئینات سدیم خالص و کاروتن و کمپلکس صمغ عربی-کازئینات- کاروتن تشکیل شده در شرایط اسیدی ($\text{pH}=4/8$) نشان می‌دهد. پیک های اندوترمیک مربوط به صمغ عربی و کازئینات خالص، تقریباً نزدیک به هم و به ترتیب در دماهای $208/5$ و $221/7^\circ\text{C}$ مشاهده شدند که می‌تواند به تخریب این مواد مربوط باشد. در ترموگرام کاروتن دو پیک اندوترمیک و یک پیک اگزوترمیک به ترتیب در دماهای $63/6$ ، $248/6$ ، و $176/2$ درجه سانتیگراد مشاهده می‌شود که می‌تواند به ترتیب به تبخیر آب متصل شده، تخریب آندوترمیک و تخریب اگزوترمیک بتاکاروتن مربوط باشد. طی بررسی خواص حرارتی محلول‌های نانوکمپلکس زئین-کیتوزان حاوی آلفا توکوفرول (لئو و همکاران ۲۰۱۱) پیک‌های اندوترمیک در دماهای $73/2$ و $91/2^\circ\text{C}$ را به ترتیب، به تبخیر آب پیوند شده در پودر خالص زئین و کیتوزان نسبت دادند که منطقی به نظر می‌رسد، زیرا پیک ذوب مربوط به این بیوپلیمرها در دماهای بسیار بالاتر قرار دارد. ظهور پیک‌های اندوترمیک ناشی از تبخیر آب پیوندی، در تحقیقات انجام شده توسط سایر محققین نیز گزارش شده است که بیان‌کننده تمایل شدید آب به ایجاد پیوند با بیوپلیمرهاست و همچنین آب یک کاهش‌دهنده شدید دماهای انتقال حرارتی مانند ذوب و انتقال شیشه‌ای به

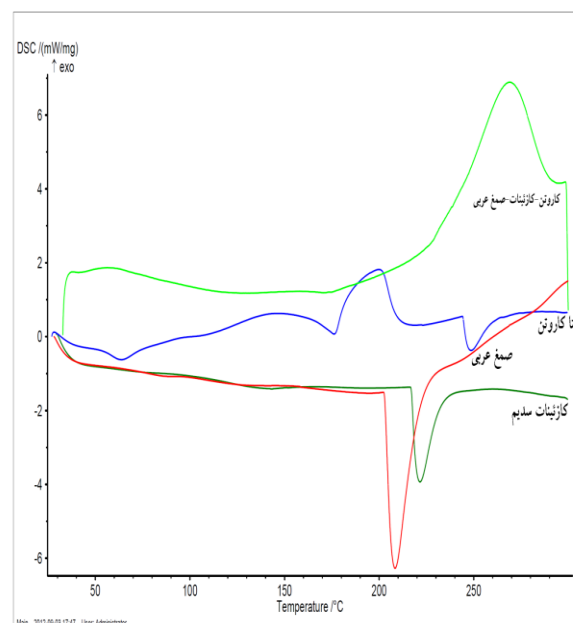
با مقایسه طیف IR کمپلکس و کمپلکس- بتا کاروتن، مشاهده می‌شود که تمامی پیک های موجود در کمپلکس به جز پیک 1539 cm^{-1} در طیف کمپلکس- بتا کاروتن وجود دارد، تقریباً تمامی پیک‌های مربوط به بتا کاروتن، با کپسوله شدن در کازئینات، حذف شده اند. از سوی دیگر، با توجه به اینکه پیک‌های مربوط به عدد موج‌های 3419 cm^{-1} ، 2959 cm^{-1} ، 1650 cm^{-1} و 1448 cm^{-1} در کمپلکس، به ترتیب به 3412 cm^{-1} ، 2963 cm^{-1} ، 1648 cm^{-1} و 1408 cm^{-1} در کمپلکس - بتا کاروتن انتقال یافته‌اند، می‌توان نتیجه گرفت که بین کازئینات و بتا کاروتن برهمکنش اتفاق افتاده و ساختار جدیدی شکل گرفته است و با توجه به وجود بخش‌های آبگریز در ساختار کازئینات، می‌توان گفت که این برهمکنش‌ها احتمالاً از نوع برهمکنش‌های آبگریز می‌باشند. طی بررسی کمپلکس زئین - کیتوزان حامل توکوفرول مشاهده شده است که در اثر برهمکنش توکوفرول با پروتئین زئین، عدد های موجی 1664 و 1550 cm^{-1} مربوط به گروه های امید زئین به 1660 cm^{-1} و 1547 cm^{-1} تغییر مکان می‌دهد (لئو و همکاران ۲۰۱۱). طی بررسی کمپلکس پکتین-کازئینات حامل امگا سه گزارش شده است که تقریباً تمامی پیک- های مربوط به امگا سه، با کپسوله شدن در کازئینات، حذف گردیده و همچنین پیک‌های مربوط به عدد موج- های 1522 و 2968 ، 3062 ، 3321 cm^{-1} در کازئینات، به ترتیب به 1559 و 2953 ، 3067 ، 3295 cm^{-1} در کازئینات حاوی امگا سه انتقال می‌یابد (بحرانی و همکاران ۱۳۹۲). همچنین تشکیل پیک تیزتری در عدد موج $1-3300-3100$ و انحراف آن به سمت راست مشاهده گردید. همچنین طی مطالعه روی کمپلکس های کاراگینان- کازئینات حامل ویتامین D گزارش شده است که تمام پیک‌های موجود در کازئینات، در طیف کازئینات-ویتامین D نیز مشاهده شد ولی پیک‌های

پیک اندوترمیک مربوط به پکتین و کازئینات خالص را به ترتیب در دمای $20.8/4^{\circ}\text{C}$ و $20.6/3^{\circ}\text{C}$ مشاهده شده است که به نتایج این تحقیق نزدیک است و همچنین در آنالیز پکتین، یک پیک اضافه در دمای 126°C مشاهده کردند که احتمالاً به تبخیر و خروج آب متصل شده از ساختار پکتین و یا بخش‌هایی از پلیمر می‌باشد که دارای نظم و اتصالات بین زنجیری کمتری هستند مربوط است (بحرانی و همکاران ۱۳۹۲). آنها همچنین گزارش کردند که با اختلاط محلول‌های ۱٪ کازئینات سدیم و ۰/۴۵٪ پکتین در شرایط اسیدی ($\text{pH}=4/1$)، پیک مربوط به پکتین و کازئینات خالص حذف شده و مخلوط این دو، یک پیک اندوترمیک جدید را در دمای $248/7^{\circ}\text{C}$ نشان دادند. در سیستم کازئینات-پکتین-امگا سه نیز تنها یک پیک اندوترمیک مشاهده شد و پیک مربوط به ذوب امگا سه مشاهده نگردید و با کپسولاسیون امگا سه، دمای ذوب کمپلکس افزایش یافت. گزارش شده است که با تشکیل کمپلکس، دمای دناتوراسیون پروتئین ایزوله دانه سویا از 78°C به 85°C افزایش یافت (هان و همکاران ۲۰۱۲). علاوه بر این، یک پیک جدید در دمای 58°C مشاهده شد که تأییدکننده تغییر در ساختار هر یک از ترکیبات اولیه بود. اما در تحقیق دیگری که بر روی کمپلکس‌های پلی-ساکاریدهای پکتین پراستر، پکتین کم‌استر و کاراگینان با پروتئین بتالاکتوگلوبولین در غلظت‌های پایین پروتئین صورت گرفت، اثر پایدارکنندگی مشاهده نشد و مکان پیک ذوب تغییر نیافت (جانز و همکاران ۲۰۱۰). این نشان می‌دهد که اثر این پلی‌ساکاریدها، به غلظت پروتئین و برهمکنش‌های بین زنجیرهای پروتئین بستگی دارد.

اندازه‌گیری کدورت

میزان کدورت در سیستم‌های کلوئیدی، به سه عامل جنس ذرات (ضریب شکست ذرات)، اندازه ذرات و تعداد ذرات موجود در آن سیستم بستگی دارد؛ یعنی هر گاه میزان کدورت در سیستم کلوئیدی افزایش یابد بدان

شمار می‌رود (پاروین و همکاران ۲۰۱۰؛ دودهانی و همکاران ۲۰۱۰).



شکل - منحنی‌های گرمایشی DSC نمونه‌های کازئینات سدیم، صمغ عربی حاوی بتا کاروتن و کمپلکس کازئینات-صمغ عربی حاوی بتا کاروتن تشکیل شده در $\text{pH}=4/1$

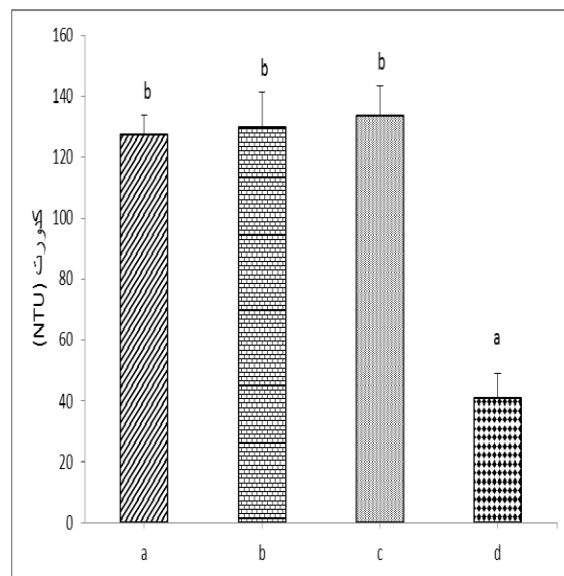
همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود؛ در کمپلکس کاروتن-کازئینات-صمغ عربی پیک‌های اندوترمیک مربوط به اجزا حذف شده و مخلوط این سه، یک پیک اگزوترمیک جدید را در دمای بالاتر (269°C) نشان می‌دهد. همچنین عدم حضور دو پیک مربوط به ترکیبات اولیه کازئینات، کاروتن و صمغ عربی نشان می‌دهد که احتمالاً برهمکنش جذبی الکترواستاتیک بین گروه‌های کربوکسیل صمغ عربی ($-\text{COO}-$) و گروه‌های آمینی کازئینات ($-\text{NH}_3+$) و برهم‌کنش‌های آبگریز بین بخش‌های غیر قطبی کاروتن و کازئینات ایجاد شده است و تشکیل کمپلکس بین این سه ترکیب، ماده جدیدی را ایجاد کرده که خواص آن با ترکیبات سازنده اولیه متفاوت است. این نتیجه با مشاهدات طیف‌سنجی IR، مبنی بر ایجاد برهمکنش جاذبه الکترواستاتیک بین $-\text{COO}-$ صمغ عربی و $-\text{NH}_3+$ کازئینات مطابقت دارد.

گرفت که با افزایش غلظت صمغ عربی، تعداد ذرات کمپلکس افزایش یافته و در نتیجه، کدورت افزایش پیدا کرده است. افزایش کدورت در غلظت بالای صمغ (۱ درصد) می‌تواند ناشی از افزایش اندازه ذرات و تعداد ذرات باشد چون طبق نتایج آنالیز اندازه ذرات، این کمپلکس‌ها اندازه بزرگ تری دارند. کمترین کدورت در نمونه b که دارای کمترین نسبت صمغ عربی به کازئینات است (۵/۰ به ۵/۰ درصد وزنی-وزنی) مشاهده می‌شود که می‌تواند به تشکیل ذرات کمپلکس پروتئین- پلی ساکارید کمتر نسبت داده شود. برخلاف نتایج این تحقیق، گزارش شده است که هر چه غلظت پکتین در سیستم پکتین - بتالاکتوگلوبولین بیشتر شود کدورت کمتر می‌گردد (ران و همکاران ۲۰۱۰). در همین ارتباط، در تحقیقی نشان دادند که در مقادیر بسیار کم پکتین، کدورت سیستم به شدت افزایش می‌یابد (Zimet و همکاران ۲۰۰۹). این موضوع می‌تواند ناشی از تفاوت غلظت‌ها و بیوپلیمرهای مورد استفاده در این تحقیق باشد. مطابق مطالعه محققین با کاهش pH از ۵ به ۳/۵، کدورت محلول‌های پکتین- بتالاکتوگلوبولین بیشتر از محلول‌های کاراگینان- بتالاکتوگلوبولین افزایش یافت و به علت این که اندازه ذرات محلول پکتین- بتالاکتوگلوبولین کمتر بود، افزایش کدورت به تعداد کمپلکس‌های تشکیل شده بیشتر در محلول‌های پکتین- بتالاکتوگلوبولین نسبت داده شد (جانز و همکاران ۲۰۱۰).

بررسی ویژگی‌های رئولوژی

هدف اصلی از انجام آزمون‌های رئولوژیکی در این پژوهش، دسترسی به اطلاعات ساختاری کمپلکس‌های کازئینات - صمغ عربی حاوی بتاکاروتن و همچنین خواص حسی سیستم حاوی آن بود، زیرا هدف این پژوهش، استفاده از این کپسول‌ها به عنوان نانوحامل بتا کاروتن در نوشیدنی‌های آبی است و باید از عدم تشکیل ژل و نامطلوب شدن خواص ارگانولپتیکی

معنا است که یا تعداد ذرات در سیستم افزایش پیدا کرده و یا اندازه ذرات بزرگتر شده است. شکل ۴، اثر غلظت‌های متفاوت صمغ عربی و کازئینات سدیم (در pH=۴/۸) بر میزان کدورت سیستم کلوییدی را نشان می‌دهد.



شکل ۴- نمودار تأثیر غلظت بیوپلیمرها بر کدورت نانو

کمپلکس حاوی بتا کاروتن: کازئینات سدیم ۰/۱٪

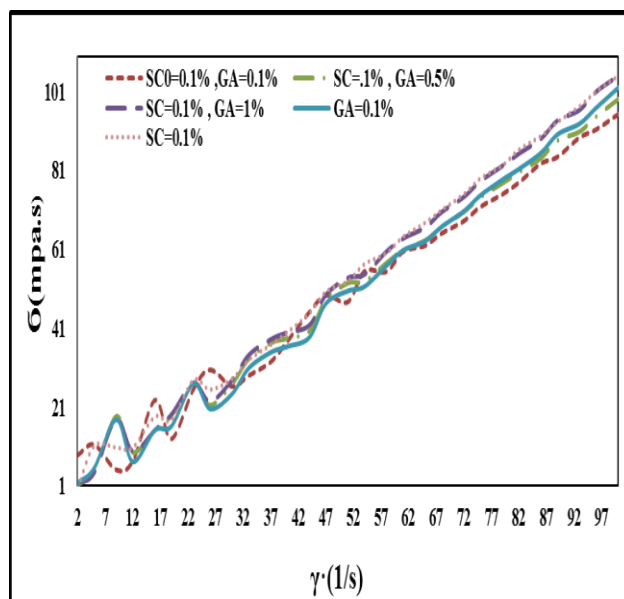
صمغ عربی ۰/۱٪ (a)، کازئینات سدیم ۰/۱٪ - صمغ عربی ۰/۵٪ (b)، کازئینات سدیم ۰/۱٪ - صمغ عربی ۱٪ (c)، کازئینات سدیم ۰/۵٪ - صمغ عربی ۰/۵٪ (d). در pH=۴/۸: حروف کوچک متفاوت در بالای ستون‌ها نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ در آزمون مقایسه‌ی میانگین‌ها به روش دانکن می‌باشد.

مطابق نتایج، هنگامی که غلظت صمغ عربی برای کازئینات سدیم ۰/۱ درصد، افزایش پیدا می‌کند، میزان کدورت محلول نیز بیشتر می‌شود. با توجه به نتایج حاصل از آنالیز اندازه ذرات، در غلظت ۰/۵ درصد صمغ عربی نسبت به غلظت ۰/۱ درصد، اندازه ذرات کوچکتری تشکیل یافته (نتایج در مقاله دوم ارائه شده) و از سوی دیگر میزان کدورت محلول ۰/۵ درصد صمغ نسبت به ۰/۱ درصد بیشتر است پس می‌توان نتیجه

ویسکوزیته را نشان می‌دهد، بطوریکه با افزایش ویسکوزیته محلول، شیب منحنی نیز افزایش می‌یابد. اندازه‌گیری مقادیر ویسکوزیته ظاهری بر حسب سرعت برشی (شکل ۵) نشان داد که در سرعت‌های برشی پایین، نمونه‌ها دارای رفتار روان شوندگی با برش (سودوپلاستیک) بوده و با افزایش سرعت برشی، میزان ویسکوزیته کاهش پیدا می‌کند که می‌توان این مقدار افت اولیه را به کاهش اصطکاک در اثر هم‌مسیر شدن ذرات فاز پراکنده و غلبه نیروی برشی بر نیروی براونی نسبت داد (قنبرزاده و همکاران ۱۳۹۲). در سرعت‌های برشی بالاتر از 3.0 S^{-1} ، رفتار نیوتنی ظاهر می‌شود یعنی در سرعت‌های برشی بالاتر، ویسکوزیته محلول‌ها به سرعت برشی وابسته نیست.

با توجه به شکل‌ها مشاهده می‌شود که محلول ۱٪ کازئینات نسبت به محلول ۱٪ صمغ عربی دارای شیب و ویسکوزیته بیشتری است. کازئینات و صمغ عربی هر دو به دلیل داشتن گروه‌های آبدوست فراوان، به میزان زیادی آب جذب می‌کنند و موجب افزایش ویسکوزیته می‌شوند. معمولاً صمغ‌ها بیشتر از پروتئین‌ها موجب افزایش ویسکوزیته می‌شوند ولی صمغ عربی یک استثناست و در مقایسه با صمغ‌های دیگر کمتر ویسکوزیته را افزایش می‌دهد که علت آن انشعابی بودن مولکول صمغ عربی است و به همین دلیل، به عنوان هیدروکلوئیدی مناسب برای انکپسولاسیون، استفاده وسیعی دارد. در شکل ۶، رابطه ویسکوزیته - سرعت برشی برای نمونه‌های کمپلکس ارائه شده است،

محصول، اطمینان حاصل کرد. برای این منظور ویژگی‌های رئولوژیکی پایای (جریان برشی ساده) سیستم‌های مدل حاوی نانوکپسول‌ها مورد بررسی قرار گرفت. درآزمون رئومتری پایا، رفتار جریان محلول کلوئیدی حاوی ذرات کمپلکس کازئینات سدیم (با غلظت ۰/۱ درصد) و صمغ عربی (با سه غلظت متفاوت ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد) در $\text{pH}=4/8$ ، مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور، مقادیر تنش برشی و ویسکوزیته به صورت تابعی از سرعت برشی، برای تعیین نوع رفتار جریانی نمونه‌ها در فاصله زمانی ۱۰ دقیقه و سرعت برشی $(2-10 \text{ s}^{-1})$ اندازه‌گیری شد.



شکل ۵- نمودار تغییرات تنش برشی بر حسب سرعت برشی نانوذرات حاوی بتاکاروتن در غلظت‌های مختلف کازئینات سدیم و صمغ عربی در $\text{pH}=4/8$: کازئینات سدیم (SC)، صمغ عربی (GA)

همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، بین تنش برشی و سرعت برشی در محلول‌های صمغ عربی، کازئینات و همچنین کمپلکس حاصل از آن‌ها، رابطه نسبتاً خطی وجود دارد و این رفتار نشان می‌دهد که محلول‌ها دارای رفتار نزدیک به نیوتنی هستند. در این سیالات، شیب خط نمودار تنش برشی - سرعت برشی،

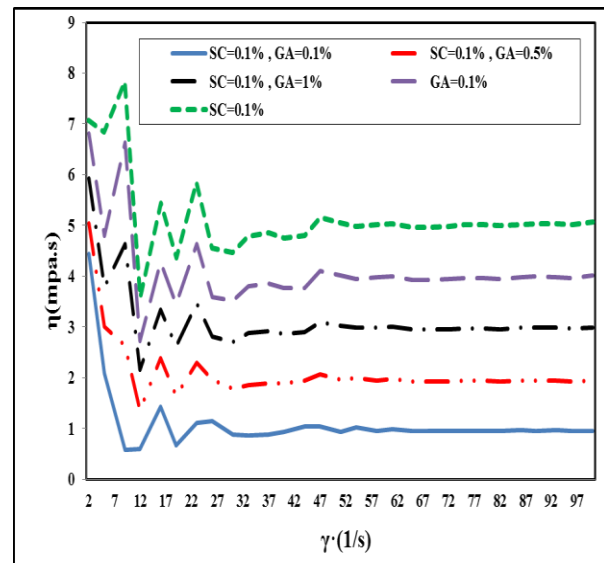
پل یا تهی شدن است که نتایج اندازه ذرات این مکانیسم را تایید نمی کند. در کسر حجمی ثابت ذرات، مقادیر ویسکوزیته سیستم کلئیدی به اندازه ذرات، توزیع اندازه ذرات، انبوهش (فلاکولاسیون) و حضور لایه سورفاکتانت ضخیم دور ذرات بستگی دارد (قنبرزاده و همکاران ۱۳۹۲). ذرات کوچکتر با توزیع اندازه کمتر، ویسکوزیته بیشتری ایجاد می نمایند و همچنین انبوهش ذرات به علت گیر انداختن حلال، موجب افزایش ویسکوزیته می گردد.

نتیجه گیری

روشهای مختلف ارزیابی نشان می دهد که صمغ عربی و کازئینات قادر به تشکیل کمپلکس در زیر pH ایزوالکتریک کازئینات می باشند و همچنین کازئینات قادر به گیر انداختن بتا کاروتن است. بسته به غلظت هر دو بیوپلیمر، تعداد و اندازه کمپلکس ها متفاوت خواهد بود که کدورت و ویسکوزیته سیستم را تحت تاثیر قرار می دهد بطوریکه با افزایش غلظت صمغ عربی، تعداد ذرات کمپلکس افزایش و در نتیجه کدورت و ویسکوزیته افزایش می یابد.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از آزمایشگاه سیستم های نوین دارورسانی مرکز تحقیقات نانو فناوری پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران و همچنین واحد تحقیق و توسعه شرکت کشت و صنعت تکدانه، که در انجام این پروژه همکاری شایانی نمودند، تشکر و قدردانی می گردد.



شکل ۶- نمودار تغییرات ویسکوزیته ظاهری بر حسب سرعت برشی نانو ذرات حاوی بتاکاروتن در غلظت های مختلف کازئینات سدیم و صمغ عربی در pH=۴/۸: کازئینات سدیم (SC)، صمغ عربی (GA)

همانطور که ملاحظه می شود محلول خالص هر دو بیوپلیمر دارای ویسکوزیته بالاتری نسبت به محلول کمپلکس دو بیوپلیمر می باشند. حضور صمغ عربی می تواند با ایجاد نیروهای دافعه ناشی از ممانعت فضایی و دافعه الکترواستاتیک، موجب جلوگیری از لخته شدن ذرات کازئیناتی شده و از افزایش شدید ویسکوزیته جلوگیری نماید. همچنین با افزایش غلظت صمغ عربی از ۰/۱ به ۰/۵ و ۱ درصد، میزان ویسکوزیته محلول های کمپلکس افزایش یافته است. اگر در سیستمی تغییر حالت از رقیق به نیمه رقیق وجود داشته باشد می توان افزایش ویسکوزیته را به درگیری و گیر افتادن زنجیرها نسبت داد ولی چون در این سیستم، به علت رقیق بودن تغییر حالت وجود ندارد نمی توان افزایش ویسکوزیته را به آن نسبت داد بلکه احتمال دارد افزایش ویسکوزیته، ناشی از افزایش تعداد ذرات کمپلکس و در نتیجه، افزایش اصطکاک باشد. همچنین احتمال دیگر، افزایش توده شدن ذرات در اثر انبوهش ناشی از تشکیل

منابع مورد استفاده

- بحرانی س، قنبرزاده ب، همیشه کار ح، صوتی خیابانی م و حسینی م، ۱۳۹۱، بررسی ویژگی‌های حرارتی، کدورت، عوامل مؤثر بر اندازه ذرات و رئولوژی نوسانی نانوکمپلکس‌های بیوپلیمری پکتین - کازئینات، علوم و تکنولوژی پلیمر، ۶، ۴۳۳-۴۴۷.
- بحرانی س، قنبرزاده ب، همیشه کار ح، صوتی خیابانی م، ۱۳۹۲، نانوانکپسولاسیون اسیدهای چرب امگا سه توسط حامل‌های پکتین - کازئینات: بررسی تشکیل کمپلکس، اندازه ذرات و کارایی انکپسولاسیون، مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۸(۳)، ۱-۱۵.
- بحرانی س، قنبرزاده ب، همیشه کار ح، صوتی خیابانی م، حسینی م، ۱۳۹۲، نانوکمپلکس کازئینات - پکتین: بررسی طیف‌سنجی فروسرخ، مورفولوژی، ویژگی‌های فیزیکی و رفتار جریان‌ی پایا، نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، ۹(۱)، ۱۰۰-۸۱.
- خوش منظر م، قنبرزاده ب، همیشه کار ح، صوتی خیابانی م، رضایی مکرّم ر، ۱۳۹۱، بررسی عوامل مؤثر بر اندازه ذرات، پتانسیل زتا و ویژگی‌های رئولوژیک پایا در سامانه کلئیدی حاوی نانو ذرات کاپاکاراگینان - کازئینات سدیم، پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، ۲۷۲، ۴-۲۵۵.
- قنبرزاده ب، الماسی ه، نیک نیا ن، ۱۳۹۲، شیمی و فیزیک سیستم‌های کلئیدی و محلول‌های بیوپلیمری غذایی، انتشارات دانشگاه صنعتی شریف.
- Anal AK, Tobiassen A, Flanagan J & Singh H, 2008. Preparation and characterization of nanoparticles formed by chitosan-caseinate interactions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 64: 104-110.
- Chanasattru, W, Griffith JO, Decker E A & McClements D J, 2009. Impact of cosolvents on formation and properties of biopolymer nanoparticles formed by heat treatment of Beta-lactoglobulin-Pectin complexes. *Food Hydrocolloids* 23: 2450-2457.
- Chen L, Remondetto GE & Subirade M, 2006. Food protein-based materials as nutraceutical delivery systems. *Trends in Food Science and Technology* 17: 272-283.
- Hogan S A, McNamee B F, O'Riordan E D & O'Sullivan M, 2001. Microencapsulating properties of sodium caseinate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 1934-1938.
- Jones W, Decker EA & McClements DJ, 2010. Thermal analysis of beta-lactoglobulin complexes with pectins or carrageenan for production of stable biopolymer particles. *Food Hydrocolloids* 24: 239-248.
- Matalanis A, Jones O & McClements DJ, 2011. Structure biopolymer-based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds. *Food Hydrocolloid* 3: 1-16.
- Langer R & Peppas N A, 2003. Advances in biomaterials, drug delivery, and bionanotechnology. *American Institute of Chemical Engineers* 49: 299-306.
- Liang, L, Tremblay-Hébert V & Subirade M, 2011. Characterisation of the β -lactoglobulin/a-tocopherol complex and its impact on a-tocopherol stability. *Food Chemistry* 126: 821-826.
- Livney Y D, 2010. Milk proteins as vehicles for bioactives. *Opinion in colloid and interface science* 15: 73-83.
- Luo Y, Zhang B, You L, Whent M & Wang Q, 2011. Preparation and characterization of zein/chitosan complex for encapsulation of alfa-tocopherol, and its in vitro controlled release study. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 85:145-152.
- Ron N, Zimet P & Livney YD, 2010. β -lactoglobulin-polysaccharide complexes as nanovehicles for hydrophobic nutraceuticals in non-fat foods and clear beverages. *International Dairy Journal* 20: 686-693.
- Semo E, Kesselman E, Danino D & Livney Y D, 2007. Casein micelle as a natural nano-capsular vehicle for nutraceuticals. *Food Hydrocolloids* 21: 936-942.
- Silva H, Cerqueria M, Souza B, Riberio C & Avides M, 2011. Nanoemulsions of β -carotene using a high - energy emulsification- evaporation technique. *Journal of Food Engineering* 102:130-135.

- Sutter S, Buera M & Elizalde B, 2007. β -carotene encapsulation in a mannitol matrix as affected by divalent cations and phosphate anion. *International Journal of Pharmaceutics* 332: 45-54.
- Ye A, Flanagan J & Singh H, 2006. Formation of stable nanoparticles via electrostatic complexation between sodium caseinate and gum Arabic. *Biopolymers* 82: 121-133.
- Ye A, 2008. Complexation between milk proteins and polysaccharides via electrostatic interaction: principles and applications – a review. *International Journal of Food Science and Technology* 43: 406–415.
- Zhang G, Foegeding EA & Hardin CC, 2004. Effect of sulfated polysaccharides on heat-induced structural changes in β -Lactoglobulin. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 52: 3975-3981.
- Zimet P & Livney YD. 2009. β -lactoglobulin and its nanocomplexes with pectin as vehicles for omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Food Hydrocolloids* 23: 1120–1126.
- Relkin P & Shukat R, 2012. Food protein aggregates as vitamin-matrix carriers: impact of processing conditions. *Food Chemistry* 134: (4) 2141–2148.
- Zuidam J N & Shimoni E, 2010. Overview of microencapsulates for use in food products or processes and methods to make them. *Food Hydrocolloid* 1-10.

Gum arabic- caseinate nanocomplexes bearing β -carotene (1): studying of complex formation by FTIR, DSC, turbidity and rheology

M Akrami ¹, B Ghanbarzadeh ^{2*}, R Dinarvand ³, J Dehghannya² and M Hosseini⁵

Received: October 25, 2015 Accepted: January 03, 2016

¹MSc Graduated Student, Department of Food Science and Technology, University of Tabriz, Tabriz, Iran

²Professor and Associated Professor, respectively, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

³Professor, Medical Nanotechnology Research Center, Tehran University of Medical, Tehran, Iran

⁴Associated Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

*Corresponding Author: Ghanbarzadeh@Tabrizu.ac.ir

Abstract

In this study, nano-complex production based on two biopolymers, casein and Arabic gum was studied for developing of a carrier system for β -carotene. For this purpose, complex formation was investigated by different techniques. The first the sodium caseinate solutions at the levels of 0.1 and 0.5 (w/v%) and Arabic gum at three levels of concentrations 0.1, 0.5, and 1% (w/v%) were prepared. Then beta-carotene was loaded to the sodium casein solutions and Arabic Gum was added to it at different levels. The electrostatic interaction between biopolymers was induced by the adjustment of the pH.

The complex formation between two biopolymer and β carotene-caseinate was evaluated by Infrared spectroscopy (FT-IR), differential scanning calorimetry (DSC), turbidimetry and rheometry. The FT-IR curves of nano-complexes showed that the spectrum of specific nano-complex containing beta-carotene in a given region of is different from the specific spectrum of every one of the biopolymers and beta-carotene. In the DSC test thermogram pattern of the biopolymeric nano-complex containing beta-carotene differed with the every one of single biopolymers and beta-carotene. This is possibly confirming the β -carotene encapsulation in nano-complexes. The results of turbidity measurement of solutions showed that the increasing of Arabic gum caused to increase in turbidity and maximum turbidity (134 NTU) observed in the caseinate 0.1 - Arabic Gum 1% (w/v). Investigating the rheological properties of nano-particles showed that increasing the concentration of Arabic gum from 0.1 to 1% caused to increase in the viscosity of aqueous nano-complex solutions which attributed to increasing of complex particle numbers.

Keywords: Casein complex – Arabic Gum, β -Carotene, Infrared spectroscopy, Differential Scanning Calorimetry (DSC)