

بررسی رهایش کافئین از کلوئیدوزوم هیدروژل در شرایط شبیه‌سازی شده دهان و آنالیز دستگاهی میکروکپسول

زینب رضایی^۱، محبت محبی^۲، محمدرضا امیریوسفی^{۳*}

۱- دانش‌آموخته دکتری، گروه بهداشت مواد غذایی و آبریزان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۲- استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۳- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی نیشابور، نیشابور، ایران
* نویسنده مسئول (AmiryousefiMR@num.s.ac.ir)

چکیده

در این مطالعه به منظور ریزپوشانی کافئین به عنوان مدل ماده طعمی از کلوئیدوزوم هیدروژل با پوسته میکروذرات کربنات کلسیم استفاده شد. وقتی ذرات کربنات کلسیم در روغن آفتاب‌گردان پراکنده و سپس امولسیون آب در روغن تولید شد، با اضافه کردن گلوکونو دلتا-لاکتون، قطره‌های آب که محتوی آلژینات بودند با لایه خارجی ذرات کربنات کلسیم، به آهستگی درون هیدروژل‌هایی در اندازه چند ۱۰ میکرومتر و بدون انعقاد ژلی شدند. میکروذرات کربنات کلسیم هم اتصال‌دهنده آلژینات و هم پایدارکننده امولسیون آب در روغن هستند. بعد از ۴۸ ساعت سکون، کلوئیدوزوم‌های هیدروژلی حاصل به دلیل نیروی ثقل در کف ظرف جدا شدند. نتایج آزمون طیف‌سنجی مادون قرمز نشان داد که پیک‌های شاخص گروه‌های عاملی کافئین در طیف نمونه کلوئیدوزوم بارگذاری شده ظاهر گردیده و موقعیت آن جابه‌جا شده است. نتایج آزمون حرارتی نشان داد که اختلاف نقطه ذوب بین نمونه‌های کلوئیدوزوم با مقادیر متفاوت میکروذرات کربنات کلسیم در فرمول آنها ارتباط دارد. نتایج آزمون پراش اشعه ایکس نیز مبین تغییر در درجه کریستالی کافئین بود. نمونه کلوئیدوزوم بعد از ۵ ساعت، رهایش کافئین در آب را حداکثر تا ۵۵ درصد ادامه داد. این در حالی است که با اعمال شرایط دهان در همان دما برای این نمونه، میزان رهایش کافئین بارگذاری شده ۳۳ درصد افزایش نشان داد. به‌طور کلی، نتایج آنالیز دستگاهی و آزمون رهایش نشان داد که کافئین درون شبکه هیدروژلی آلژینات به‌خوبی ریزپوشانی شده است و رهایش مناسبی در شرایط شبیه‌سازی شده دهان دارد.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۰۲

تاریخ بازنگری: ۱۳۹۹/۱۱/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۱/۰۵

تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۰/۰۴/۲۹

واژه‌های کلیدی

رهایش
ریزپوشانی
کافئین
کلوئیدوزوم
هیدروژل

مقدمه

از مهم‌ترین روش‌های حفظ اثر مطلوب طعم، پوشش‌دهی ترکیبات طعم‌دهنده است (Madene, Jacquot, Scher, & Desobry, 2006). رهایش کنترل‌شده روشی است که در آن یک یا چند جزء در زمان و مکان مشخص و با سرعت دلخواه در دسترس قرار می‌گیرد. با استفاده از این

طعم‌ها از ارزشمندترین اجزای فرمول‌های غذایی می‌باشند. با توجه به اینکه حتی مقادیر کم آنها گران‌قیمت است و نیز حساس و فرار هستند، حفظ آنها در غذاها یکی از مهم‌ترین نگرانی‌های تولیدکنندگان بشمار می‌رود. یکی

می‌تواند علاوه بر بازدارندگی فضایی، منجر به افزایش دافعه الکترواستاتیک به منظور پایدار کردن قطره در برابر به هم پیوستگی گردد. این نوع از پایدارسازی امولسیون حدود یک قرن پیش برای اولین بار توسط پیکرینگ^۳ بیان شد (Prestidge & Simovic, 2006; Sacanna *et al.*, 2007). بر اساس روش پیکرینگ، ذرات کلوئیدی قادرند امولسیون‌ها را پایدارتر کنند (Rossier-Miranda, 2009). استفاده از امولسیون‌های پیکرینگ برای تهیه کلوئیدوزوم به طور گسترده‌ای از طریق ثابت کردن مجموعه‌های ذرات در یک اتصال بین سطحی با استفاده از روش‌های متفاوت شامل اتصال الکترواستاتیک با پلی‌الکترولیت‌ها (Wang *et al.*, 2010)، پخت^۴ (Dinsmore *et al.*, 2002)، ژلی کردن (Cayre, 2004; Noble, & Paunov, 2004)، اتصال عرضی شیمیایی^۵ (Wang, Hwang, Oh, & Oh, 2005) و پلیمریزاسیون (Zhu, Tsarkova, Pich, & Möller, 2011) مورد بررسی قرار گرفته است.

در این روش هسته‌ها مانند قالب‌هایی^۶ برای تجمع خودکار^۷ ذرات کلوئیدی عمل می‌کنند. در حین این تجمع، ذرات کلوئیدی با توجه به برهم‌کنش‌هایی که از روی شکل، بار الکتریکی، جرم و ویژگی‌های سطحی آنها مشخص می‌شود، خود را در یک ساختار پایدار و منظم سازمان‌دهی می‌کنند. کپسول‌هایی که از این طریق تهیه می‌گردند، کلوئیدوزوم نامیده می‌شوند (Zhao, 2013).

رهایش طعم شاخه‌ای از علم مواد غذایی است که به مطالعه مکانیسم‌های مؤثر بر آزادسازی ترکیبات آروماتی یا رهایش طعم از غذا طی شرایط مشخص، بخصوص رهایش در دهان در هنگام خوردن مربوط می‌شود. ترکیبات طعم‌دهنده به منظور جلوگیری از آفت یا تغییر شیمیایی حین فرایند و نگهداری مواد غذایی، اغلب به شکل ریزپوشانی‌شده اضافه می‌شوند (شهیدی‌نوقابی و ملاویسی، ۱۳۹۹؛ محبی، وریدی، نوشاد و خلیلیان‌موحد، ۱۳۹۸). با اینکه بسیاری از این ترکیبات ریزپوشانی‌شده کارایی بالایی دارند، ضروری است که مولکول‌های طعم زمانی رهایش یابند که ماده غذایی مصرف می‌گردد.

تکنولوژی به‌کاربردن بعضی افزودنی‌های حساس به دما و pH از جمله ترکیبات طعم‌دهنده در سیستم‌های غذایی امکان‌پذیر شده است. ضمن اینکه این افزودنی‌ها در سرعت‌های کنترل‌شده و طی زمان‌های بیشتری آزاد می‌شوند (Pothakamury & Barbosa-Cánovas, 1995).

کلوئیدوزوم‌ها میکروکپسول‌هایی هستند که یک هسته پلیمری هیدروژل یا توخالی دارند، ذرات کلوئیدی پوسته کلوئیدوزوم را تشکیل می‌دهند و اندازه آنها می‌تواند از نانومتر تا میکرون متغیر باشد. ذرات کلوئیدی از طریق نیروهایی مانند برهم‌کنش‌های الکترواستاتیک یا بین‌مولکولی به سطح هسته می‌چسبند (Rachel Tessa, 2010). ویژگی‌های فیزیکی کلوئیدوزوم‌ها مانند نفوذپذیری، مقاومت مکانیکی و زیست‌سازگاری^۱ با انتخاب مناسب کلوئیدها و شرایط آماده‌سازی برای تجمع آنها دقیقاً قابل کنترل است. به دلیل امکان دقت بالای کنترل ویژگی‌های فیزیکی، کلوئیدوزوم‌ها ساختارهای خوبی برای ریزپوشانی و رهایش کنترل‌شده مواد از عطر^۲ و اجزای فعال گرفته تا مولکول‌های تولیدشده توسط سلول‌های زنده، می‌باشند (Lee & Weitz, 2008).

از مزایای استفاده از کلوئیدوزوم می‌توان به پایداری مکانیکی پوسته کلوئیدی، کنترل اندازه حفره‌های پوسته و توانایی رهایش در پاسخ به میدان‌های بیرونی یا تغییرات در شرایط محیطی اشاره کرد (Rachel Tessa, 2010).

به طور معمول یک امولسیون حداقل شامل دو مایع امتزاج‌ناپذیر است که یکی از آنها به صورت قطره‌های کروی کوچک در دیگری پراکنده شده است (McClements, 2007; Decker, & Weiss, 2007). با این حال، این ترکیب پایدار نیست. سطح زیادی از اتصال بین دو فاز باید ایجاد و نگه‌داشته شود. چنین بی‌ثباتی با به هم پیوستن قطره‌های روغن باعث به حداقل رسیدن مساحت سطحی سیستم و در نهایت جدایی کامل دو فاز مایع تشکیل‌دهنده خواهد شد (Sacanna, Kegel, & Philipse, 2007). یک روش شناخته‌شده برای به تأخیر انداختن دو فاز شدن امولسیون، افزودن ذرات جامدی است که به شدت به سطح اتصال روغن و آب جذب شوند و یک لایه متراکم در آنجا تشکیل دهند. اگر این ذرات باردار باشند، لایه ذرات دور قطره‌ها

³ Pickering

⁴ Sintering

⁵ Chemical cross-linking

⁶ Templates

⁷ Self-assembly

¹ Biocompatibility

² Fragrance

مواد و روش‌ها

تهیه میکروذرات متخلخل کربنات کلسیم

در این پژوهش برای تولید میکروذرات متخلخل کربنات کلسیم از روش Wang و همکاران (۲۰۰۶) استفاده شد. ذرات متخلخل کربنات کلسیم از طریق به هم زدن سریع حجم یکسان محلول‌های آبی CaCl_2 و Na_2CO_3 آماده‌سازی شد. در ابتدا محلول ۰/۲ M از CaCl_2 با حجم برابر و در دمای اتاق درون محلول ۰/۲ M از Na_2CO_3 (محتوی ۴ گرم بر لیتر سدیم پلی‌استایرن سولفونات^۳ که پلیمری با بار منفی است) ریخته شد. بعد از حدود ۱۰ دقیقه به هم زدن با یک همزن مغناطیسی با سرعت ۵۰۰ دور بر دقیقه، ماده رسوب کرده هم‌زمان با شست‌وشو با آب دیونیزه، از طریق سیستم میلی‌پور تحت خلأ^۴ با فیلتر پلی‌آمیدی به قطر ۰/۲۲ میکرون جدا شده، سپس در داخل آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک گردید. این روند تولید ساده باعث تولید ذرات بسیار یکنواخت، کروی و متخلخل کربنات کلسیم شد. قبل از بارگذاری، ذرات کربنات کلسیم با استون شسته‌شده، در یک آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند.

سدیم پلی‌استایرن سولفونات در تهیه میکروذرات کربنات کلسیم نقش بسیار مهمی دارد. بدون اضافه کردن آن، این ذرات علاوه بر توده‌ای شدن، به لحاظ اندازه توزیع یکسانی ندارند. درحالی‌که میکروذراتی که با سدیم پلی‌استایرن سولفونات تهیه می‌شوند، طی ۶ ماه نگهداری در آب تغییر مشهودی در شکل آنها ایجاد نمی‌شود. ذرات سدیم پلی‌استایرن سولفونات که دارای بار منفی هستند روی سطح ذرات کربنات، میکروذرات متخلخل کربنات کلسیم را تشکیل می‌دهند و از تبلور مجدد^۵ آنها جلوگیری می‌کنند (Wang *et al.*, 2006).

ساخت کلونیدوزوم هیدروژل

به منظور بهینه‌سازی تولید کلونیدوزوم و انتخاب بهترین نسبت ترکیبات سازنده و همچنین مدل‌سازی رهایش کافتین از پارامترهای جدول (۱) در تهیه امولسیون آب در روغن استفاده شد.

درغیراین‌صورت ماده طعم‌دهنده با اینکه در شرایط خوبی قرار دارد، احساس نمی‌شود (Roberts, Pollien, & Milo, 2000).

رهایش مواد فعال از میکروکپسول با روش‌های مختلفی شامل نفوذ، تنش مکانیکی، ذوب‌شدن، حل‌شدن^۱، حل‌شدن^۱، آپیوشی^۲، حمله آنزیم، واکنش شیمیایی، هیدرولیز و تجزیه قابل انجام است. در صنایع غذایی رایج‌ترین روش برای انجام رهایش کنترل‌شده آپیوشی است. بیشترین چالش ریزپوشانی در صنایع غذایی محافظت از عوامل فعال حین فرایند و ذخیره‌سازی (اکسیدشدن، نشت و آفت از طریق تبخیر) و کنترل کردن سرعت رهایش برای رسیدن به اثر بهینه است (Zuidam, 2010).

هیدروژل یک مخلوط آب‌دوست است که هم ویژگی‌های جامدات و هم مایعات را داراست. شبکه‌های پلیمری هیدروژل‌ها مقادیر زیادی آب جذب می‌کنند، درحالی‌که به‌خاطر وجود پیوندهای فیزیکی یا شیمیایی در زنجیره‌های پلیمری منحصربه‌فرد خود در محلول‌های آبی حل نمی‌شوند. امروزه هیدروژل‌ها نقش کلیدی در بیوسنسورها و بخصوص حامل‌های مواد دارویی دارند (Litzberger, 2010; Zarzycki, Modrzejewska, & Nawrotek, 2010). مکانیسم اصلی رهایش عوامل فعال از هیدروژل‌ها پدیده نفوذ است که با فاکتورهایی نظیر تراکم اتصالات عرضی و ترکیب پلیمر کنترل می‌شود. با توجه به اینکه هیدروژل‌ها می‌توانند در پاسخ به شرایط محیطی مانند دما و pH متورم یا تخریب شوند، به آنها مواد هوشمند می‌گویند. مهم‌ترین آنها آلژینات است که از طریق اتصالات عرضی و در حضور کاتیون‌های دو ظرفیتی مانند یون کلسیم شبکه ژل به وجود می‌آورد (Rachel Tessa Rosenberg, 2010; Tønnesen & Karlsen, 2002).

هدف از این مطالعه ارائه یک روش ساده، سریع و درعین‌حال غیرمخرب برای ریزپوشانی کافتین، بررسی رهایش کافتین از کلونیدوزوم در شرایطی مشابه دهان انسان و در نهایت بررسی امکان ریزپوشانی کافتین در کلونیدوزوم هیدروژل از طریق آنالیز دستگاهی میکروکپسول می‌باشد.

³ Sodium polystyrene sulfonate

⁴ Millipore glass vacuum filtration system

⁵ Recrystallization

¹ Dissolution

² Hydration

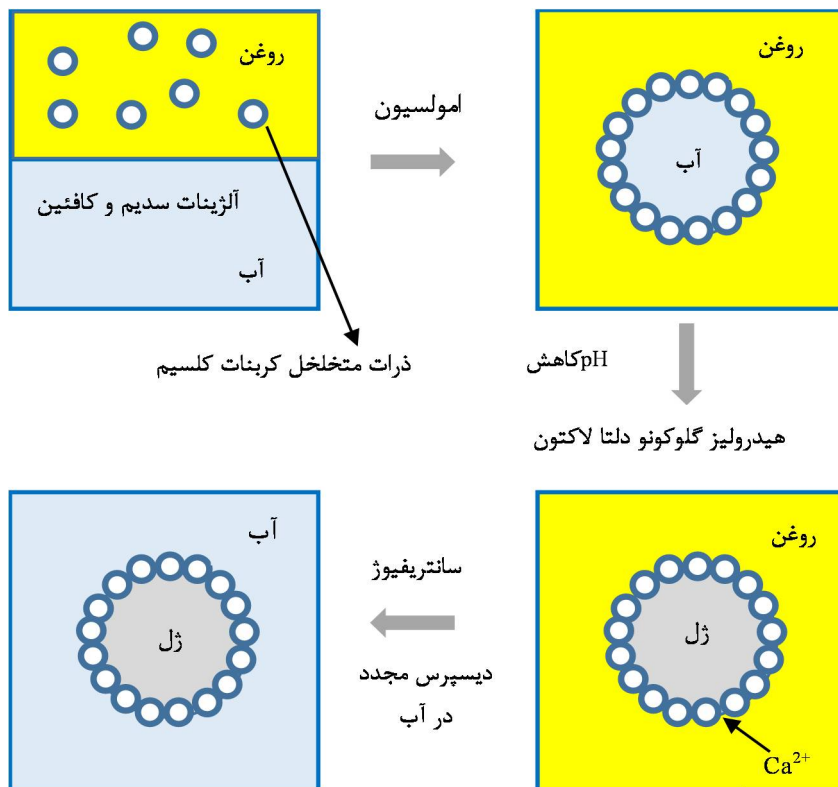
جدول ۱- پارامترهای تهیه امولسیون آب در روغن

شماره نمونه	۱	۲
نسبت حجمی آب*	۰/۲	۰/۳
حجم محلول آبی آلزینات سدیم (میلی لیتر)	۱/۳	۲/۱
وزن میکروذرات کربنات کلسیم (گرم)	۰/۰۵	۰/۰۸
نسبت وزن میکروذرات کربنات کلسیم به حجم محلول آبی (گرم بر میلی لیتر)	۰/۰۴	۰/۰۴

* برابر نسبت حجم محلول آبی آلزینات سدیم به حجم کلی امولسیون (مجموع حجم محلول آلزینات سدیم و ۵ میلی لیتر روغن)

داده شد و به مدت ۴۸ ساعت بدون حرکت در شرایط آزمایشگاه قرار گرفت. بعد از بی حرکت ماندن، کلونیدوزومها به دلیل نیروی ثقل در ته ظرف جمع می شوند. بعد از جمع آوری آنها با سانتریفیوژ (Hettich Zentrifugen, 12 D-78532 Tuttingen, ساخت آلمان) به مدت ۵ دقیقه و با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه و در ادامه ۳ بار شست و شو با اتانول، کلونیدوزومهای به دست آمده مجدد توسط دستگاه شیکر لوله در آب پراکنده شدند. به این نوع از کلونیدوزوم، کلونیدوزوم هیدروژل یا هسته ژلی می گویند. شماتیک فرایند تهیه آن در شکل (۱) آورده شده است.

در ابتدا میکروذرات متخلخل کربنات کلسیم در ۵ میلی لیتر روغن آفتاب گردان توسط همزن مغناطیسی با سرعت ۲۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱ ساعت هم زده شد تا پراکندگی^۱ یکنواختی به دست آید. مقدار حجم مشخص شده در جدول (۱) از محلول آبی ۱ درصد وزنی آلزینات سدیم به روغن اضافه شد و با هم زدن آنها با همان سرعت به مدت ۵ دقیقه، امولسیون آب در روغن تهیه شد. سپس ۱۵۰ میکرو لیتر از محلول آبی ۰/۲ گرم بر میلی لیتر اسید د-گلوکونیک دلتا-لاکتون^۲ که به تازگی تهیه شده بود، به منظور ژلی کردن هسته آلزینات اضافه گردید. امولسیونهای حاصل به مدت ۲ ساعت توسط شیکر تکان



شکل ۱- شماتیک فرایند تهیه کلونیدوزوم هیدروژل براساس تجمع ذرات کربنات کلسیم در حد فاصل قطره های آب (حاوی آلزینات سدیم) و روغن

¹ Dispersion

² D-gluconic acid δ -lactone

بارگذاری کافئین

در این پژوهش به‌منظور بررسی امکان ریزپوشانی و رهایش طعم، از کافئین به‌عنوان مدل استفاده شد؛ زیرا علاوه بر در دسترس بودن و کاربرد فراوان در صنایع غذایی، در آب حل می‌شود (حدود ۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در دمای اتاق). در شرایط آزمایشگاهی و نیز در حلال‌های آلی مانند اتانول به مدت چند سال پایدار است (Moffatt, 1986) و نیز اندازه‌گیری آن در محیط آبی به سهولت با روش اسپکتروفتومتری انجام می‌شود.

کافئین علی‌رغم محبوبیت زیاد، یک ماده بسیار تلخ است و پس‌طعم نامطلوبی دارد. لذا ریزپوشانی کافئین این تلخی طعم را نیز پوشش داده و موجب احساس خوشایند در مصرف‌کننده می‌شود. در تحقیق‌های گذشته کافئین به‌عنوان یک ماده طعم‌دهنده و دارویی پرکاربرد طی روش‌های مختلف ریزپوشانی شده است (Chorilli, Calixto, Rimério, & Scarpa, 2013; Cunha *et al.*, 2013; Liédana, Marín, Téllez, & Coronas, 2013; Madadlou, Jaberipour, & Eskandari, 2014; Matoušková, Patočková, Doskočil, & Márová, 2012; Pasetta, Potier, Abbott, & Coronas, 2015; Rosenberg & Dan, 2011).

کلئیدوزوم هیدروژلی که کافئین در آنها بارگذاری شده باشد به همان روش اشاره شده ساخته شد؛ با این تفاوت که به محلول آبی آلژینات سدیم ۰/۳ گرم بر لیتر کافئین، معادل ۱/۵۴ میلی‌مولار اضافه شده بود. این غلظت با توجه به نتایج آزمایش‌های اولیه و غلظت عامل فعال در منابع مشابه انتخاب شد. Thompson و همکاران (۲۰۱۰) از ۰/۵ گرم بر لیتر فلورسین^۱ (با وزن مولکولی ۳۳۲/۳۱ گرم بر مول) یعنی ۱/۵۰ میلی‌مولار آن به‌منظور بارگذاری در کلئیدوزوم استفاده کردند. Wang, Liu, Gao, و Tong (۲۰۰۸) نیز برای ریزپوشانی برلیانت بلو^۲ به‌عنوان مدل دارو (با وزن مولکولی ۷۹۲/۸۵ گرم بر مول) در کلئیدوزوم، غلظت ۱ گرم بر لیتر، معادل ۱/۲۶ میلی‌مولار را به‌کار بردند و رفتار رهایش آن را بررسی کردند (Liu *et al.*, 2008).

به‌منظور بررسی اثر میکروذرات کربنات کلسیم در تهیه کلئیدوزوم هیدروژل و نقش آن در رهایش کافئین، نمونه بدون کربنات کلسیم یا گره‌های آلژینات سدیم با کافئین بارگذاری شده نیز به‌عنوان شاهد تهیه شد. مراحل

تولید نمونه شاهد مانند مراحل تهیه کلئیدوزوم هیدروژل است با این تفاوت که از میکروذرات متخلخل کربنات کلسیم استفاده نمی‌شود.

کارایی ریزپوشانی

با استفاده از محتوای واقعی کافئین و محتوای تئوری آن، مقدار بارگذاری کافئین یا کارایی ریزپوشانی^۳ (EE) در کلئیدوزوم هیدروژل با استفاده از رابطه (۱) محاسبه شد. رابطه (۱)

$$\text{کارایی ریزپوشانی (درصد)} = \frac{P}{T} \times 100$$

در رابطه (۱)، P متوسط مقدار کافئینی است که در عمل درون نمونه‌های کلئیدوزوم بارگذاری شده و T مقدار تئوری آن می‌باشد که به‌طور یکسان به تمام محلول‌های آبی آلژینات سدیم اضافه شده است (۰/۳ گرم بر لیتر). برای اندازه‌گیری P ، در ابتدا کلئیدوزوم‌های بارگذاری شده که در آب پراکنده شده‌اند، با استفاده از اسید هیدروکلریک و فراصوت به مدت ۳ دقیقه تیمار شدند تا تمامی کافئین بارگذاری شده در کلئیدوزوم وارد محلول شود. پس از قرارگرفتن در سانتریفیوژ با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه، ۱ میلی‌لیتر از محلولی که در بالای ظرف قرار گرفته بود از فیلتر پلی‌آمیدی عبور داده شد و به کمک رقیق‌سازی آن با آب دیونیزه، مقدار کافئین به روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۲۷۱ نانومتر اندازه‌گیری گردید (Zuidam, 2010).

طیف‌سنجی مادون‌قرمز

طیف مادون‌قرمز نمونه‌های کافئین، کلئیدوزوم و اجزای تشکیل‌دهنده آن در بازه ۴۰۰-۴۰۰۰ (۱/سانتی‌متر) با استفاده از دستگاه طیف‌سنج پیرکین المر (Perkin Elmer Spectrum 65 FT-IR Spectrometer، ساخت آمریکا) اندازه‌گیری شد. در این مطالعه از روش قرص برمید پتاسیم^۴ استفاده شد، طوری که هر قرص برمید پتاسیم حداکثر ۲ درصد محتوی نمونه موردنظر باشد (William, 1996).

³ Encapsulation efficiency

⁴ KBr pellet technique

¹ Fluorescein

² Brilliant blue

بررسی ویژگی‌های حرارتی

برای بررسی ویژگی‌های حرارتی، کلیه مواد اولیه و کلئیدوزوم‌های تولیدشده تحت آزمون حرارتی قرار گرفتند. هر بار ۵ میلی‌گرم از نمونه روی صفحه آلومینیومی قرار داده شد و آزمون کالری‌متری روبشی افتراقی در بازه دمایی صفر تا ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد و با درجه تغییر دمایی ۱۰ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه و در حضور گاز نیتروژن بررسی شد (Mettler DSC instrument، ساخت انگلستان). منحنی‌های به‌دست‌آمده براساس دمای ذوب و ویژگی‌های کیفی آنها مورد ارزیابی قرار گرفتند.

آزمون پراش اشعه ایکس

به‌منظور آنالیز کیفی نمونه‌های کلئیدوزوم ساخته‌شده از آزمون پراش اشعه ایکس^۱ با یک دستگاه پراش‌سنج اشعه ایکس (d/G. Via M. Misone, 38066 Riva, XRD، 11/D (TN)، ساخت ایتالیا) در زاویه θ بین ۵ تا ۹۰ درجه استفاده شد. برای انجام این آزمون نمونه‌ها توسط آسیاب دستی با اندازه ذرات زیر ۴۵ میکرون آماده‌سازی شد و پودر آماده‌شده در یک ظرف مناسب قرار گرفت.

رهایش

برای بررسی امکان رهایش کافئین ریزپوشانی‌شده در کلئیدوزوم، با اعمال درجه برشی در حدود درجه برش دهان برای نوشیدنی که معمولاً حدود ۵۵ (۱/ثانیه) در نظر گرفته می‌شود (Karaman & Kayacier, 2009)، میزان کافئین آزادشده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و pH خنثی اندازه‌گیری شد. روش عمده برای تعیین رهایش ترکیبات فعال، اندازه‌گیری رهایش آنها از میکروکپسول‌های پراکنده‌شده در یک محیط مایع می‌باشد. برای اطمینان از مخلوط‌شدن کامل، آنها را به آرامی متلاطم می‌کنند و برای تعیین کینتیک رهایش و ضریب نفوذ، غلظت ماده حل‌شده در فاز مایع اندازه‌گیری می‌شود (Zuidam, 2010).

طیف‌سنجی فرابنفش^۲

به‌منظور تعیین میزان رهایش کافئین، میکروکپسول‌های تهیه‌شده در شرایط شبیه‌سازی‌شده دهان (دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، pH خنثی و سرعت برشی در محدوده سرعت برشی ایجادشده در دهان) قرار گرفتند. به جهت بررسی رهایش کافئین در شرایط شبیه‌سازی‌شده دهان، اندازه‌گیری میزان رهایش در سه سرعت برشی صفر، ۵۰ و ۱۰۰ (۱/ثانیه) و طی ۳۰۰ دقیقه با حداقل ۲ تکرار صورت گرفت. برای اعمال نیروی برشی و دما از همزن مغناطیسی با صفحه تنظیم حرارت استفاده شد. به‌این‌صورت که ظرف حاوی نمونه پراکنده کلئیدوزوم در آب، داخل یک حمام آبی با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد که از قبل به تعادل دمایی رسیده بود، قرار گرفت. ضمن اینکه تنظیم pH با استفاده از هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال و اسید هیدروکلریک ۰/۱ نرمال صورت پذیرفت. برای محاسبه سرعت برشی از معادله استف^۳ استفاده شد (رابطه ۲)، (Steffe, 1996):

رابطه (۲)

$$y = 2N \left[\frac{\left(\frac{D}{d}\right)^{\frac{(2-n)}{n}}}{\left(\frac{D}{d}\right)^{2n} - 1} \right] \left(\frac{d}{h}\right)^{\frac{n}{2}}$$

در رابطه (۲)، N سرعت همزدن (۱ بر ثانیه)، D قطر ظرف (میلی‌متر)، d قطر مگنت (میلی‌متر)، h ضخامت مگنت (میلی‌متر) و n شاخص رفتار جریان محلول موردنظر می‌باشد. به‌این‌ترتیب سرعت همزن مغناطیسی برای اعمال درجه برش‌های موردنظر به‌دست می‌آید.

در ابتدا ۵۰ میلی‌لیتر از محلول کلئیدوزوم حاوی کافئین در سرعت‌های برشی مختلف و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس با استفاده از پیپت ۱ میلی‌لیتر از قسمت بالایی محلول نمونه در فاصله زمانی مشخص برداشت و پس از فیلترکردن با فیلتر پلی‌آمیدی به قطر ۰/۲۲ میکرون و سپس رقیق‌نمودن با آب دیونیزه، جذب آن در طول موج ۲۷۱ نانومتر اندازه‌گیری شد. این مقدار حذف‌شده از نمونه با ۱ میلی‌لیتر آب دیونیزه جایگزین گردید و از طریق محاسبه تعداد مول‌های حذف‌شده مقدار کافئین حذف‌شده در هر مرحله

^۲ Ultraviolet spectroscopy

^۳ Steffe equation

^۱ X-ray diffraction (XRD)

کافئین در عدد موجی ۳۱۱۸ (۱/سانتی‌متر)، پیک مربوط به C-H آلیفاتیکی آن در عدد موجی ۲۹۶۴ (۱/سانتی‌متر) و همچنین پیک‌های مربوط به C=O به کربونیل کافئین در ۱۶۶۱ و ۱۷۰۴ (۱/سانتی‌متر)، و پیک‌های مربوط به C-N در ۱۴۸۸ و ۱۵۵۳ (۱/سانتی‌متر) وجود دارند.

شکل (۴) نتیجه طیف‌سنجی مادون‌قرمز مربوط به نمونه کلئیدوزوم شماره ۱ بدون بارگذاری کافئین در آن است. باتوجه به **شکل (۲)** و طیف‌های مادون‌قرمز مربوط به کلرید کلسیم، کربنات سدیم و سدیم پلی‌استایرن سولفونات که با ترکیب آنها میکروذرات کربنات کلسیم تهیه شد و نیز طیف مادون‌قرمز آلژینات سدیم که شکل آنها آورده نشده است، می‌توان نتیجه گرفت پیک‌های موجود در عدد موجی ۳۳۴۳ و ۳۳۸۴ (۱/سانتی‌متر) نمونه کلئیدوزوم مربوط به O-H آلژینات سدیم، پیک‌های موجود در عدد موجی ۱۴۳۴ و ۱۴۵۶ (۱/سانتی‌متر) مربوط به C=C های سدیم پلی‌استایرن سولفونات، پیک موجود در عدد موجی ۱۱۷۰ (۱/سانتی‌متر) مربوط به C-O-C اتري آلژینات سدیم و پیک‌های موجود در عدد موجی ۷۱۳ و ۸۸۰ (۱/سانتی‌متر) آن مربوط به CO₃ کربناتی میکروذرات کربنات کلسیم است.

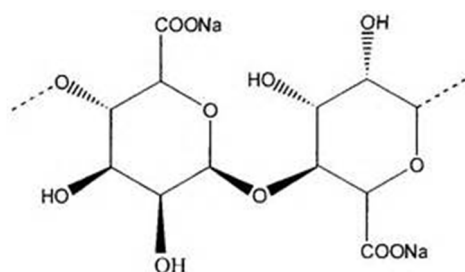
اندازه‌گیری شدت جذب به دست آمد و برای محاسبه غلظت لحاظ شد. Dan و Rosenberg, Rachel (۲۰۱۰) محاسبه‌های مشابهی برای بررسی رهائش برخی مواد دارویی از کلئیدوزوم انجام دادند. لازم به ذکر است که رابطه بین جذب نور و غلظت کافئین در محدوده مورد بررسی خطی بود.

نتایج و بحث

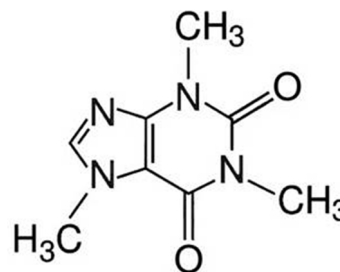
طیف‌سنجی مادون‌قرمز

به منظور بررسی طیف‌سنجی مادون‌قرمز در ابتدا ضروری است که ساختار اجزای تشکیل دهنده و موقعیت گروه‌های عاملی را مورد مطالعه قرار دهیم. **شکل (۲)** ساختار کافئین و اجزای اصلی تشکیل دهنده کلئیدوزوم را نمایش می‌دهد. نتایج طیف‌سنجی مادون‌قرمز مربوط به کافئین خالص مورد استفاده در این پژوهش، نمونه شماره ۱ کلئیدوزوم و همان نمونه کلئیدوزوم که کافئین در آن بارگذاری شده، به ترتیب در **شکل‌های (۳)** تا **(۵)** آمده است.

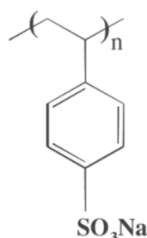
در طیف مادون‌قرمز کافئین شاهد پیک‌های تیزی مشاهده می‌شود که پیک مربوط به پیوندهای هیدروژنی



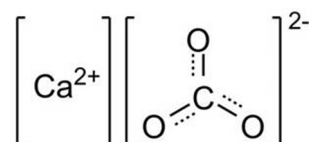
آلژینات سدیم



کافئین



سدیم پلی‌استایرن سولفونات

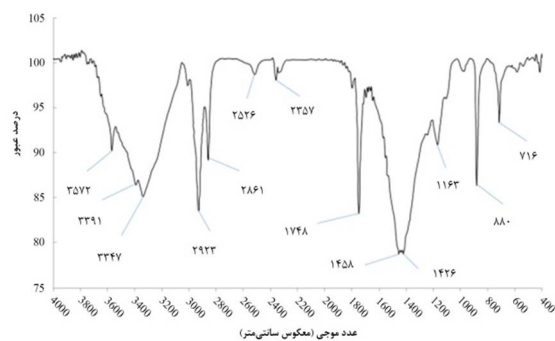


کربنات کلسیم

شکل ۲- ساختار اجزای تشکیل دهنده کلئیدوزوم هیدروژل و کافئین

به‌همین ترتیب پیک موجود در عدد موجی ۱۷۴۸ (۱/سانتی‌متر) با جابه‌جایی صورت‌گرفته در مکان آن مربوط به گروه کربونیل کافئین است. پیک‌های مربوط به C-N کافئین که در ۱۴۸۸ و ۱۵۵۳ (۱/سانتی‌متر) طیف آن قرار داشتند می‌توانند با جابه‌جایی صورت‌گرفته به عدد موجی ۱۴۲۶ و ۱۴۵۸ (۱/سانتی‌متر) طیف نمونه کلوئیدوزوم مربوط باشند.

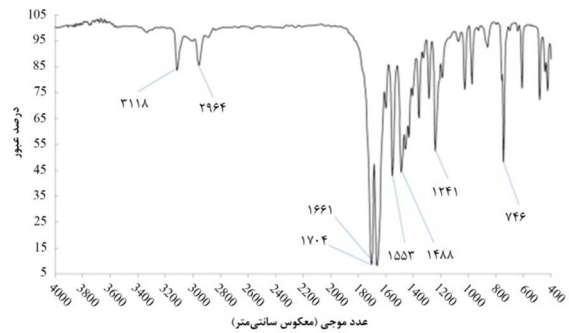
در شکل (۵)، مشاهده می‌شود که این طیف مخلوطی از پیک‌های تیز کافئین و قله‌مانند نمونه کلوئیدوزوم تنها می‌باشد. ضمن اینکه مشاهده شد پیک‌های شاخص گروه‌های عاملی کافئین در طیف نمونه کلوئیدوزوم بارگذاری‌شده متحمل جابه‌جایی شده است. تمام این اتفاق‌ها مبین یک تغییر و برهم‌کنش شیمیایی بین کافئین و نمونه کلوئیدوزوم می‌باشد. لذا می‌توان نتیجه گرفت که کافئین در کلوئیدوزوم هیدروژل به‌خوبی ریزپوشانی شده است.



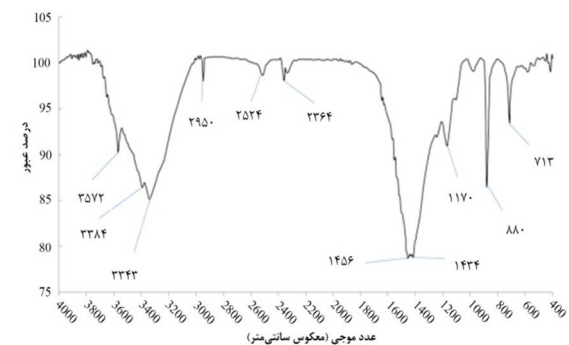
شکل ۵- طیف مادون‌قرمز کلوئیدوزوم نمونه ۱ با کافئین بارگذاری‌شده

آنالیز کالری‌متری روبشی افتراقی

نمودارهای کالری‌متری روبشی افتراقی مربوط به آلزینات سدیم، کافئین و نمونه‌های شماره ۱ و ۲ کلوئیدوزوم در شکل (۶) آورده شده است.



شکل ۳- طیف مادون‌قرمز کافئین

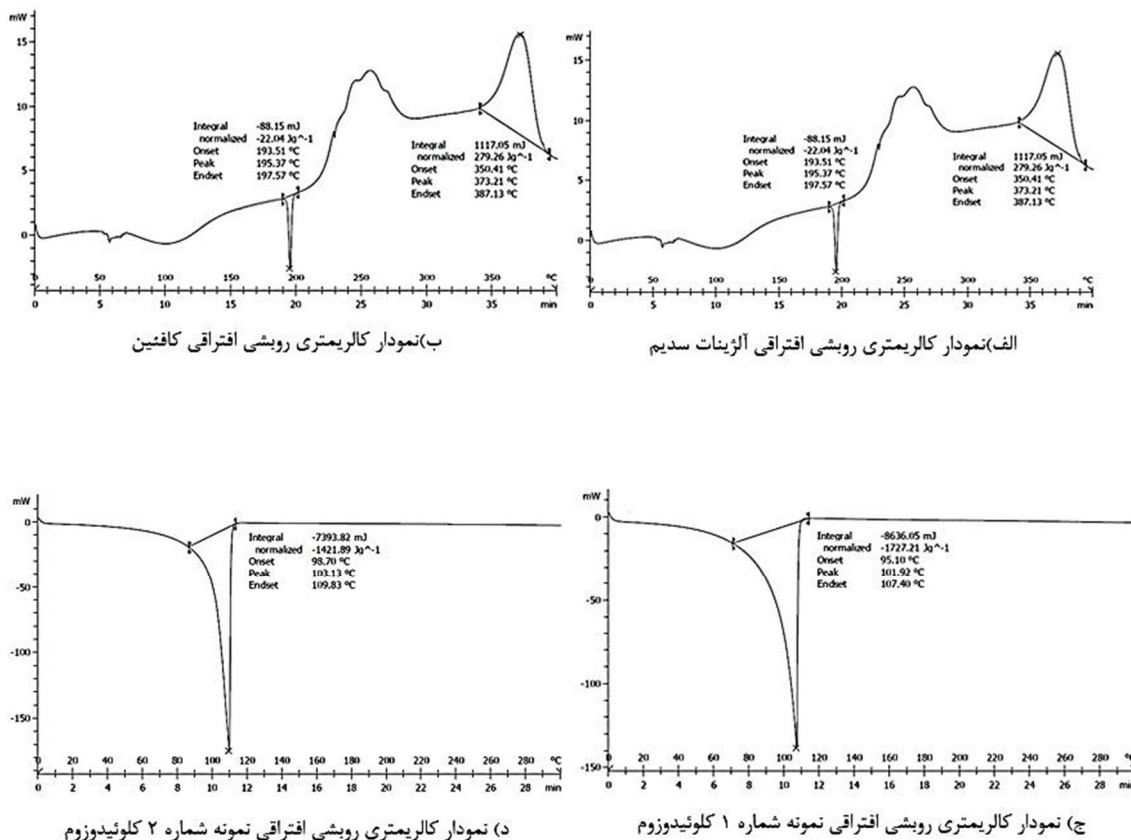


شکل ۴- طیف مادون‌قرمز کلوئیدوزوم نمونه ۱

جابه‌جاشدن پیک‌های مورد اشاره در نمونه کلوئیدوزوم نسبت به نمونه‌های خالص را می‌توان به برهم‌کنش بین اجزا نسبت داد که می‌تواند بیانگر یک تغییر شیمیایی و در نتیجه تولید میکروکپسول باشد. با توجه به اینکه کلوئیدوزوم یک ماکرومولکول با جرم مولکولی بالا و گروه‌های عاملی متعدد می‌باشد، طیف مادون‌قرمز آن قادر نیست سیگنال‌ها را به‌صورت پیک‌های تیز نشان دهد، برخلاف کافئین تنها که مولکول کوچک با جرم مولکولی کم دارد و پیک‌های آن تیز هستند. لازم به ذکر است که طیف مادون‌قرمز نمونه کلوئیدوزوم شماره ۲ نیز تا حدود زیادی مشابه طیف مادون‌قرمز نمونه شماره ۱ بود.

در شکل (۵) طیف مادون‌قرمز همان نمونه کلوئیدوزوم شماره ۱ که کافئین در آن بارگذاری‌شده به نمایش درآمده است. در شکل (۵) در عدد موجی ۲۹۲۳ (۱/سانتی‌متر)، گروه عاملی C-H آلیفاتیک^۱ وجود دارد که با مقایسه شکل‌های (۳) و (۴) می‌توان نتیجه گرفت مربوط به کافئین بارگذاری‌شده می‌باشد که از ۲۹۶۴ (۱/سانتی‌متر) جابه‌جا شده است.

^۱ Aliphatic



شکل ۶- نمودارهای کالریمتری روبشی افتراقی مربوط به آلزینات سدیم، کافتین و نمونه‌های شماره ۱ و ۲ کلئیدوزوم

در شکل (۶-ب) مشاهده می‌شود نمودار کالریمتری روبشی افتراقی مربوط به کافتین با یک پیک اصلی که در ۲۴۲/۱۹ درجه سانتی‌گراد قرار دارد، مشخص می‌شود که میان T_m می‌باشد. در ادامه کافتین از دمای ۳۱۳/۸۹ درجه سانتی‌گراد شروع به تخریب می‌کند. لازم به توضیح است که میکروذرات کربنات کلسیم تولیدشده در محدوده صفر تا ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد پیکی نداشت، چراکه دمای ذوب کربنات کلسیم خالص در حدود ۸۲۵ درجه سانتی‌گراد است. در نمودار کالریمتری روبشی افتراقی نمونه‌های شماره ۱ و ۲ کلئیدوزوم (شکل ۶-ج و ۶-د)، مقادیر T_m به ترتیب ۱۰۱/۹۲ و ۱۰۳/۱۳ درجه سانتی‌گراد به دست آمده است. باتوجه به اینکه در ضمن تهیه نمونه‌های کلئیدوزوم، آلزینات سدیم با یون‌های کلسیم موجود ساختار جعبه تخم‌مرغی^۴ تشکیل می‌دهد، همان‌طور که در این شکل (۶-ج و ۶-د) مشاهده می‌شود، مشخصه تجزیه آلزینات سدیم به دست نیامده است (Córdoba, Deladino, & Martino, 2013). باتوجه به اینکه پیک مربوط به T_m در

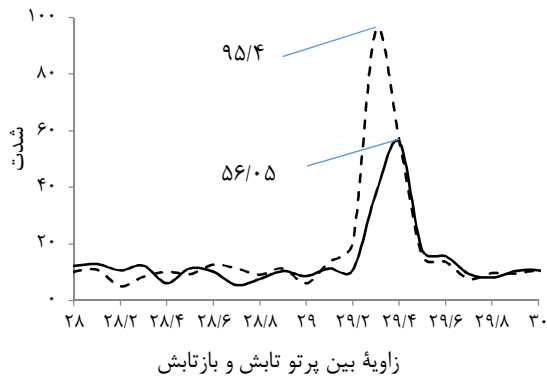
درمورد آلزینات سدیم همان‌طور که در شکل (۶-الف) مشاهده می‌شود یک پیک گرماگیر^۱ در حدود ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد، نقطه ذوب (T_m) آن در ۱۹۵/۳۷ درجه سانتی‌گراد ظاهر شده و سپس تجزیه^۲ بیوپلیمر با یک پیک گرماده^۳ نزدیک ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد رخ می‌دهد. پیک‌های مشابهی توسط (Ferreira, Sarmento, Veiga و Ribeiro (۲۰۰۶) و (Deladino, Anbinder, Navarro, Amalvy و Martino (۲۰۱۱) به ترتیب در دماهای ۲۴۰ و ۲۴۷ درجه سانتی‌گراد به دست آمده است. (Anbinder et al., 2011; Sarmento et al., 2006). در نهایت تخریب آلزینات سدیم از ۳۵۰/۴۱ درجه سانتی‌گراد آغاز می‌شود و تا ۳۸۷/۱۳ درجه سانتی‌گراد ادامه می‌یابد. چون در این نمودار کالریمتری پیک دمای کریستالیزاسیون (T_c) وجود ندارد، می‌توان نتیجه گرفت آلزینات سدیم ساختار کریستالی نداشته و به شکل آمورف است.

¹ Endothermic peak

² Decomposition

³ Exothermic peak

⁴ Egg box



شکل ۷- نمودار پراش اشعه ایکس نمونه‌های کلئیدوزوم شماره ۱ (خط پر) و ۲ (خط چین)

باتوجه به اینکه کافتین ساختار کریستالی دارد، ولی طبیعت کریستالی آن در داخل کلئیدوزوم هیدروژل پنهان شده است، چرا که الگوی طیف پراش اشعه ایکس نمونه‌های کلئیدوزوم که کافتین در آنها بارگذاری شده است، به صورت آمورف است. می‌توان نتیجه گرفت که مولکول‌های کریستالی کافتین به خوبی درون شبکه‌های هیدروژلی آلژینات به دام افتاده است، چون در طیف پراش اشعه ایکس نمونه‌های کلئیدوزوم پیک‌های تیز کافتین مشاهده نمی‌شود و ممکن است به خاطر تغییر در درجه کریستالی آن باشد که بعد از پراکنده شدن در شبکه هیدروژل رخ می‌دهد.

رهایش کافتین

نتایج آزمایش‌ها نشان داد که بیشترین جذب محلول‌های کافتین در آب دیونیزه در طول موج ۲۷۱ نانومتر می‌باشد. بنابراین برای تهیه نمودار کالیبراسیون کافتین در آب دیونیزه، مقادیر جذب محلول‌های استاندارد تهیه شده در این طول موج در برابر غلظت آنها برحسب گرم بر لیتر رسم شد. نمودار نسبت رهایش کافتین برای نمونه شماره ۱ کلئیدوزوم و نمونه فاقد کربنات کلسیم به عنوان نمونه شاهد در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و pH خنثی در شکل (۸) نمایش داده شده است.

نمودارهای کالری متری روبشی افتراقی نمونه‌های کلئیدوزوم مورد اشاره به مقادیر حدود ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد جابه‌جا شده است (در مقایسه با آلژینات سدیم، کافتین و کربنات کلسیم)، این جابه‌جایی می‌تواند بیانگر ایجاد برهم‌کنش شیمیایی بین اجزای تشکیل‌دهنده و در نتیجه تولید کلئیدوزوم باشد. لازم به ذکر است که در مورد سایر نمونه‌های کلئیدوزوم نیز نتیجه مشابهی گرفته شد.

علت اختلاف T_m بین نمونه‌های کلئیدوزوم ۱ و ۲ را می‌توان به روش تهیه آنها مربوط دانست. چون این دو نمونه به ترتیب در دو نسبت حجمی آب ۰/۳ و ۰/۲ تهیه شده‌اند و برای ثابت ماندن نسبت وزن میکروذرات کربنات کلسیم به حجم محلول آبی، غلظت ذرات کربنات کلسیم در روغن آفتاب‌گردان را هم‌زمان با حجم محلول آبی آلژینات افزایش داده شد. بنابراین در تهیه نمونه شماره ۲ کلئیدوزوم نسبت به نمونه شماره ۱ مقادیر بیشتری از میکروذرات کربنات کلسیم به کار رفته است. در نتیجه چون کربنات کلسیم مقاومت حرارتی بالایی دارد، با درصد بالایی این احتمال وجود دارد که افزایش در مقدار T_m با مقادیر بیشتر میکروذرات کربنات کلسیم موجود در نمونه کلئیدوزوم شماره ۲ مرتبط باشد.

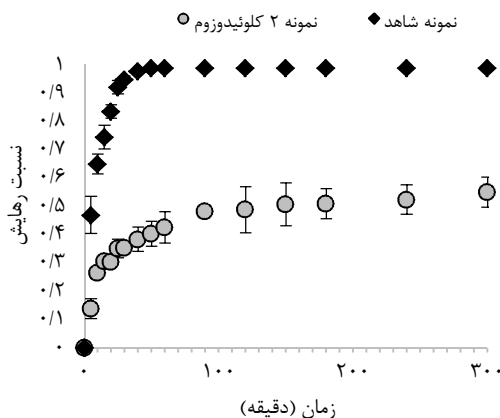
آنالیز پراش اشعه ایکس

نتیجه آزمون پراش اشعه ایکس به صورت تابعی از زاویه بین پرتو تابش و بازتابش، برای دو نمونه کلئیدوزوم شماره ۱ و ۲ در شکل (۷) آورده شده است. شدت اشعه ایکس بازتابیده در نمونه شماره ۱ در زاویه ۲۹/۴ درجه، ماکزیمم و برابر ۵۶/۰۵ درصد است و در نمونه شماره ۲، ماکزیمم شدت در زاویه ۲۹/۳ درجه و برابر ۹۵/۴۵ درصد می‌باشد. همان‌طور که مشاهده می‌شود شدت اشعه ایکس بازتابیده در نمونه شماره ۲ حدود ۴۰ درصد بیشتر از نمونه شماره ۱ کلئیدوزوم است که به دلیل یون‌های کلسیم بیشتر موجود در ترکیب آن رخ می‌دهد. لذا آزمون پراش اشعه ایکس نیز این نتیجه‌گیری را تأیید می‌کند که مقدار T_m بیشتر نمونه شماره ۲ کلئیدوزوم به مقادیر زیادتر میکروذرات کربنات کلسیم و مقاومت حرارتی بالای آن مربوط است.

است و بعد از ۳۰۰ دقیقه حداکثر ۵۵ درصد کافئین ریزپوشانی شده در آن را آزاد کرده است. لذا می‌توان نتیجه گرفت سرعت رهایش در نمونه شاهد بسیار بیشتر از نمونه پوشانده شده با ذرات کلئیدی می‌باشد (Rosenberg & Dan, 2010). در اینجا نقش میکروذرات کربنات کلسیم مشخص می‌شود که به‌نظر مقداری از کافئین محلول در آلژینات را با نیروی مویبندی در حفره‌های خود جذب کرده و نیز راه نفوذ کافئین را از هسته ژلی آلژینات مسدود می‌کند (Wang et al., 2006).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه برای ریزپوشانی کافئین به‌عنوان مدل ماده طعم‌دهنده، با استفاده از میکروذرات کربنات کلسیم و ژل آلژینات، کلئیدوزوم هیدروژل تهیه شد. نتایج آزمون طیف‌سنجی مادون‌قرمز نشان داد که پیک‌های شاخص گروه‌های عاملی کافئین در طیف نمونه کلئیدوزوم بارگذاری شده ظاهر گردیده و موقعیت آن نیز جابه‌جا شده است. این مطلب نشان می‌دهد بین کافئین و نمونه کلئیدوزوم برهم‌کنش شیمیایی رخ داده و کافئین در کلئیدوزوم هیدروژل به‌خوبی ریزپوشانی شده است. همچنین نتایج آزمون حرارتی ضمن تأیید تولید میکروکپسول‌های موردنظر نشان داد که اختلاف نقطه ذوب بین نمونه‌های کلئیدوزوم با مقادیر متفاوت میکروذرات کربنات کلسیم در فرمول آنها ارتباط دارد. نتایج آزمون پراش اشعه ایکس ضمن تأیید این مطلب، مبین تغییر در درجه کریستالی کافئین و ریزپوشانی موفق آن درون شبکه هیدروژلی آلژینات بود. جهت بهبود و ارتقای نتایج پژوهش پیشنهاد می‌شود در تهیه کلئیدوزوم از مواد خوراکی استفاده شود که صرفاً در شرایط بزاق دهان انسان رهایش می‌یابند و نقش آنزیم آلفا-آمیلاز، ترکیب شیمیایی بزاق و غیره بر میزان رهایش مورد مطالعه قرار گیرد. ضمن اینکه با افزودن ترکیبات طعم‌دهنده ریزپوشانی شده به محصولات غذایی مختلف از جمله مواد غذایی جامد و نیمه‌جامد و بررسی رهایش آنها در شرایط شبیه‌سازی شده دهان با استفاده از سایر نیروهای تنشی مانند جویدن به نتایج مفیدی در تهیه کلئیدوزوم خواهیم رسید.



شکل ۸- نمودار نسبت رهایش کافئین برای نمونه شماره ۱ کلئیدوزوم و نمونه شاهد (فاقد کربنات کلسیم) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و pH خنثی

کارایی ریزپوشانی کافئین برای نمونه‌های کلئیدوزوم ۱ و ۲ به ترتیب برابر $41.08 \pm 5/43$ و $40.37 \pm 1/85$ درصد به‌دست‌آمد. به‌نظر می‌رسد طی تولید این نوع کلئیدوزوم قسمت عمده کافئین در مرحله شست‌وشو از دسترس خارج می‌شود. Basu و Rajendran (۲۰۰۹) نیز که در مطالعه خود از محلول کیتوزان، کلرید کلسیم و محلول آلژینات سدیم برای ریزپوشانی نیمودیپین^۱ (به‌عنوان یک داروی ضد فشارخون) استفاده کرده بودند، مقادیر کارایی ریزپوشانی را برای دو نسبت متفاوت دارو به پلیمر، ۱۸ و ۲۳ درصد گزارش کردند. Mishra و Tripathi (۲۰۱۲) که برای ریزپوشانی فاموتیدین^۲ (به‌عنوان یک هیستامین از ترشح اسید معده جلوگیری می‌کند) از آلژینات سدیم و پلی‌اکریل آمید استفاده کردند و مقادیر بارگذاری را برای فرمولاسیون‌های مختلف بین ۳۷ تا ۷۵ درصد به‌دست آوردند. همچنین Sanli, Olukman و Solak (۲۰۱۲) حداکثر کارایی ریزپوشانی یک داروی ضد سرطان که با استفاده از یون آهن و نسبت‌های مختلف دارو به پلیمر، در میکروکپسول‌های هیدروژلی آلژینات سدیم بارگذاری شده بودند، ۲۵ درصد گزارش کردند.

در شکل (۸) مشخص است نمونه‌ای که توسط ذرات کلئیدی کربنات کلسیم پوشانده نشده، تقریباً در همان ۵۰ دقیقه ابتدایی تمامی کافئین بارگذاری شده را در آب آزاد کرده است؛ درحالی‌که نمونه کلئیدوزوم، حدوداً بعد از ۱۰۰ دقیقه آزادسازی کافئین، به یک حالت پایدار رسیده

¹ Nimodipine

² Famotidine

منابع

- شهیدی‌نوقایی، م.، و ملاویسی، م. (۱۳۹۹). استفاده از ترکیبات دیواره صمغ عربی، مالتودکسترین و اینولین جهت ریزپوشانی و رهایش سریع ترکیبات مؤثره آسانس هل در بزاق. *پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی*، ۹(۱)، ۵۷-۷۲. doi:<https://doi.org/10.22101/JRIFST.2019.09.22.e1071>
- محبی، م.، وریدی، م.، نوشاد، م.، و خلیلیان‌موحد، م. (۱۳۹۸). ارزیابی رهایش وانیلین از ریزکپسول‌های چندلایه تحت شرایط شبیه‌سازی‌شده دهان. *پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی*، ۸(۲)، ۱۱۱-۱۲۴. doi:<https://doi.org/10.22101/JRIFST.2019.07.22.821>
- Anbinder, P. S., Deladino, L., Navarro, A. S. d. R., Amalvy, J., & Martino, M. N. (2011). Yerba mate extract encapsulation with alginate and chitosan systems: interactions between active compound encapsulation polymers. *Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences*, 1, 80-87. doi:<http://dx.doi.org/10.4236/jeas.2011.14011>
- Ca yre, O. J., Noble, P. F., & Paunov, V. N. (2004). Fabrication of novel colloidosome microcapsules with gelled aqueous cores. *Journal of Materials Chemistry*, 14(22), 3351-3355. doi:<https://doi.org/10.1039/B411359D>
- Chorilli, M., Calixto, G., Rimério, T. C., & Scarpa, M. V. (2013). Caffeine encapsulated in small unilamellar liposomes: characterization and in vitro release profile. *Journal of dispersion science and technology*, 34(10), 1465-1470. doi:<https://doi.org/10.1080/01932691.2012.739535>
- Córdoba, A. L., Deladino, L., & Martino, M. (2013). Effect of starch filler on calcium-alginate hydrogels loaded with yerba mate antioxidants. *Carbohydrate Polymers*, 95(1), 315-323. doi:<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.03.019>
- Cunha, D., Ben Yahia, M., Hall, S., Miller, S. R., Chevreau, H., Elkaïm, E., . . . Serre, C. (2013). Rationale of drug encapsulation and release from biocompatible porous metal-organic frameworks. *Chemistry of Materials*, 25(14), 2767-2776. doi:<https://doi.org/10.1021/cm400798p>
- Dinsmore, A., Hsu, M. F., Nikolaidis, M., Marquez, M., Bausch, A., & Weitz, D. (2002). Colloidosomes: selectively permeable capsules composed of colloidal particles. *Science*, 298(5595), 1006-1009. doi:<https://doi.org/10.1126/science.1074868>
- Hwang, Y.-J., Oh, C., & Oh, S.-G. (2005). Controlled release of retinol from silica particles prepared in O/W/O emulsion: The effects of surfactants and polymers. *Journal of Controlled Release*, 106(3), 339-349. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2005.05.007>
- Karaman, S., & Kayacıer, A. (2009). Rheological properties of salep drink flavored with cocoa powder. *Scientific Works of the University of Food Technologies-Plovdiv*, 56(1), 175-178.
- Lee, D., & Weitz, D. A. (2008). Double emulsion-templated nanoparticle colloidosomes with selective permeability. *Advanced Materials*, 20(18), 3498-3503. doi:<https://doi.org/10.1002/adma.200800918>
- Liédana, N., Marín, E., Téllez, C., & Coronas, J. (2013). One-step encapsulation of caffeine in SBA-15 type and non-ordered silicas. *Chemical engineering journal*, 223, 714-721. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.03.041>
- Litzenberger, A. L. (2010). *A microfluidic method to measure diffusion in hydrogels*. (Master's thesis), Bucknell University. Retrieved from https://digitalcommons.bucknell.edu/masters_theses/36/
- Liu, H., Wang, C., Gao, Q., Liu, X., & Tong, Z. (2008). Fabrication of novel core-shell hybrid alginate hydrogel beads. *International journal of pharmaceutics*, 351(1-2), 104-112. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2007.09.019>
- Madadlou, A., Jaberipour, S., & Eskandari, M. H. (2014). Nanoparticulation of enzymatically cross-linked whey proteins to encapsulate caffeine via microemulsification/heat gelation procedure. *LWT-Food Science and Technology*, 57(2), 725-730. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.041>
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., & Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release—a review. *International journal of food science & technology*, 41(1), 1-21. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.00980.x>
- Matoušková, P., Patočková, K., Doskočil, L., & Márová, I. (2012). *Encapsulation of caffeine into organic micro- and nanoparticles*. Paper presented at the NANOCON 2012–2nd. International Conference on Nanotechnology. Conference Proceedings.
- McClements, D. J., Decker, E. A., & Weiss, J. (2007). Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *Journal of food science*, 72(8), R109-R124. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00507.x>
- Moffatt, A. C. (1986). *Clarke's Isolation and Identification of Drugs* (2nd ed.): Pharmaceutical Press.
- Mohebbi, M., Varidi, M., Noshad, M., & Khalilian Movahhed, M. (2019). Evaluation of the Release of Microcapsulated Vanillin under Simulated Oral Conditions. *Research and Innovation in Food Science and Technology*, 8(2), 111-124. doi:<https://doi.org/10.22101/JRIFST.2019.07.22.821> (in Persian)
- Olukman, M., Sanli, O., & Solak, E. K. (2012). Release of anticancer drug 5-Fluorouracil from different ionically crosslinked alginate beads. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 3(04), 469-479. doi:<https://dx.doi.org/10.4236/jbnb.012.34048>

- Paseta, L., Potier, G., Abbott, S., & Coronas, J. (2015). Using Hansen solubility parameters to study the encapsulation of caffeine in MOFs. *Organic & biomolecular chemistry*, 13(6), 1724-1731. doi:<https://doi.org/10.1039/C4OB01898B>
- Pothakamury, U. R., & Barbosa-Cánovas, G. V. (1995). Fundamental aspects of controlled release in foods. *Trends in food science & technology*, 6(12), 397-406. doi:[https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)89218-3](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)89218-3)
- Prestidge, C. A., & Simovic, S. (2006). Nanoparticle encapsulation of emulsion droplets. *International journal of pharmaceutics*, 324(1), 92-100. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.06.044>
- Rajendran, A., & Basu, S. K. (2009). Alginate-chitosan particulate system for sustained release of nimodipine. *Tropical journal of pharmaceutical research*, 8(5), 433-440. doi:<https://doi.org/10.4314/tjpr.v8i5.48087>
- Roberts, D., Pollien, P., & Milo, C. (2000). Solid-phase microextraction method development for headspace analysis of volatile flavor compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2430-2437. doi:<https://doi.org/10.1021/jf991116l>
- Rosenberg, R. T. (2010). *Controlling transport using surface porosity in colloidosomes* (Vol. 71).
- Rosenberg, R. T., & Dan, N. (2011). Self-Assembly of colloidosome shells on drug-containing hydrogels. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 2(01), 1-7. doi:<https://doi.org/10.4236/jbnb.2011.21001>
- Rosenberg, R. T., & Dan, N. R. (2010). Controlling surface porosity and release from hydrogels using a colloidal particle coating. *Journal of colloid and interface science*, 349(2), 498-504. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2010.05.095>
- Rossier-Miranda, F., Schroën, C., & Boom, R. (2009). Colloidosomes: Versatile microcapsules in perspective. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 343(1-3), 43-49. doi:<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2009.01.027>
- Sacanna, S., Kegel, W., & Philipse, A. (2007). Spontaneous oil-in-water emulsification induced by charge-stabilized dispersions of various inorganic colloids. *Langmuir*, 23(21), 10486-10492. doi:<https://doi.org/10.1021/la701311b>
- Sarmiento, B., Ferreira, D., Veiga, F., & Ribeiro, A. (2006). Characterization of insulin-loaded alginate nanoparticles produced by ionotropic pre-gelation through DSC and FTIR studies. *Carbohydrate Polymers*, 66(1), 1-7. doi:<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.02.008>
- Shahidi Noghabi, M., & Molaveisi, M. (2020). Using Arabic Gum, Maltodextrin and Inulin for Wall Compounds Microencapsulation and Rapid Release of the Bioactive Compounds from Cardamom Essential Oil in Saliva. *Research and Innovation in Food Science and Technology*, 9(1), 57-72. doi:<https://doi.org/10.22101/JRIFST.2019.09.22.e1071> (in Persian)
- Steffe, J. F. (1996). *Rheological methods in food process engineering*: Freeman press.
- Thompson, K. L., Armes, S., Howse, J., Ebbens, S., Ahmad, I., Zaidi, J., . . . Burdis, J. (2010). Covalently cross-linked colloidosomes. *Macromolecules*, 43(24), 10466-10474. doi:<https://doi.org/10.1021/ma102499k>
- Tønnesen, H. H., & Karlsen, J. (2002). Alginate in drug delivery systems. *Drug development and industrial pharmacy*, 28(6), 621-630. doi:<https://doi.org/10.1081/DDC-120003853>
- Tripathi, R., & Mishra, B. (2012). Development and evaluation of sodium alginate-polyacrylamide graft-co-polymer-based stomach targeted hydrogels of famotidine. *Aaps Pharmscitech*, 13(4), 1091-1102. doi:<https://doi.org/10.1208/s12249-012-9824-1>
- Wang, C., He, C., Tong, Z., Liu, X., Ren, B., & Zeng, F. (2006). Combination of adsorption by porous CaCO₃ microparticles and encapsulation by polyelectrolyte multilayer films for sustained drug delivery. *International journal of pharmaceutics*, 308(1-2), 160-167. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.11.004>
- Wang, H., Zhu, X., Tsarkova, L., Pich, A., & Möller, M. (2011). All-silica colloidosomes with a particle-bilayer shell. *Acs Nano*, 5(5), 3937-3942. doi:<https://doi.org/10.1021/nn200436s>
- Wang, J., Liu, G., Wang, L., Li, C., Xu, J., & Sun, D. (2010). Synergistic stabilization of emulsions by poly(oxypropylene) diamine and Laponite particles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 353(2-3), 117-124. doi:<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2009.11.002>
- William, K. (1996). *Organic spectroscopy* (3rd ed.). Hong Kong: Macmillian.
- Zarzycki, R., Modrzejewska, Z., & Nawrotek, K. (2010). Drug release from hydrogel matrices. *Ecological Chemistry and Engineering S*, 17(2), 117-136.
- Zhao, Y. (2013). *Engineering of Barrier Properties of Colloidosome Interface to Reduce Oxidation and Control the Release of Encapsulants*. (Master's thesis), Drexel University. Retrieved from <http://hdl.handle.net/1860/4260>
- Zuidam, N. J., Nedovic, . (2010). Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing. *Ind ed*. Springer.

Evaluation of Caffeine Release from Hydrogel Colloidosome under Simulated oral Condition and Instrumental Analysis of the Microcapsule

Zeinab Rezaei¹, Mohebbat Mohebbi², Mohammad Reza Amiryousefi^{3*}

- 1- PhD. Graduate, Department of Food Hygiene and Aquaculture, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
 - 2- Professor, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
 - 3- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Neyshabur University of Medical Sciences, Neyshabur, Iran
- * Corresponding author (AmiryousefiMR@nums.ac.ir)

Abstract

In this research hydrogel-based colloidosome with shell of CaCO₃ microparticles was used in order to encapsulate caffeine as a model flavor compound. When the CaCO₃ particles were dispersed in sunflower oil and then water in oil emulsion was prepared, with adding D-gluconic acid δ -lactone, water droplets containing alginate slowly gelate with outer layer of CaCO₃ particles in micrometer hydrogels in the size of a few 10 μ m without coagulation. CaCO₃ microparticles act as both cross-linker for the alginate and stabilizer of water in oil emulsion. After leaving for 48 h, the hydrogel colloidosomes sank to the bottom of the container due to gravity. The results of infrared spectroscopy showed that indicative peaks of caffeine functional groups appeared in the loaded colloidosome sample spectrum and shifted its position. The results of calorimetric tests showed that the difference between the melting point of colloidosome samples with varying amounts of calcium carbonate microparticles in their formulas are linked. The results of the X-ray diffraction test showed a change in the crystalline degree of caffeine. After 5 h, the colloidosome sample, continued the caffeine release in water up to 55% maximally, while using mouth conditions for this sample, release of the loaded caffeine increased 33%. Generally, the results of instrumental analysis and release test showed that caffeine in the hydrogel colloidosome was well encapsulated within the alginate hydrogel network and have proper release under simulated oral condition.

Keywords: Caffeine, Colloidosome, Encapsulation, Hydrogel, Release