

## تأثیر روش‌های ریزپوشانی و کوپیگمانتاسیون بر بهبود پایداری حرارتی عصاره بتالائینی چغندرقرمز و کاربرد آن در نوشیدنی مدل

حامد صابریان<sup>1\*</sup>، وحید پاسبان<sup>2</sup>

1- استادیار، گروه پژوهشی افزودنی‌های غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی، سازمان جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران  
\*نویسنده مسئول (Saberian@acecr.ac.ir)  
2- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، مؤسسه آموزش عالی جهاد دانشگاهی کاشمر، کاشمر، ایران

### چکیده

تاریخ دریافت: 1400/09/15  
تاریخ بازنگری: 1400/09/27  
تاریخ پذیرش: 1400/09/27  
تاریخ انتشار برخط: 1400/09/28

### واژه‌های کلیدی

پایداری  
ریزپوشانی  
عصاره بتالائینی  
کوپیگمان

یکی از چالش‌های مهمی که در زمینه استفاده از بتالائین‌ها وجود دارد، پایداری نسبتاً پایین آنها بخصوص در برابر نور و حرارت می‌باشد. بنابراین، هدف اصلی این پژوهش، پایداری‌سازی عصاره بتالائینی استخراجی از چغندرقرمز در برابر تیمارهای حرارتی بود. تأثیر روش ریزپوشانی (با استفاده از مالتودکسترین، صمغ عربی، صمغ فارسی و کنسانتره پروتئین آب‌پنیر و همچنین غلظت‌های مختلف آلفا و بتاسیکلودکسترین) بر پایداری حرارتی بتالائین‌ها بررسی شد. همچنین تأثیر روش کوپیگمانتاسیون با استفاده از کوپیگمان‌های مختلفی از قبیل اسید گالیک، اسید فرولیک، کوئرستین و روتین (در نسبت‌های مولی 100-2/5 به 1 نسبت به بتالائین) و عصاره نسترن کوهی (در دو نسبت مولی 50:1 و 100:1 معادل اسید گالیک به بتالائین) ارزیابی شد. نتایج حاکی از آن بود که از میان دیواره‌های استفاده‌شده برای ریزپوشانی عصاره بتالائینی، کنسانتره پروتئین آب‌پنیر از سایرین مؤثرتر بود و بتالائین بیشتری (81/50 میلی‌گرم بر 100 گرم پودر خشک) را طی خشک‌کردن حفظ نمود و پس از به‌کاربردن ریزکپسول‌ها در نوشیدنی مدل نیز بیشترین بتالائین باقی‌مانده (48/20 درصد) مربوط به ریزکپسول حاوی کنسانتره پروتئین آب‌پنیر بود. آلفا و بتاسیکلودکسترین و کوپیگمان‌های فنولی تأثیر معنی‌داری بر پایداری بتالائین نداشتند. عصاره نسترن کوهی در دو نسبت مولی 50:1 و 100:1 (معادل اسید گالیک به بتالائین) موجب افزایش بقاء بتالائین شد و این تأثیر طی نگهداری در دمای تسریع‌شده و شرایط نور حتی پس از 14 روز نیز مشهود بود؛ به‌طوری‌که میزان بتالائین نمونه حاوی عصاره نسترن کوهی طی 14 روز نگهداری ثابت باقی‌ماند.

### مقدمه

(Nurjayadi, & Enshasy, 2019). قسمت عمده رنگ قرمز طبیعی محلول در آب مربوط به منابع آنتوسیانینی و بتالائینی می‌باشد و رنگ آنتوسیانین تجاری نیز بیشتر از دو منبع پوست انگورقرمز و هویج سیاه (ارغوانی) استخراج می‌شود. پوست انگورقرمز (به‌عنوان ضایعات صنایع آب‌میوه) در ایران محدود است و هویج سیاه نیز بومی ایران نمی‌باشد. بنابراین، منبع مستعد جهت تولید

رنگ به‌عنوان یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های غذا مطرح می‌باشد. امروزه تمایل زیادی برای جایگزینی رنگ‌های مصنوعی با انواع طبیعی وجود دارد زیرا با پیشرفت علم، بشر متوجه آثار زیان‌بار رنگ‌های سنتزی (از قبیل بیش‌فعالی در کودکان) و اثرات مفید رنگ‌های طبیعی بر سلامت شده است (Mohamad, Dailin, Gomaa, )

می‌شوند (Chhikara *et al.*, 2019). بنابراین، این رنگ‌دانه به شرایط فیزیکی‌وشیمیایی مختلف از قبیل نور، حرارت، pH بالاتر از 6، هوا (اکسیژن) و فلزهای حساس می‌باشد (Herbach, Stintzing, & Carle, 2006). بنابراین، پایداری بتالائین‌ها نیز مشابه آنتوسیانین‌ها تحت تأثیر شرایط فرایند قرار می‌گیرد. باین‌حال، بتالائین‌ها همانند آنتوسیانین‌ها مورد مطالعه قرار نگرفته‌اند. جهت افزایش کاربرد این رنگ‌دانه در مواد غذایی، نیاز است تا مقاومت بتالائین در برابر این تغییرات افزایش یابد. در میان راه‌حل‌های مختلف پایدارسازی بتالائین، تشکیل کمپلکس، کوپیگمانتاسیون<sup>2</sup> و ریزپوشانی به‌عنوان فناوری‌های برتر شناخته شده‌اند (Manchali, Murthy, Nagaraju, & Neelwarne, 2013).

کمپلکس بتاسیکلودکسترین-بتانین جهت پایدارسازی رنگ گزارش شده است و علت آن به جذب آب آزاد توسط بتاسیکلودکسترین نسبت داده شده است. علاوه بر این، سیکلودکسترین‌ها بدون اینکه عطر و طعم نمونه یا عصاره را کاهش دهند، کیفیت حسی را بهبود می‌بخشند (Drunkler, Fett, & Luiz, 2006). کوپیگمانتاسیون شامل برهمکنش کووالانسی (تشکیل کمپلکس) یا واندروالسی بین آنتوسیانین‌ها و دیگر ترکیبات طبیعی می‌باشد. کوپیگمانتاسیون می‌تواند شامل فلزهای، فنول‌ها، آلکالوئیدها، آمینواسیدها، اسیدهای آلی، نوکلئوتیدها، پلی‌ساکاریدها و آنتوسیانین‌ها باشد (Mazza & Miniati, 2018). از طریق کوپیگمانتاسیون، شدت رنگ و پایداری آنتوسیانین‌ها افزایش می‌یابد. اگرچه پدیده کوپیگمانتاسیون اغلب مربوط به آنتوسیانین‌ها می‌باشد اما پدیده مشابهی در مورد بتالائین‌ها نیز گزارش شده است. ماتریس طبیعی عصاره‌های گیاهی حاوی کوپیگمانت‌های مختلفی است که می‌تواند به پایدارسازی و بازسازی رنگ‌دانه‌ها کمک کند. به‌همین دلیل، در آب‌میوه کاکتوس (نسبت به محلول حاوی رنگ‌دانه خالص)، اکسیداسیون خودبه‌خود بتالائین کمتر اتفاق می‌افتد و تیمار حرارتی اثری بر بی‌رنگ کردن قابل توجه آن ندارد (Skopinska, Szot, & Wybraniec, 2015). علاوه بر این، برخی اثرات سینرژیستی (تقویت‌کنندگی) روی پایداری بتالائین‌ها در حضور ماتریس عصاره میوه و برخی افزودنی‌ها در مقایسه با نمونه‌های فاقد ماتریس گزارش شده است (Herbach *et al.*, 2006). عصاره چغندرقرمز علاوه بر رنگ‌دانه بتالائین، حاوی کربوهیدرات،

رنگ‌دانه قرمز، رنگ بتالائین استخراجی از چغندرقرمز<sup>1</sup> می‌باشد زیرا از نظر سه شاخص مهم فراوانی، دسترسی و صرفه اقتصادی بر سایر منابع برتری دارد. از طرفی، بتالائین‌ها جایگزین‌های مطلوبی برای آنتوسیانین‌ها هستند زیرا آب‌دوست‌تر از آنها بوده و رنگ شدیدتری را ایجاد می‌کنند. تفاوت مهم دیگر بین بتالائین‌ها و آنتوسیانین‌ها آن است که بتالائین‌ها قادرند تا پس از تیمار حرارتی بازسازی شوند و این ویژگی در آنتوسیانین‌ها مشاهده نشده است. بازسازی می‌تواند با استفاده هم‌زمان از اسید آسکوربیک (که بر آنتوسیانین‌ها اثر مخرب دارد) حاصل شود (Khan & Giridhar, 2014).

بتالائین (E162) به‌عنوان یک رنگ‌دانه غذایی قرمز توسط اتحادیه اروپا تأیید شده است و در استاندارد ملی ایران به شماره 740 نیز به آن پرداخته شده است (سازمان ملی استاندارد ایران [ISIRI], 1398). مشتقات بتالائینی بسته به ترکیبی که به ساختار اصلی متصل شده است به بتاسیانین‌ها (رنگ قرمز-بنفش) و بتاگزانتین‌ها (رنگ زرد-نارنجی) طبقه‌بندی می‌شوند (Faridah, Holinesti, & Syukri, 2015). بتالائین چغندر به‌عنوان رنگ‌دانه غذایی قرمز در گستره وسیعی از محصولات از قبیل محصولات لبنی (ماست و بستنی)، نوشیدنی‌های با pH پایین، ژله‌ها و پاستیل‌ها کاربرد دارد (Chhikara, Kushwaha, Sharma, Gat, & Panghal, 2019; Chung, Rojanasasithara, Mutilangi, & McClements, 2016). در بیشتر کاربردهای غذایی، حدود 50 میلی‌گرم بتانین (به‌عنوان فراوان‌ترین بتالائین موجود در چغندرقرمز) به ازای کیلوگرم محصول، رنگ مطلوب را ایجاد می‌کند (Delgado-Vargas, Jiménez, & Paredes-López, 2000). در سال 2009، میزان تقاضای جهانی برای رنگ غذایی حدود 45-50 هزار تن بوده است و پیش‌بینی می‌شود که حدود 10 درصد این تقاضا توسط بتالائین چغندرقرمز تأمین شود (Khan, 2016).

بتالائین‌ها بیشترین پایداری را در دامنه pHهای 4 تا 6 و در دمای یخچال (4 درجه سانتی‌گراد) دارا می‌باشند. براین‌اساس، این رنگ‌دانه‌ها قابل استفاده در غذاهای منجمد، محصولات لبنی با پایین فرآوری و غذاهای با زمان ماندگاری کوتاه می‌باشند و قابل استفاده در محصولات از قبیل کیک نیستند چون طی حرارت تخریب

<sup>2</sup> Co-pigmentation

<sup>1</sup> *Beta vulgaris* L.

کنار یکدیگر مقایسه شوند و تأثیر آنها ارزیابی گردد. تأثیر کوپیگمانتاسیون با استفاده از ترکیبات فنولی خالص و عصاره نسترن کوهی<sup>1</sup> (به‌عنوان یک عصاره گیاهی غنی از مخلوطی از ترکیبات فنولی) نیز، برای اولین بار، بر پایداری عصاره بتالائینی موجود در نوشیدنی مدل طی تیمار حرارتی بررسی گردید.

## مواد و روش‌ها

### مواد شیمیایی

چغندرقرمز از فروشگاه‌های مشهد تهیه شد. اتانول با درجه آزمایشگاهی از شرکت دکتر مجللی (صنایع شیمیایی دکتر مجللی، ساخت ایران) خریداری شد. اسید سیتریک، سدیم سترات، آلفا و بتاسیکلودکسترین، اسید فرولیک، اسید گالیک، روتین و صمغ عربی از شرکت تیتراکم خریداری شد. مالتودکسترین با DE برابر با 18 از شرکت زر فروکتوز و کنسانتره پروتئین آب‌پنیر (WPC<sup>2</sup>) از شرکت هیلمار (ساخت آمریکا) خریداری شدند. صمغ فارسی از شرکت ریحان‌گام پارسین خریداری شد. میوه نسترن کوهی از لرستان تهیه شد.

### استخراج و اندازه‌گیری عصاره بتالائینی

عصاره بتالائینی چغندرقرمز مطابق روش بهینه‌شده توسط Kumar و Bazaria (2017) استخراج شد. ابتدا چغندرقرمز شست‌وشو داده شد و سپس به قطعه‌های کوچک تقسیم‌شده و عصاره آن با استفاده از دستگاه آب‌میوه‌گیری (مدل پارس‌خزر، ساخت ایران) استخراج شد. عصاره استخراجی با استفاده از سانتریفیوژ (مدل سیگما، ساخت آلمان) و کاغذ صافی واتمن صاف گردید. عصاره حاصل با استفاده از دستگاه تبخیرکننده تحت‌خلأ (Heidolpg، ساخت آلمان) در دمای حدود 40 درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به بریکس حدود 9 تغلیظ شد و تا زمان کاربرد، در دمای 18- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس این عصاره در سه روش مختلف پایداری به‌کاربرده شد (Bazaria & Kumar, 2017).

### روش اول: بهینه‌سازی ریزپوشانی عصاره بتالائینی با استفاده از ترکیبات مختلف

مواد دیواره‌ای شامل مالتودکسترین (معادل دکستروز

پروتئین، اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری می‌باشد (Chhikara *et al.*, 2019). بنابراین، پایداری بیشتر رنگ‌دانه در عصاره‌ها نسبت به محلول رنگ‌دانه خالص را می‌توان به تأثیر سایر ترکیبات موجود در عصاره نسبت داد که به‌عنوان کوپیگمان عمل می‌کنند (Chang, Yang, Wen, & Chern, 2002). یکی از راه‌های دیگر محافظت از بتالائین‌ها، ریزپوشانی آنها با استفاده از پلی‌ساکاریدهای مختلف می‌باشد زیرا با این روش، این ترکیب زیست‌فعال از تأثیر فاکتورهای محیطی از قبیل نور، دما و اکسیژن محافظت می‌شود. فرایند خشک‌کردن پاششی اغلب در صنعت غذا استفاده می‌شود زیرا هزینه‌های عملیاتی نسبتاً پایینی دارد، امکان تولید در مقیاس زیاد وجود دارد و در نهایت یک پودر خشک، به‌عنوان محصول نهایی، حاصل می‌شود. از آنجایی که بتالائین‌ها محلول در آب هستند با فرمولاسیون‌های حاوی مالتودکسترین، صمغ عربی و نشاسته سازگارند (Righi *da Rosa et al.*, 2019). ریزپوشانی بتالائین‌ها با سیکلودکسترین‌ها فرایند مطلوبی جهت کاهش تخریب آنها می‌باشد. علاوه بر این، ریزپوشانی می‌تواند موجب بهبود زیست‌فراهمی آنها در دستگاه گوارش گردد. بتالائین‌ها قادر هستند با بتاسیکلودکسترین پیوند و تشکیل کمپلکس دهند تا از واکنش‌های هیدراتاسیون و پلی‌مریزاسیون در امان بمانند (Howard, Brownmiller, Prior, & Mauromoustakos, 2013). با به‌دام‌انداختن بتالائین‌ها در ماتریس پلیمری، آنها کمتر در معرض اکسیژن قرار می‌گیرند و بنابراین پایداری و زمان انبارمانی بیشتری خواهند داشت (Weber, Boch, & Schieber, 2017). بسیاری از تحقیق‌هایی که تاکنون انجام شده‌اند، تنها به پایداری رنگ‌دانه در قالب پودر طی زمان نگهداری پرداخته‌اند و آن را در مدل غذایی (که دیواره محافظ در آب حل می‌شود و رنگ‌دانه آزاد می‌شود) که از اهمیت بیشتری برخوردار است و هدف نهایی هرگونه پایداری است، به‌کار نبرده‌اند.

بنابراین، هدف اصلی این پژوهش، استفاده از روش‌های مختلف پایداری بتالائین و همچنین ارزیابی روش کوپیگمانتاسیون (که برای پایداری آنتوسیانین‌ها متداول است) بر پایداری بتالائین می‌باشد. براین اساس، در پژوهش حاضر از مالتودکسترین، صمغ عربی، صمغ فارسی، کنسانتره پروتئین آب‌پنیر و آلفا و بتاسیکلودکسترین جهت ریزپوشانی بتالائین استفاده شد تا تمام این ترکیبات در

<sup>1</sup> *Rosa canina*

<sup>2</sup> Whey protein concentrate

Fernandes, Sousa, Azevedo, ) نیمه عمر بتالائین) شد (Mateus, & de Freitas, 2013).

روش سوم: کوپیگماتناسیون عصاره بتالائینی با استفاده از ترکیبات مختلف

در این مرحله، کوپیگمان‌های مهمی که در پژوهش‌های سایر محققین به‌عنوان کوپیگمان در پایدارسازی آنتوسیانین‌ها و بتالائین‌ها مؤثر شناخته شده بودند، به‌کارگرفته شدند. این کوپیگمان‌ها شامل اسید گالیک (در دو نسبت مولی 50:1 و 100:1 نسبت به رنگ‌دانه)، اسید فرولیک (در دو نسبت مولی 50:1 و 100:1 نسبت به رنگ‌دانه)، کوئرستین (در دو نسبت مولی 2/5:1 و 5:1 نسبت به رنگ‌دانه) و روتین (در دو نسبت مولی 10:1 و 25:1 نسبت به رنگ‌دانه) بود (Fan et al., 2019; Shikov, Kammerer, Mihalev, Mollov, & Carle, 2008; Weber et al., 2017). علت اینکه از غلظت‌های کمتری از کوئرستین و روتین استفاده شد، عدم حلالیت مقادیر بیشتر آنها در نوشیدنی بود که خود این عامل منجر به ایجاد رنگ نامطلوبی در نوشیدنی می‌شد.

عصاره‌گیری نستر کوهی و کوپیگماتناسیون عصاره بتالائینی با استفاده از آن

عصاره‌گیری از میوه نستر کوهی مطابق روش صابریان (1399) انجام شد. براین اساس، استخراج دومرحله‌ای انجام شد تا هم بیشترین میزان کاروتنوئید کل و فلاونوئید کل استخراج شود (در شرایط بهینه شامل نسبت حلال به ماده جامد 14/94 میلی‌لیتر بر گرم، زمان 6 ساعت و غلظت اتانول 96 درصد) و هم بیشترین ترکیبات فنولی کل (در شرایط بهینه نسبت حلال به ماده جامد 15 میلی‌لیتر بر گرم، زمان 6 ساعت و غلظت اتانول 35/8 درصد (حجمی/حجمی)). در نهایت، عصاره‌های حاصله ترکیب شد و در دمای 45 درجه سانتی‌گراد و تحت شرایط خلأ تغلیظ شد و به روش خشک‌کردن انجمادی خشک شد. عصاره نستر کوهی در دو نسبت مولی 50:1 و 100:1 (معادل اسید گالیک به رنگ‌دانه) استفاده شد. قابل ذکر است که میوه نستر کوهی حاوی مقادیر بسیار زیادی از ترکیبات فنولی (حدود 10 درصد وزن ماده خشک) می‌باشد (صابریان، 1397). نوشیدنی مدل حاوی 8 درصد (وزنی/وزنی) عصاره بتالائینی (یا معادل پودر ریزپوشانی‌شده

اکی‌والان 18)، صمغ عربی، صمغ فارسی و پروتئین آب‌پنیر به‌صورت منفرد و ترکیبی در آب‌مقطر گرم به مدت 30 دقیقه مخلوط و حل‌شده و سپس به مدت یک شب در یخچال نگهداری شدند تا به‌طور کامل جذب آب صورت پذیرد. تیمارها شامل مالتودکسترین (MD<sup>1</sup>)، صمغ عربی (GA<sup>2</sup>)، پروتئین آب‌پنیر (WPC)، مخلوط 1:1 مالتودکسترین و صمغ عربی (MD+GA)، مخلوط 1:1 پروتئین آب‌پنیر و صمغ عربی (GA+WPC)، مخلوط 1:1 پروتئین آب‌پنیر و مالتودکسترین (MD+WPC)، مخلوط 1:1 مالتودکسترین و صمغ عربی (MD+GF) و مخلوط صمغ عربی و صمغ فارسی (GA+GF) بود. در مخلوط‌های حاوی صمغ فارسی، غلظت این صمغ 4 درصد بود زیرا در غلظت‌های بیشتر، ویسکوزیته محلول به شدت افزایش یافته و حالت شبه‌ژلی پیدا می‌کرد (Rahimi & Abbasi, 2014). نسبت بریکس مواد دیواره به بریکس عصاره بتالائینی 3:1 (وزنی/وزنی) انتخاب شد (Ge, Yue, Chi, Liang, & Gao, 2018). براین اساس، بریکس محلول دیواره به 27 رسید. سپس محلول دیواره و عصاره بتالائینی چغندر قند به نسبت 1:1 (وزنی/وزنی) به مدت 30 دقیقه همگن‌شده و بریکس مخلوط نهایی به 18 رسید. مخلوط نهایی با استفاده از خشک‌کن پاششی (شرکت درساتک، ساخت ایران) در دمای 160 درجه سانتی‌گراد خشک شد.

روش دوم: بهینه‌سازی استفاده از غلظت‌های مختلف سیکلودکسترین (آلفا و بتا)

نسبت‌های مختلف مولی آلفا و بتاسیکلودکسترین به بتالائین (براساس بتالائین کل) جهت بررسی تأثیر پایدارسازی آنها بر بتالائین کل بررسی شد. این نسبت‌ها شامل 10، 25، 50، 75 و 100 مول آلفا و بتاسیکلودکسترین به ازای 1 مول بتالائین بود (Howard et al., 2013). ابتدا نوشیدنی مدل در pH برابر 3 تهیه شد. سپس نسبت‌های سیکلودکسترین فوق به نوشیدنی مدل افزوده شد و محلول به مدت 10 دقیقه در دور 120 بر دقیقه هم‌زده شد. سپس به مدت 2 ساعت به حال خود رها شد تا به تعادل رسید و آماده تیمار حرارتی (در قالب نوشیدنی مدل در دمای 90 درجه سانتی‌گراد به مدت

<sup>1</sup> Maltodextrin

<sup>2</sup> Gum arabic

تعیین بتالائین موجود در محلول روماند، نمونه‌های پودر در اتانول حل شده و پس از سانتریفیوژ کردن مخلوط، محلول روماند جهت تعیین میزان بتالائین موجود در محلول روماند استفاده شد. بعد از تعیین میزان بتالائین کل و بتالائین موجود در محلول روماند، کارایی ریزپوشانی با استفاده از رابطه (4) محاسبه شد (Carmo *et al.*, 2018).

رابطه (4)

$$\text{درصد کارایی ریزپوشانی} = \frac{TB-TS}{TB} \times 100$$

در رابطه (4)، TB میزان بتالائین کل و TS میزان بتالائین موجود در محلول روماند می‌باشد.

#### استخراج و اندازه‌گیری میزان فنول کل

میزان فنول کل نمونه‌ها با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو مطابق روش Ercisli (2007) انجام شد. برای این منظور، میزان 100 میکرولیتر از عصاره نمونه‌های استخراج شده در 10 میلی‌لیتر آب دیونیزه برای مدت 1 ساعت حل شد. سپس 0/1 میلی‌لیتر از نمونه صاف شده به فالکون منتقل شد. 2/8 میلی‌لیتر آب دیونیزه به فالکون افزوده شد. پس از افزودن 2 میلی‌لیتر کربنات سدیم 2 درصد به فالکون و گذشت زمان 3 دقیقه، میزان 0/1 میلی‌لیتر از معرف فولین سیوکالتو (رقیق شده با آب مقطر به نسبت 1:1) نیز به آن افزوده شد و سپس به‌طور کامل هم‌زدن صورت گرفت. سپس نمونه‌ها به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند. در نهایت جذب نمونه‌ها در طول موج 750 نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (مدل BC47358، شرکت Biochrom، ساخت انگلستان) خوانده شد. اسید گالیک به‌عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفت و غلظت‌های 0-1000 میلی‌گرم بر لیتر برای رسم منحنی استاندارد تهیه شد. نتایج به‌صورت میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک نمونه بیان شد.

#### تعیین میزان فلاونوئید کل

محتوی فلاونوئید کل مطابق روش Chang و همکاران (2002) با استفاده از معرف کلرید آلومینیوم اندازه‌گیری شد. 0/5 میلی‌لیتر از عصاره استخراجی با 1/5 میلی‌لیتر از اتانول 95 درصد مخلوط شد و سپس 0/1 میلی‌لیتر محلول اتانولی کلرید آلومینیوم 10 درصد وزنی/حجمی و 0/1 میلی‌لیتر از استات پتاسیم 1 مولار و 2/8 میلی‌لیتر آب مقطر

آن و 0/01 درصد کلرید کلسیم در بافر اسید سیتریک 20 میلی‌مولار با pH برابر با 3 تهیه شد (Chung, Rojanasasithara, Mutilangi, & McClements, 2015).

#### آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

##### اندازه‌گیری غلظت بتالائین

عصاره آبی بتالائین با استفاده از بافر فسفات 50 میلی‌مولار (pH برابر با 6/5) رقیق شد تا جذب در ناحیه 0/1-0/9 قرار گیرد. غلظت‌های بتانین ( $C_B^1$ )، ولگاگزانتین ( $C_V^2$ ) و بتالائین کل ( $C_T^3$ ) نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر UV-Vis (مدل BC47358، شرکت Biochrom، ساخت انگلستان) و به ترتیب با استفاده از رابطه‌های (1)، (2) و (3) برآورد و محاسبه شدند (Prieto-Santiago, Cavia, Alonso-Torre, & Carrillo, 2020):

رابطه (1)

$$C_B = \frac{1.095 \cdot (A_{538} - A_{600}) \cdot D \cdot 1000}{1120 \cdot TSC}$$

رابطه (2)

$$C_V = \frac{(A_{476} - 0.258 \cdot A_{538} - 0.742 \cdot A_{600}) \cdot D \cdot 1000}{750 \cdot TSC}$$

رابطه (3)

$$C_T = C_B + C_V$$

در رابطه‌های (1)، (2) و (3)،  $A_{476}$ ،  $A_{538}$  و  $A_{600}$  به ترتیب میزان جذب در طول موج‌های 476، 538 و 600 نانومتر، D بیانگر ضریب رقت و اعداد 750 و 1120 به ترتیب مقادیر جذب ( $A^{1\%}$ ) بتانین و ولگاگزانتین در طول موج‌های 538 و 476 نانومتر هستند. میزان ماده جامد کل ( $TSC^4$ ) نیز برای بیان غلظت برحسب ماده خشک استفاده می‌شود. مقدار بتالائین کل برحسب میلی‌گرم بر 100 گرم ماده خشک یا میلی‌گرم بر 100 میلی‌لیتر عصاره یا نوشیدنی، جهت بررسی آزمون‌های پایداری مورد استفاده قرار گرفت.

#### تعیین کارایی ریزپوشانی<sup>5</sup>

برای اندازه‌گیری بتالائین کل، پودر تهیه شده در آب مقطر به‌طور کامل حل شد و جهت رسوب ناخالصی‌ها، سانتریفیوژ نیز گردید (5000 دور بر دقیقه به مدت 20 دقیقه). برای

<sup>1</sup> Betanin content

<sup>2</sup> Vulgaxanthin content

<sup>3</sup> Total betalain content

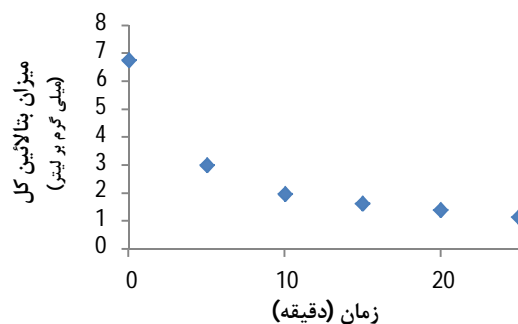
<sup>4</sup> Total solid content

<sup>5</sup> Encapsulation efficiency

آنالیز داده‌ها، طرح یک فاکتور در یک زمان<sup>1</sup> و در بعضی موارد طرح فاکتوریل کامل بود. برای مقایسه تأثیر دیواره‌ها بر شاخص‌های رنگی، میزان بتالائین کل و کارایی ریزپوشانی از طرح یک فاکتور در یک زمان استفاده شد. برای بررسی تأثیر آلفا و بتاسیکلودکسترین بر پایداری بتالائین‌ها از طرح فاکتوریل استفاده شد. برای مقایسه تأثیر کوپیگمان‌های مختلف بر پایداری بتالائین در نوشیدنی مدل نیز از طرح یک فاکتور در یک زمان استفاده شد. آزمایش‌ها به‌طور عمده در حداقل دو تکرار انجام شدند و سپس میانگین و انحراف معیار داده‌ها به‌دست‌آمد. جهت بررسی وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین تیمارهای مختلف، از آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمون توکی استفاده شد. در تمام مراحل، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS نسخه<sup>2</sup> 19 و متلب<sup>2</sup> نسخه<sup>2</sup> 16 صورت پذیرفت.

### نتایج و بحث

پایداری حرارتی نوشیدنی مدل حاوی عصاره بتالائینی همان‌طور که در شکل (1) مشاهده می‌شود، با افزایش زمان حرارت‌دهی، میزان بتالائین به شدت کاهش یافت. براساس شکل (1) و همچنین با استفاده از مدل درجه‌یک در نرم‌افزار متلب مشخص شد که زمان نیمه‌عمر تخریب بتالائین 6/33 دقیقه است.



شکل 1- پایداری حرارتی بتالائین کل در نوشیدنی مدل در دمای 90 درجه سانتی‌گراد

شاخص قرمزی نوشیدنی مدل نیز در زمان‌های مختلف حرارت‌دهی در دمای 90 درجه سانتی‌گراد بررسی شد و همان‌طور که در شکل (2) مشاهده می‌شود، با

به آن اضافه شد. پس از هم‌زدن کامل محلول، به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد و جذب نمونه در طول موج 415 نانومتر در مقابل نمونه شاهد با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. منحنی استاندارد کوئرستین (ساخت شرکت سیگما آلدریچ) در غلظت 150-25 میلی‌گرم بر لیتر رسم شد. میزان فلاونوئید کل براساس میزان معادل «میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره» گزارش شد.

### آزمون پایداری حرارتی و بررسی تخریب بتالائین

نوشیدنی‌های مدل تهیه‌شده در دمای 90 درجه سانتی‌گراد برای مدت صفر، 5، 10، 15، 20 و 25 دقیقه حرارت داده شدند و سپس تا دمای محیط سرد شدند. زمان نیمه‌عمر بتالائین محاسبه شد و تیمارهای ذکر شده برای بررسی تأثیر پایداری، در آن زمان مورد بررسی قرار گرفتند (Chung *et al.*, 2016). زمان نیمه‌عمر ( $T_{1/2}$ ) براساس غلظت بتالائین با استفاده از رابطه‌های (5) و (6) محاسبه شد:

رابطه (5)

$$\frac{c}{c_0} = -Kt$$

در رابطه (5)، C غلظت رنگ‌دانه‌ها در زمان t (حرارت‌دهی در دماهای مختلف)،  $C_0$  نشانگر غلظت رنگ‌دانه‌های اولیه می‌باشد و K (1 بر دقیقه) ثابت سرعت واکنش است (Fan *et al.*, 2019).

رابطه (6)

$$T_{1/2} = \frac{-\ln 0.5}{K}$$

### اندازه‌گیری شاخص رنگی

برای ارزیابی رنگ نمونه‌ها (پودر و نوشیدنی) از سیستم CIELab استفاده شد و شاخص قرمزی ( $a^*$ ) اندازه‌گیری شدند. این شاخص با استفاده از دستگاه هانتربل (HunterLab ColorFlex، مدل C04-1005-631، ساخت تایوان) تعیین شد. برای این کار، حدود 10 گرم پودر یا 30 میلی‌لیتر نوشیدنی مدل (حجم بطری شیشه‌ای) در ظرف شیشه‌ای مخصوص هانتربل ریخته شد و شاخص قرمزی خوانده شد (Hamed Saberian, Hamidi-Esfahani, & Abbasi, 2013).

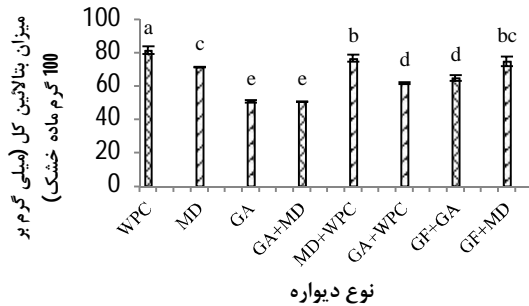
### روش تحلیل داده‌ها

در این تحقیق طرح‌های آماری مورد استفاده برای انجام

<sup>1</sup> One Factor at a Time

<sup>2</sup> MATLAB

ریزپوشانی را تحت تأثیر قرار دهد (Rosenberg, Kopelman, & Talmon, 1990). مطابق شکل (3)، بیشترین میزان بتالائین کل ریزکپسول‌ها مربوط به ریزکپسول WPC بود. بعد از آن، دیواره‌های دو جزئی WPC+MD و GF+MD قرار داشتند. کمترین میزان بتالائین کل نیز مربوط به ریزکپسول‌های حاوی صمغ عربی (GA) بود.

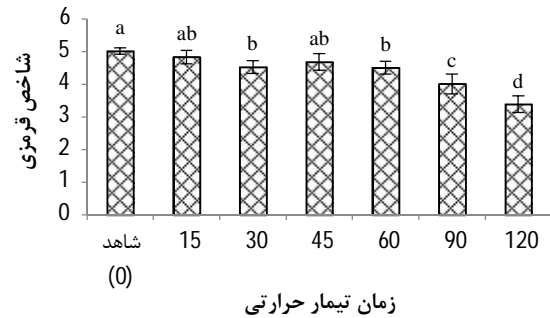


شکل 3- تأثیر نوع دیواره بر غلظت بتالائین پودر عصاره بتالائینی ریزپوشانی شده

Kumar و Bazaria (2017) نیز نتیجه مشابهی گرفتند و مشاهده کردند که WPC نسبت به MD و GA بتالائین بیشتری را طی خشک کردن حفظ نمود. Otálora, Nazareno, Iturriaga, Carriazo و Osorio (2015) بیان کردند که هیدرولیز، مکانیسم اصلی تخریب بتالائین به اسید بتالامیک طی نگهداری در شرایط نامطلوب (دما و رطوبت نسبی بالا) است و ریزپوشانی رنگ‌دانه بتانسیل مناسبی برای محافظت از آن دارد. حدادی و نجفی (1395) بیان کردند که به‌خاطر حساسیت بالای بتالائین، در مجاورت هوا سریع اکسید می‌شود. مالتودکسترین باعث افزایش پایداری رنگ‌دانه در برابر اکسیداسیون شده بود و صمغ عربی کمترین پایداری رنگ‌دانه را (بخصوص در غیاب اسید آسکوربیک) از خود نشان داده بود. آنها مخلوط صمغ عربی-مالتودکسترین را مخلوط مناسبی برای ریزپوشانی و افزایش پایداری بتالائین معرفی کردند (حدادی و نجفی، 1395).

Ravichandran و همکاران (2014) اثر ریزپوشانی بتالائین با استفاده از مالتودکسترین، صمغ گوار، صمغ عربی، پکتین و زانتان را در غلظت‌های مختلف بر پایداری این رنگ‌دانه مورد بررسی قرار دادند. بتالائین ریزپوشانی شده با زانتان و مالتودکسترین، 65 درصد

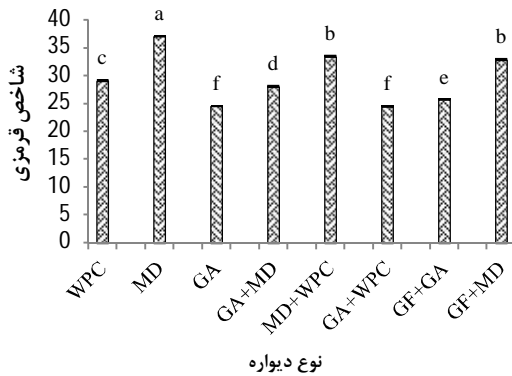
افزایش زمان حرارت‌دهی، شاخص قرمزی به‌طور معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) کاهش یافته است که همبستگی خوبی با میزان بتالائین (شکل 1) دارد و نشان‌دهنده تخریب بتالائین می‌باشد.



شکل 2- تأثیر زمان حرارت‌دهی در دمای 90 درجه سانتی‌گراد بر شاخص قرمزی بتالائین در نوشیدنی مدل

#### پایداری سازی بتالائین با روش ریزپوشانی

تأثیر نوع دیواره بر کارایی ریزپوشانی و میزان بتالائین کل بازده ریزپوشانی به پتانسیل مواد دیواره‌ای در حفظ مواد هسته‌ای درون ریزکپسول‌ها اشاره دارد. بازده ریزپوشانی همچنین مرتبط با عمر ماندگاری ماده محصورشده درون دیواره می‌باشد. یک ریزپوشانی موفق منجر به تولید ریزکپسولی با حداقل مواد سطحی بر ذرات ریزکپسول و حداکثر حفظ مواد هسته‌ای می‌شود. استفاده از مواد دیواره‌ای در نسبت مناسب برای ریزپوشانی ترکیبات فعال می‌تواند آنها را محافظت کرده و کارایی آنها را حفظ نماید (Rodrigues da Cruz, Andreotti Dagostin, Perussello, & Masson, 2019). کارایی ریزپوشانی تمام دیواره‌ها بیشتر از 97/5 درصد بود و هیچ تفاوت معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) بین ریزکپسول‌های تهیه‌شده با استفاده از مواد دیواره‌ای مختلف وجود نداشت (داده‌ها ذکر نشده‌اند). نتایج Pitchakarn, Surawang, Kanha, Laokuldilok و Regenstern (2019) نیز مشابه نتایج این تحقیق بود و حاکی از این بود که کارایی ریزپوشانی تمام نمونه‌ها بالای 96 درصد بود و اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌ها وجود نداشت. با این حال، برخی مطالعه‌ها حاکی از آن بودند که کارایی ریزپوشانی وابسته به ویسکوزیته دیواره میکروکپسول‌ها می‌باشد. اگرچه هنگامی که ویسکوزیته مواد دیواره‌ای از ویسکوزیته بهینه فراتر رود، تغییر ویسکوزیته نمی‌تواند به‌طور معنی‌داری کارایی



شکل 4- تأثیر نوع دیواره بر غلظت بتالائین پودر عصاره بتالائینی ریزپوشانی شده

ریزکپسول‌های تهیه‌شده طی مدت 28 روز (4 هفته) در دمای تسریع‌شده 40 درجه سانتی‌گراد و در معرض نور (حدود 3000 لوکس) نگهداری شدند و میزان بتالائین کل و شاخص‌های رنگی آنها اندازه‌گیری شد. نتایج حاکی از آن بود که شاخص قرمزی طی زمان نگهداری در دمای تسریع‌شده و در معرض نور تغییر معنی‌داری نداشت که می‌تواند حاکی از تأثیر دیواره‌ها بر محافظت از بتالائین باشد (داده‌ها ذکر نشده‌اند). Robert و Fredes (2015) گزارش کردند که ریزپوشانی بتاسیانین و بتاگرانترین با استفاده از پلی‌ساکاریدهایی از قبیل مالتودکسترین، ایزوله پروتئینی سویا و اینولین موجب افزایش پایداری آنها طی نگهداری در دمای 60 درجه سانتی‌گراد شد زیرا رنگ‌دانه‌ها را از هیدرولیز و اکسیداسیون در امان نگه‌داشت. آنها همچنین مشاهده کردند که رنگ‌دانه زرد بتاگرانترین نسبت به بتاسیانین در مقابل حرارت مقاوم‌تر بود. ثابت سرعت تخریب عصاره بتالائینی ریزپوشانی‌شده با مخلوط ایزوله پروتئینی سویا و مالتودکسترین به‌طور معنی‌داری کمتر از عصاره ریزپوشانی‌شده با ایزوله سویا و اینولین بود که نشانگر تأثیر نوع مخلوط پلی‌ساکاریدی-پروتئینی است (تأثیر بهتر دیواره حاوی مالتودکسترین نسبت به دیواره حاوی اینولین). اگرچه مالتودکسترین و اینولین هر دو پلی‌ساکارید هستند اما ساختار متفاوتی دارند که می‌تواند علت تفاوت در پایداری رنگ‌دانه باشد (Robert & Fredes, 2015) و Otalora و همکاران (2015) عصاره بتالائینی میوه کاکتوس را با مالتودکسترین و مخلوط مالتودکسترین و موسیلاژ کلادود<sup>1</sup> با روش

بازیابی بیشتری نسبت به نمونه شاهد داشت. علاوه بر این، میزان رنگ‌دانه در روش ریزپوشانی با استفاده از خشک‌کن انجمادی نسبت به خشک‌کن پاششی 1/3 برابر بیشتر بود. آنها بیان کردند که امکان استفاده از غلظت‌های بالای صمغ گوار و زانتان (1 درصد) در روش خشک‌کن پاششی وجود ندارد (Ravichandran *et al.*, 2014). Gandía-Herrero و Escribano (2010) نیز گزارش کردند که پایداری بتالائین طی ریزپوشانی با مالتودکسترین بهبود پیدا می‌کند. براساس تحقیق Hubinger و Brat, Pallet, Brabet, Tonon (2009)، در ریزکپسول‌های حاوی نسبت بالای صمغ عربی، به دلیل کاهش چگالی توده، فضای خالی بین ذرات زیاد شده و واکنش‌های اکسیداسیون به علت افزایش اکسیژن در بین ذرات، زیاد می‌شود که در نهایت منجر به کاهش مقدار رنگ‌دانه می‌شود. همچنین در مکانیسم دیگری با افزایش مقدار صمغ عربی در ریزکپسول‌ها، رطوبت هم افزایش یافته که باعث تحرک مولکولی زیاد شده و نفوذ اکسیژن و واکنش‌های اکسیداسیون افزایش یافته و در نتیجه مقدار رنگ‌دانه هم کاهش می‌یابد (Tonon *et al.*, 2009). باین‌حال، در این تحقیق بیشترین میزان بتالائین در ریزکپسول‌های حاوی کنسانتره پروتئین آب‌پنیر به‌دست آمد و مالتودکسترین و صمغ عربی در رتبه‌های بعدی قرار داشتند که می‌تواند حاکی از تأثیر متفاوت دیواره‌ها بر عصاره‌های مختلف باشد.

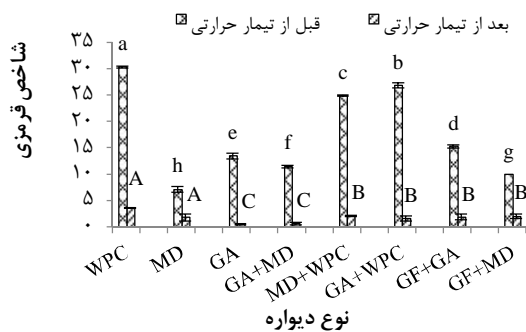
#### تأثیر نوع دیواره بر شاخص‌های رنگی

همان‌طور که در شکل (4) مشاهده می‌شود، بیشترین شاخص قرمزی ( $a^*$ ) مربوط به ریزکپسول MD بود در صورتی که بیشترین میزان بتالائین در ریزکپسول WPC مشاهده شده بود. سپس ریزکپسول‌های WPC+MD و GF+MD دارای بیشترین میزان شاخص قرمزی بودند که با آزمون بتالائین کل ریزکپسول‌ها تطابق دارد. بنابراین در این دو ریزکپسول، شاخص قرمزی بالاتر مربوط به غلظت بالاتر بتالائین در آنها می‌باشد. به نظر می‌رسد دیواره پروتئین آب‌پنیر به علت مات‌بودن، موجب پوشش رنگ‌دانه قرمز بتالائین شده و بنابراین اگرچه میزان بتالائین بیشتری را محافظت می‌کند اما قرمزی کمتری را نشان می‌دهد.

<sup>1</sup> Cladode mucilage



مطابق شکل (6)، شاخص قرمزی نوشیدنی مدل حاوی ریزکپسول‌ها به‌طور معنی‌داری تحت‌تأثیر تیمار حرارتی قرار گرفت و به شدت کاهش یافت. نوع دیواره نیز به‌طور معنی‌داری شاخص قرمزی را تحت‌تأثیر قرار داد. مطابق شکل (6)، بیشترین شاخص قرمزی مربوط به نوشیدنی مدل حاوی ریزکپسول‌های WPC و سپس نوشیدنی‌های مدل حاوی ریزکپسول‌های با دیواره ترکیبی WPC و GA و سپس WPC و MD بود. کمترین شاخص قرمزی نیز مربوط به ریزکپسول‌های MD بود. براین اساس، استفاده از ریزکپسول‌های حاوی کنسانتره پروتئین آب‌پنیر موجب حفظ و افزایش شاخص قرمزی در نوشیدنی‌های مدل شده است و ریزکپسولی که حاوی مالتودکسترین تنها بوده است کمترین شاخص قرمزی را در نوشیدنی ایجاد کرده است.

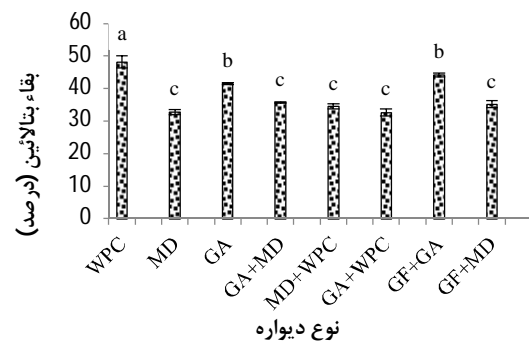


شکل 6- تأثیر نوع دیواره بر شاخص قرمزی نوشیدنی مدل حاوی ریزکپسول‌ها

Chung و همکاران (2016) مشاهده کردند که صمغ عربی موجب افزایش پایداری رنگ‌دانه شد که می‌تواند به علت واکنش رنگ‌دانه با قسمت گلیکوپروتئینی مولکول صمغ عربی باشد. طبق نتایج آنها، بیشترین پایداری رنگ‌دانه در نوشیدنی حاوی 1/5-0/35 درصد صمغ عربی حاصل شد. باین حال، افزایش غلظت صمغ عربی به 5-2/5 درصد موجب کاهش پایداری آنتوسیانین شد. این مسئله ممکن است ناشی از ازدحام بیش‌ازحد<sup>1</sup> مولکول‌های صمغ عربی در غلظت‌های بالا باشد که منجر به شکل‌گیری فشرده مولکول صمغ می‌شود. در نتیجه ممکن است به‌خاطر اثر ممانعت فضایی، واکنش بین رنگ‌دانه و گلیکوپروتئین کاهش پیدا کند (Chung et al., 2016).

خشک‌کن پاششی ریزپوشانی کردند تا پایداری رنگ‌دانه را طی نگهداری در دمای 18 درجه سانتی‌گراد بررسی کنند. افزودن موسیلاژ به فرمولاسیون موجب افزایش کارایی ریزپوشانی، کاهش میزان رطوبت، دستیابی به اندازه ذرات یکنواخت‌تر و گردتر شد که می‌تواند به علت کشش سطحی بالای زنجیره مولکولی موسیلاژ بعد از خشک‌کردن باشد. حضور موسیلاژ در دیواره باعث کاهش میزان رطوبت ریزکپسول و افزایش پایداری آن شد. افزایش غلظت مالتودکسترین در ریزکپسول‌ها موجب افزایش میزان رطوبت پودر شد، زیرا مالتودکسترین‌های با وزن مولکولی کم، زنجیره‌های کوتاه‌تر و گروه‌های هیدروفیلی بیشتری دارند. ریزکپسول‌های با دیواره مالتودکسترین و موسیلاژ، توانایی تشکیل دیواره‌ای متراکم و غیرقابل نفوذ به اکسیژن را دارد که موجب افزایش پایداری رنگ‌دانه طی زمان می‌شود (Otálora et al., 2015).

تأثیر ریزپوشانی بر پایداری بتالائین‌ها در نوشیدنی مدل ریزکپسول‌های تولیدشده در مرحله قبل، در نوشیدنی مدل حل شدند و تأثیر تیمار حرارتی در دمای 90 درجه سانتی‌گراد به مدت 6/33 دقیقه (زمان نیمه‌عمر بتالائین) بر پایداری بتالائین بررسی شد. همان‌طور که در شکل (5) مشاهده می‌شود، بیشترین میزان ماندگاری بتالائین کل (کمترین میزان تخریب) مربوط به ریزکپسول WPC بود و سپس ریزکپسول‌های صمغ عربی و مخلوط صمغ عربی و صمغ فارسی قرار داشتند. بین سایر ریزکپسول‌ها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. بنابراین کنسانتره پروتئین آب‌پنیر و همچنین صمغ‌های فارسی و عربی از پتانسیل مناسبی برای افزایش پایداری بتالائین در نوشیدنی مدل برخوردار بودند.



شکل 5- تأثیر نوع دیواره بر میزان بتالائین باقی‌مانده در نوشیدنی مدل حاوی ریزکپسول‌ها

<sup>1</sup> Overcrowding

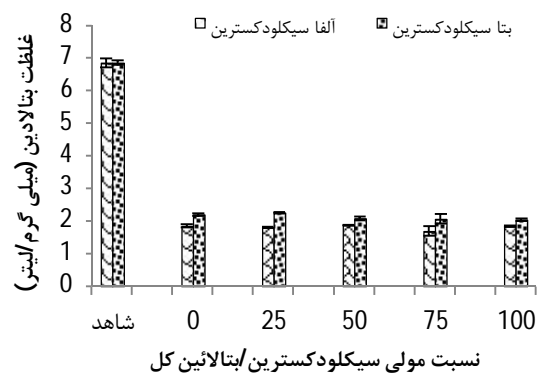
هیدروکسیل بتاسیکلودکسترین نسبت دادند. Fernandes و همکاران (2013) که تأثیر نسبت‌های مولی مختلف آلفا و بتاسیکلودکسترین (4-50 مول) به (1 مول) سیانیدین 3- گلیکوزید را بررسی می‌کردند، مشاهده کردند که افزودن بتاسیکلودکسترین منجر به کاهش رنگ محلول آنتوسیانینی شد زیرا شکل بدون رنگ آنتوسیانین در حفره سیکلودکسترین قرار گرفته و محافظت شده است. با این حال، با افزودن آلفاسیکلودکسترین، هیچ‌گونه تغییری در رنگ محلول آنتوسیانینی مشاهده نشد. آنها نتیجه گرفتند که به‌خاطر کوچک‌تر بودن حفره آلفاسیکلودکسترین نسبت به نوع بتا، ممکن است برهمکنش‌های زیادی بین حفره آلفاسیکلودکسترین و آنتوسیانین برقرار نشده است و بنابراین پیوندهای ضعیف‌تری برقرار شده است (Fernandes *et al.*, 2013).

Howard و همکاران (2013) مشاهده کردند که افزودن 3 درصد بتاسیکلودکسترین به عصاره چوک‌بری<sup>1</sup> در pHهای مختلف 2/8 تا 3/6 موجب افزایش غلظت آنتوسیانین محلول آزمون به میزان 49 درصد نسبت به نمونه شاهد شد. با این حال، نتایج تحقیق ما نیز حاکی از عدم تأثیر معنی‌دار آلفا و بتاسیکلودکسترین بر پایداری بتالائین در نوشیدنی مدل بود. اثر متفاوت بتاسیکلودکسترین ممکن است به‌خاطر این باشد که عصاره بتالائینی یا آنتوسیانینی گیاهان دارای ترکیبات فنولی دیگری است که به واکنش با بتاسیکلودکسترین کمک می‌کند. بنابراین، بتاسیکلودکسترین ممکن است در برخی از سیستم‌های غذایی جهت پایداری رنگ‌دانه‌ها مفید واقع شود (Fernandes *et al.*, 2013).

#### پایداری بتالائین با روش کوپیگمانتاسیون

در این مرحله، کوپیگمان‌های مهمی که در پژوهش‌های سایر محققین به‌عنوان کوپیگمان در پایداری رنگ‌دانه‌ها مؤثر شناخته شده بودند، به‌کار گرفته شد (Fan *et al.*, 2019; Shikov *et al.*, 2008; Weber *et al.*, 2017). تأثیر تیمار حرارتی در دمای 90 درجه سانتی‌گراد به مدت 6/33 دقیقه (زمان نیمه‌عمر بتالائین) بر پایداری بتالائین موجود در نوشیدنی مدل -که کوپیگمان‌های مختلف به آن افزوده شده بود- بررسی شد. همان‌طور که در شکل (8) مشاهده می‌شود، هیچ‌کدام از کوپیگمان‌های خالص تأثیری بر

پایداری بتالائین با استفاده از آلفا و بتاسیکلودکسترین ریزپوشانی آنتوسیانین‌ها با سیکلودکسترین‌ها فرایند مطلوبی جهت کاهش تخریب آنها گزارش شده است. آنتوسیانین‌ها قادر هستند با بتاسیکلودکسترین پیوند و تشکیل کمپلکس دهند تا از واکنش‌های هیدراتاسیون و پلی‌مریزاسیون در امان بمانند (Howard *et al.*, 2013). همان‌طور که در شکل (7) مشاهده می‌شود، افزودن آلفا و بتاسیکلودکسترین در نسبت‌های مولی مختلف سیکلودکسترین به بتالائین هیچ‌گونه تأثیر معنی‌داری بر پایداری بتالائین در نوشیدنی مدل نداشت.



شکل 7- تأثیر نسبت مولی بتاسیکلودکسترین به بتالائین بر پایداری بتالائین پس از تیمار حرارتی در 90 درجه سانتی‌گراد

توانایی مولکول‌های حلقوی برای تشکیل کمپلکس با یک مولکول مهمان وابسته به دو عامل می‌باشد: اول، ممانعت فضایی و اندازه سیکلودکسترین و مولکول مهمان و دوم، برهم‌کنش‌های ترمودینامیکی بین ترکیبات مختلف سیستم (سیکلودکسترین، مولکول مهمان و حلال). چندین نیرو از قبیل نیروهای واندروالسی (برهمکنش‌های آب‌گریز و دو قطبی-دو قطبی) و برهمکنش‌های پیوند هیدروژنی در واکنش بین حفره سیکلودکسترین و مولکول مهمان نقش دارند. این نیروها قادر به تشکیل کمپلکس پایدار و نه دائم هستند تا مولکول مهمان بتواند در موقعیت هدف رها شود و تأثیر خود را بگذارد (Bourvellec & Renard, 2003).

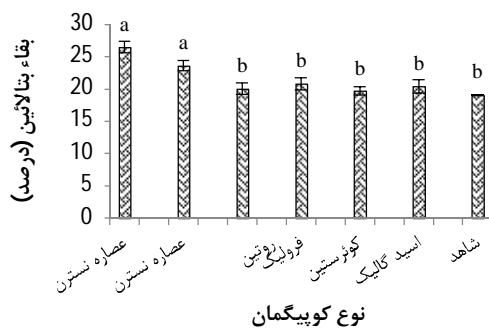
Tutunchi, Roufegarnejad, Hamishehkar و Alizadeh (2019) مشاهده کردند که افزودن بتاسیکلودکسترین به حلال استخراج و همچنین بعد از فرایند استخراج در عصاره‌های استخراج‌شده با آب موجب افزایش بتانین عصاره‌ها شد و علت آن را به تشکیل کمپلکس بین گروه‌های کربوکسیل بتانین و گروه‌های

<sup>1</sup> Chokeberry extract

می‌توانند از اکسیداسیون آنتوسیانین‌ها جلوگیری به عمل آورند (Weber *et al.*, 2017).

Kopjar, Bilić و Piližota (2014) پایداری آنتوسیانین‌ها با عصاره چای‌سبز را به کوپیگمانتاسیون نسبت دادند که موجب می‌شود تا از حمله مولکول‌های آب به یون فلاویلوم<sup>2</sup> و کاهش رنگ آن جلوگیری کنند. Karagyozev و Yoncheva, Shikov, Mihalev, Mollov (2007) برای پایداری آنتوسیانین توت‌فرنگی از عصاره گلبرگ رز در نسبت مولی 1:5 (عصاره گلبرگ رز (برحسب اسید گالیک) به آنتوسیانین) استفاده کردند و مشاهده کردند که با افزودن عصاره گلبرگ، زمان نیمه‌عمر از 131 روز به 173 روز افزایش یافت (Mollov *et al.*, 2007).

Ertan, Türkyılmaz و Özkan (2018) مشاهده کردند که اسید گالیک و عصاره پوست انار پایداری بیشتری را برای آنتوسیانین‌ها در نکتار آلبالو به ارمغان آورد اگرچه کمترین کدورت نیز در آغاز نگهداری و در نکتار حاوی عصاره پوست انار مشاهده شد و بنابراین عصاره پوست انار را به‌عنوان بهترین کوپیگمان (بدون توجه به نوع شیرین‌کننده) انتخاب کردند (Ertan *et al.*, 2018). اگرچه تاکنون گزارشی درمورد پایداری بتالائین با روش کوپیگمانتاسیون مشاهده نشد و کوپیگمان‌های خالص نیز در این مطالعه تأثیری بر پایداری بتالائین نداشتند، اما عصاره نسترن کوهی موجب افزایش بقاء بتالائین گردید که می‌تواند به وفور و تنوع ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی آن نسبت داده شود.



شکل 8- تأثیر کوپیگمان‌های مختلف بر شاخص‌های بقاء بتالائین کل در نوشیدنی مدل پس از تیمار حرارتی

پایداری بتالائین‌های نوشیدنی مدل نداشتند به طوری که میزان بقاء بتالائین‌های نوشیدنی‌های حاوی کوپیگمان‌های خالص، مشابه نمونه شاهد بود و تفاوت معنی‌داری با آن نداشتند. تنها عصاره نسترن کوهی در هر دو نسبت مولی 50:1 و 100:1 (معادل اسید گالیک) به بتالائین موجب افزایش بقاء بتالائین شد. میزان ترکیبات فنولی کل عصاره نسترن کوهی 14/56 گرم (معادل اسید گالیک) بر لیتر و میزان فلاونوئید کل موجود در آن 365 میلی‌گرم (معادل کوئرستین) بر لیتر به‌دست‌آمد. بنابراین براساس تحقیق‌های انجام‌شده (صابریان، 1399)، و نیز نتایج مربوط به میزان ترکیبات فنولی کل و فلاونوئید کل در این تحقیق، این افزایش بقاء بتالائین می‌تواند به حضور تنوعی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی موجود در عصاره نسبت داده شود.

Kanha و همکاران (2019) مشاهده کردند که قوی‌ترین واکنش کوپیگمانتاسیون در نسبت مولی 100:1 کاتکین<sup>1</sup> (نسبت به رنگ‌دانه) به‌دست‌آمد و اسید فرولیک و دوپامین در مرتبه‌های بعدی قرار داشتند. آنها مشاهده کردند که با افزایش زمان حرارت‌دهی و با افزایش دما از 50 به 90 درجه سانتی‌گراد، تخریب رنگ‌دانه آنتوسیانین افزایش یافت. با این حال، کوپیگمانتاسیون اثر مثبتی بر پایداری حرارتی رنگ‌دانه در حضور تمام کوپیگمان‌های فنولی داشت. حضور کاتکین در نسبت مولی 100:1، تخریب رنگ‌دانه را پس از پاستوریزاسیون از 22/44 درصد (نمونه شاهد) به 6/67 درصد کاهش داد (Kanha *et al.*, 2019).

He, Qin, Ding, Zhao و Duan (2020) مشاهده کردند که تفاوت‌های زیادی بین سیستم‌های مختلف پیگمان-کوپیگمان وجود داشت و توانایی ایجاد پیوند با آنتوسیانین‌ها در کوئرستین بیشتر از اپی‌کاتکین بود و اسید گالیک در مرتبه سوم قرار داشت. Weber و همکاران (2017) مشاهده کردند که حضور کوپیگمان‌های روتین و اسید فرولیک به‌طور قابل‌توجهی پایداری آنتوسیانین‌ها را طی انبارداری پودر آنتوسیانینی تولیدشده با استفاده از خشک‌کن پاششی افزایش داد. آنها بیان کردند که ترکیبات کوپیگمانی می‌تواند همانند محلول‌ها، تشکیل کمپلکس دهند و از این طریق از هیدراته‌شدن رنگ‌دانه‌ها توسط رطوبت موجود در محیط جلوگیری کنند. از طرف دیگر، به‌خاطر ویژگی آنتی‌اکسیدانی، کوپیگمان‌های افزوده‌شده

<sup>2</sup> Flavylium Ion

<sup>1</sup> Catechin

### نتیجه‌گیری

از میان دیواره‌های استفاده‌شده برای ریزپوشانی عصاره بتالائینی، WPC از سایرین مؤثرتر بود و بتالائین بیشتری را طی خشک‌کردن حفظ نمود و پس از به‌کاربردن ریزکپسول‌ها در نوشیدنی مدل نیز بیشترین بتالائین باقی‌مانده (محافظت‌شده) مربوط به ریزکپسول WPC بود. بنابراین دیواره پروتئینی، تأثیر مثبت بیشتری بر محافظت از بتالائین طی فرایندهای حرارتی داشته است. عصاره نسترن کوهی تأثیر معنی‌داری بر پایداری بتالائین طی تیمار حرارتی داشت و این تأثیر طی نگهداری در دمای تسریع‌شده و شرایط نور نیز برقرار بود. بنابراین کوپیگمانتاسیون بتالائین با عصاره نسترن کوهی می‌تواند موجب پایداری رنگ‌دانه طی تیمار حرارتی و نگهداری گردد. با این وجود، انجام پژوهش‌های بیشتر در زمینه کوپیگمانتاسیون رنگ‌دانه‌ها با عصاره‌های فنولی گیاهان و سایر ترکیبات از قبیل (سیستئین، اسیدهای آلی و کاتیون‌ها) ضرورت دارد.

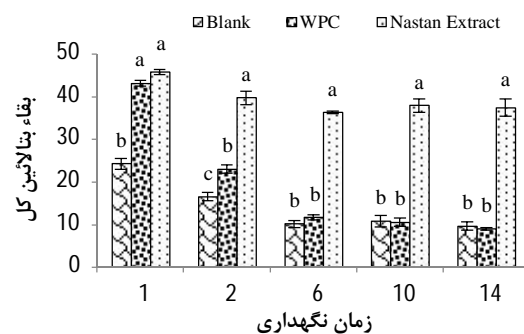
### تشکر و قدردانی

این طرح با حمایت مالی صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (INSF) در قالب طرح با عنوان «پایداری حرارتی بتالائین چغندرقرمز با استفاده از روش‌های کوپیگمانتاسیون و ریزپوشانی و کاربرد آن در نوشیدنی و کیک» با شماره 97009212 انجام شده است.

### مقایسه روش‌های پایداری بتالائین در نوشیدنی مدل

#### طی نگهداری

ریزکپسول WPC و عصاره نسترن کوهی در نسبت مولی 50:1 (معادل اسید گالیک به بتالائین) به‌عنوان نمونه‌های بهینه پایداری بتالائین انتخاب شدند و در آزمون نگهداری به‌کارگرفته شدند. مطابق شکل (9)، طی زمان نگهداری، میزان بتالائین در نوشیدنی مدل شاهد به شدت کاهش پیدا کرد اما عصاره نسترن کوهی توانست به‌طور معنی‌داری موجب بقاء بتالائین تا روز 14ام شود که می‌تواند به حضور تنوعی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی موجود در عصاره نسبت داده شود. نوشیدنی مدل حاوی ریزکپسول WPC نیز در روزهای اول و دوم نگهداری به‌طور معنی‌داری موجب بقاء بتالائین شد اما پس از آن به شدت کاهش یافت و با نمونه شاهد مشابه شد. این مسئله می‌تواند به علت حل‌شدن دیواره WPC در نوشیدنی و از بین رفتن اثر حفاظت‌کنندگی آن بوده باشد.



شکل 9- تأثیر روش‌های مختلف پایداری بر بقاء بتالائین طی زمان نگهداری در دمای 40 درجه سانتی‌گراد و شرایط نور

### منابع

- حدادی، ط. و نجفی، م. (1395). تعیین راندمان استخراج و پایداری رنگدانه بتالائین چغندرقرمز. فناوری‌های جدید در صنعت غذا، 4(3)، 57-63. doi:<https://dx.doi.org/10.22104/jift.2016.326>
- سازمان ملی استاندارد ایران [ISIRI]، (1398). افزودنی‌های خوراکی مجاز-رنگ‌های خوراکی-فهرست و ویژگی‌های عمومی. استاندارد ملی ایران به شماره 740، تجدیدنظر ششم. برگرفته از <https://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=51687>
- صابریان، ح. (1397). مقایسه ویژگی‌های کیفی پودر میوه نسترن کوهی از چند منطقه ایران با نمونه تجاری وارداتی. مجله علوم و صنایع غذایی ایران، 15(82)، 139-149.
- صابریان، ح. (1399). تولید مکمل غذایی نسترن کوهی به صورت کپسول جهت درمان آرتروز. پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، ایران:

- Bazaria, B., & Kumar, P. (2017). Comparative analysis of bio-polymers addition on structural and physical properties of spray dried beetroot juice concentrate. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(6), e13232. doi: <https://doi.org/10.1111/jfpp.13232>
- Bourvellec, C. L., & Renard, C. (2003). *Association entre les procyanidols et les polymères pariétaux de pommes: quantification et conséquences.*
- Carmo, E. L. d., Teodoro, R. A. R., Félix, P. H. C., Fernandes, R. V. d. B., Oliveira, É. R. d., Veiga, T. R. L. A., . . . Botrel, D. A. (2018). Stability of spray-dried beetroot extract using oligosaccharides and whey proteins. *Food Chemistry*, 249, 51-59. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.12.076>
- Chang, C., Yang, M., Wen, H.-M., & Chern, J. C. (2002). (Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10, 178-182. doi: <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- Chhikara, N., Kushwaha, K., Sharma, P., Gat, Y., & Panghal, A. (2019). (Bioactive compounds of beetroot and utilization in food processing industry: A critical review. *Food Chemistry*, 272, 192-200. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.022>
- Chung, C., Rojanasasithara, T., Mutilangi, W., & McClements, D. J. (2015). Enhanced stability of anthocyanin-based color in model beverage systems through whey protein isolate complexation. *Food Research International*, 76, 761-768. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.003>
- Chung, C., Rojanasasithara, T., Mutilangi, W & „McClements, D. J. (2016). Enhancement of colour stability of anthocyanins in model beverages by gum arabic addition. *Food Chemistry*, 201, 14-22. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.051>
- Delgado-Vargas, F., Jiménez, A. R., & Paredes-López, O. (2000). Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains — Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(3), 173-289. doi: <https://doi.org/10.1080/10408690091189257>
- Drunkler, D. A., Fett ,R., & Luiz, M. T. B. (2006). The evaluation of stability of betalains in beetroot (beta vulgaris l.) extract add to of &#945;- , β- and γ-cyclodextrins. 2006. doi: <http://dx.doi.org/10.5380/cep.v24i1.5272>
- Ercisli, S. (2007). Chemical composition of fruits in some rose (Rosa spp.) species. *Food Chemistry*, 104(4), 1379-1384. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.053>
- Ertan, K., Türkyılmaz, M., & Özkan, M. (2018). Effect of sweeteners on anthocyanin stability and colour properties of sour cherry and strawberry nectars during storage. *Journal of Food Science and Technology*, 55(10), 4346-4355. doi: <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3387-4>
- Fan, L., Wang, Y., Xie, P., Zhang, L., Li, Y., & Zhou, J. (2019). Copigmentation effects of phenolics on color enhancement and stability of blackberry wine residue anthocyanins: Chromaticity, kinetics and structural simulation. *Food Chemistry*, 275, 299-308. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.103>
- Faridah, A., Holinesti, R., & Syukri, D. (2015). Betalains from Red Pitaya Peel (Hylocereus polyrhizus): Extraction, Spectroscopic & HPLC-DAD Identification, Bioactivity & Toxicity Screening. *Pakistan Journal of Nutrition*, 14(12), 976-982. doi: <https://doi.org/10.3923/pjn.2015.976.982>
- Fernandes, A., Sousa ,A., Azevedo, J., Mateus, N., & de Freitas, V. (2013). Effect of cyclodextrins on the thermodynamic and kinetic properties of cyanidin-3-O-glucoside. *Food Research International*, 51(2), 748-755. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.01.037>
- Gandía-Herrero, F., Escribano, J., & García-Carmona, F. (2010). Structural implications on color, fluorescence, and antiradical activity in betalains. *Planta*, 232(2), 449-460. doi: <https://doi.org/10.1007/s00425-010-1191-0>

- Ge, J., Yue, P., Chi, J., Liang, J., & Gao, X. (2018). Formation and stability of anthocyanins-loaded nanocomplexes prepared with chitosan hydrochloride and carboxymethyl chitosan. *Food Hydrocolloids*, 74, 23-31. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.07.029>
- Haddadi, T., & Najafi, M. A. (2016). Determining extraction efficiency and betalain pigment stability of red beetroot. *Innovative Food Technologies*, 3(4), 57-63. doi:<https://dx.doi.org/10.22104/jift.2016.326> (in Persian)
- Herbach, K. M., Stintzing, F. C., & Carle, R. (2006). Betalain Stability and Degradation—Structural and Chromatic Aspects. *Journal of Food Science*, 71(4), R41-R50. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00022.x>
- Howard, L. R., Brownmiller, C., Prior, R. L., & Mauromoustakos, A. (2013). Improved Stability of Chokeberry Juice Anthocyanins by  $\beta$ -Cyclodextrin Addition and Refrigeration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(3), 693-699. doi:<https://doi.org/10.1021/jf3038314>
- Kanha, N., Surawang, S., Pitchakarn, P., Regenstein, J. M., & Laokuldilok, T. (2019). Copigmentation of cyanidin 3-O-glucoside with phenolics: Thermodynamic data and thermal stability. *Food Bioscience*, 30, 100419. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100419>
- Khan, M. I. (2016). Stabilization of betalains: A review. *Food Chemistry*, 197, 1280-1285. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.043>
- Khan, M. I., & Giridhar, P. (2014). Enhanced chemical stability, chromatic properties and regeneration of betalains in *Rivina humilis* L. berry juice. *LWT - Food Science and Technology*, 58(2), 649-657. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.027>
- Kopjar, M., Bilić, B., & Piližota, V. (2014). Anthocyanins, phenols, and antioxidant activity in blackberry juice with plant extracts addition during heating. *Acta Alimentaria*, 43(2), 333-343. doi:<https://doi.org/10.1556/aalim.43.2014.2.18>
- Manchali, S., Murthy, K. N. C., Nagaraju, S., & Neelwarne, B. (2013). Stability of betalain pigments of red beet *Red beet biotechnology* (pp. 55-74): Springer.
- Mazza, G., & Miniati, E. (2018). *Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains*: CRC press.
- Mohamad, M. F., Dailin, D. J., Gomaa, S. E. E. D., Nurjayadi, M., & Enshasy, H. A. E. (2019). Natural Colorant For Food: A Healthy Alternative. *Int J Sci Technol Res*, 8, 3161-3166 .
- Mollov, P., Mihalev, K., Shikov, V., Yoncheva, N., & Karagyozov, V. (2007). Colour stability improvement of strawberry beverage by fortification with polyphenolic copigments naturally occurring in rose petals. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(3), 318-321. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.03.004>
- Organization, I. N. S. (2019). *Permitted food additives- Food colors- List and general specifications*. ISIRI Standard No. 740, 6<sup>th</sup> Revision. Retrieved from <https://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=51687> (in Persian)
- Otálora, M. C., Carriazo, J. G., Iturriaga, L., Nazareno, M. A., & Osorio, C. (2015). Microencapsulation of betalains obtained from cactus fruit (*Opuntia ficus-indica*) by spray drying using cactus cladode mucilage and maltodextrin as encapsulating agents. *Food Chemistry*, 187, 174-181. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.090>
- Prieto-Santiago, V., Cavia, M. M., Alonso-Torre, S. R., & Carrillo, C. (2020). Relationship between color and betalain content in different thermally treated beetroot products. *Journal of Food Science and Technology*, 57(9), 3305-3313. doi:<https://doi.org/10.1007/s13197-020-04363-z>
- Rahimi, S., & Abbasi, S. (2014). Characterization of some physicochemical and gelling properties of Persian gum. *Innovative Food Technologies*, 1(4), 13-27. doi:<https://dx.doi.org/10.22104/jift.2014.47>

- Ravichandran, K., Palaniraj, R., Saw, N. M. M. T., Gabr, A. M. M., Ahmed, A. R., Knorr, D., & Smetanska, I. (2014). Effects of different encapsulation agents and drying process on stability of betalains extract. *Journal of Food Science and Technology*, 51(9), 2216-2221. doi:<https://doi.org/10.1007/s13197-012-0728-6>
- Righi da Rosa, J., Nunes, G. L., Motta, M. H., Fortes, J. P., Cezimbra Weis, G. C., Rycheki Hecktheuer, L. H., . . . Severo da Rosa, C. (2019). Microencapsulation of anthocyanin compounds extracted from blueberry (*Vaccinium* spp.) by spray drying: Characterization, stability and simulated gastrointestinal conditions. *Food Hydrocolloids*, 89, 742-748. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.11.042>
- Robert, P., & Fredes, C. (2015). The Encapsulation of Anthocyanins from Berry-Type Fruits. *Trends in Foods. Molecules*, 20(4), 5875-5888. doi:<https://doi.org/10.3390/molecules20045875>
- Rodrigues da Cruz, M. C., Andreotti Dagostin, J. L., Perussello, C. A., & Masson, M. L. (2019). Assessment of physicochemical characteristics, thermal stability and release profile of ascorbic acid microcapsules obtained by complex coacervation. *Food Hydrocolloids*, 87, 71-82. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.07.043>
- Rosenberg, M., Kopelman, J. J., & Talmon, Y. (1990). Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(5), 1288-1294. doi:<https://doi.org/10.1021/jf00095a030>
- Saberian, H. (2018). Comparison of the quality properties of the rosehip powder from several regions of Iran with commercial samples. *Journal of Food Science and Technology*, 15(82), 139-149. (in Persian)
- Saberian, H. (2020). *Research project of production of food supplement of the rosehip as capsule for treatment of arthritis*. Retrieved from Research Institute of Food Science and Technology, ACECR, Khorasan Razavi, Iran (in Persian)
- Saberian, H., Hamidi-Esfahani, Z., & Abbasi, S. (2013). Effect of pasteurization and storage on bioactive components of Aloe vera gel. *Nutrition & Food Science*, 43(2), 175-183. doi:<https://doi.org/10.1108/00346651311313553>
- Shikov, V., Kammerer, D. R., Mihalev, K., Mollov, P., & Carle, R. (2008). Heat Stability of Strawberry Anthocyanins in Model Solutions Containing Natural Copigments Extracted from Rose (*Rosa damascena* Mill.) Petals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(18), 8521-8526. doi:<https://doi.org/10.1021/jf801946g>
- Skopinska, A., Szot, D., & Wybraniec, T. (2015). *The effect of citric acid and matrix of B. vulgaris L. juice on thermal stability of betalains*.
- Tonon, R. V., Brabet, C., Pallet, D., Brat, P., & Hubinger, M. D. (2009). Physicochemical and morphological characterisation of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) powder produced with different carrier agents. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(10), 1950-1958. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02012.x>
- Tutunchi, P., Roufegarinejad, L., Hamishehkar, H., & Alizadeh, A. (2019). Extraction of red beet extract with  $\beta$ -cyclodextrin-enhanced ultrasound assisted extraction: A strategy for enhancing the extraction efficacy of bioactive compounds and their stability in food models. *Food Chemistry*, 297, 124994. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.124994>
- Weber, F., Boch, K., & Schieber, A. (2017). Influence of copigmentation on the stability of spray dried anthocyanins from blackberry. *LWT*, 75, 72-77. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.042>
- Zhao, X., Ding, B.-W., Qin, J.-W., He, F., & Duan, C.-Q. (2020). Intermolecular copigmentation between five common 3-O-monoglucosidic anthocyanins and three phenolics in red wine model solutions: The influence of substituent pattern of anthocyanin B ring. *Food Chemistry*, 326, 126960. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126960>

## Thermal Stabilization of the Betalain Extract Using Encapsulation and Co-pigmentation and its Application in the Model Drink

Hamed Saberian<sup>1\*</sup>, Vahid Pasban Noghabi<sup>2</sup>

1- Assistant Professor, Department of Food Additives, Food Science and Technology Research Institute, ACECR, Khorasan Razavi, Mashhad, Iran

\* Corresponding author (Saberian@acecr.ac.ir)

2- MSc. Student, Department of Food Science and Technology, ACECR, Kashmar Higher Education Institute, Kashmar, Iran

### Abstract

One of the important challenges about using of the betalains is their low stability against light and heat. Therefore, the main goal of this research was to stabilize the extracted betalain from red beet against thermal treatments. To investigate the thermal stability of the betalain, encapsulation (using maltodextrin, gum Arabic, gum farsi, whey protein concentrate (WPC) and alpha and beta cyclodextrins) and co-pigmentation method using pure co-pigments such as gallic acid, ferulic acid, quercetin and rutin (at different molar ratios of 2.5-100:1 co-pigment/betalain) and rosehip extract (at two molar ratios of 50:1 and 100:1 gallic acid equivalent/betalain) were applied. The results indicated that WPC was the most effective wall material which maintained the higher betalain (81.50 mg/100 g powder) during drying and, after using the microcapsules in the model drink, the highest retained betalain (48.20 %) was related to the WPC microcapsules. Alpha and beta cyclodextrins and pure phenolic co-pigments did not have any significant effect on the betalain stability. Rosehip extract at two molar ratios of 50:1 and 100:1 (gallic acid equivalent/betalain) led to increasing of the betalain retention which was also obvious during storage at accelerated temperature and light condition, even after 14 days; so that the betalain content of the sample containing rosehip extract did not decreased during 14 days storage.

**Keywords:** Betalain extract, Co-pigment, Encapsulation, Stabilization