



Encapsulation of curcumin by chia seed protein and mucilage hydrogels: Evaluation of stability and kinetic release

Maryam Nafar¹ | Mehdi Varidi¹ | Zahra Emam-Djomeh² | Seyed Vali Hosseini³

1. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Mashhad Ferdowsi University, Mashhad, Iran. E-mail: m.nafar@mail.um.ac.ir

2. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Mashhad Ferdowsi University, Mashhad, Iran. E-mail: m.varidi@um.ac.ir

3. Corresponding Author, Department of Food Science, Technology and Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: emamj@ut.ac.ir

4. Department of Fisheries, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: hosseinisv@ut.ac.ir

Article Info

Article type: Research Article

Article history:

Received: Feb. 24, 2024

Revised: Aug. 19, 2024

Accepted: Sep. 10, 2024

Published online: Spring 2024

Keywords:

Chia seed protein,
Controlled release,
Curcumin,
Mucilage

ABSTRACT

Curcumin as a natural hydrophobic compound has anti-microbial and anti-cancer properties, but its low stability and high sensitivity have limited the bioavailability of this compound. The purpose of this research is to design chia seed protein and mucilage hydrogel for curcumin encapsulation. The encapsulation of this compound in the hydrogel structure can be an effective way to protect this compound during digestion in the digestive tract. For this purpose, first, hydrogel protein and mucilage 12.5% , which was optimized in terms of texture characteristics. The release behavior of curcumin in two conditions of stomach and intestine simulation for protein and mucilage 7.5% and 12.5% hydrogels were evaluated. The results showed that curcumin loaded in hydrogel protein and mucilage 12.5% has a better stability to free curcumin during heat and optical operations. The results related to the controlled release in laboratory conditions indicated that the total amount of curcumin release during gastric-intestinal digestion was 60.71% for the sample containing 7.5% protein and mucilage and 27.30% for the sample containing 12.5% protein and mucilage. As a result, the release rate of curcumin decreased with the increase of mucilage concentration in the simulated conditions of the stomach and intestine, which can show the good ability of combined hydrogels to protect curcumin in gastrointestinal conditions and deliver it to the colon. The release behavior of curcumin in the gastrointestinal tract was of the Fickian release type.

Cite this article: Nafar, M., Varidi, M., Emam-Djomeh, Z., Hosseini, S. V., (2024) Encapsulation of curcumin by chia seed protein and mucilage hydrogels: Evaluation of stability and kinetic release, *Iranian Journal of Biosystem Engineering*, 55 (1), 33-49. <https://doi.org/10.22059/ijbse.2024.372951.665539>

© The Author(s).

Publisher: The University of Tehran Press.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijbse.2024.372951.665539>



درون پوشانی کورکومین با هیدروژل‌های پروتئین و موسیلاژ دانه چیا: ارزیابی پایداری و کینتیک رهایش

مریم نفر^۱ | مهدی وریدی^۲ | زهرا امام‌جمعه^۳ | سید ولی حسینی^۴^۱ گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. رایانامه: m.nafar@mail.um.ac.ir^۲ گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. رایانامه: m.varidi@um.ac.ir^۳ نویسنده مسئول، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه:emamj@ut.ac.ir^۴ گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: hosseiniv@ut.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	کورکومین به‌عنوان یک ترکیب طبیعی هیدروفوب دارای خواص ضد میکروبی و ضد سرطانی می‌باشد، اما پایداری کم و حساسیت بالای آن باعث محدودیت زیست‌فراهمی این ترکیب شده است. هدف از این پژوهش طراحی هیدروژل پروتئین و موسیلاژ دانه چیا جهت درون‌پوشانی کورکومین است. درون‌پوشانی این ترکیب در ساختار هیدروژل، می‌تواند روشی موثر برای محافظت این ترکیب طی شرایط هضم دستگاه گوارشی باشد. به همین منظور ابتدا هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد از نظر خصوصیات بافتی بهینه شد. رفتار رهایش کورکومین در دو شرایط شبیه‌سازی معده و روده برای هیدروژل‌های پروتئین و موسیلاژ ۷/۵ درصد و ۱۲/۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که کورکومین بارگذاری شده در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد، پایداری بهتری نسبت به کورکومین آزاد در طول عملیات حرارتی و نوری دارد. نتایج مربوط به رهایش کنترل شده در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که مقدار کلی رهایش کورکومین در طی هضم معده - روده‌ای برای نمونه حاوی ۷/۵ درصد پروتئین و موسیلاژ، ۶۰/۷۱ درصد و برای نمونه حاوی ۱۲/۵ درصد پروتئین و موسیلاژ، ۲۷/۳۰ درصد بود، در نتیجه سرعت رهایش کورکومین با افزایش غلظت موسیلاژ در شرایط شبیه‌سازی شده معده و روده کاهش یافت که می‌تواند نشان‌دهنده توانایی خوب هیدروژل‌های ترکیبی برای حفاظت از کورکومین در شرایط معده-روده و رسانش آن به روده بزرگ باشد. رفتار رهایش کورکومین در شرایط دستگاه گوارش از نوع انتشار فیکو بود.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۵	
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۵/۲۹	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۶/۲۰	
تاریخ انتشار: بهار ۱۴۰۳	
واژه‌های کلیدی: پروتئین دانه چیا، رهایش کنترل شده، کورکومین موسیلاژ	

استناد: نفر؛ مریم، وریدی؛ مهدی، امام جمعه؛ زهرا، حسینی؛ سیدولی (۱۴۰۳) درون‌پوشانی کورکومین با هیدروژل‌های پروتئین و موسیلاژ دانه چیا: ارزیابی پایداری و کینتیک رهایش، مجله مهندسی بیوسیستم ایران، ۵۵ (۱)، ۳۳-۴۹. <https://doi.org/10.22059/ijbse.2024.372951.665539>



© نویسندگان.

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijbse.2024.372951.665539>

مقدمه

کورکومین به‌عنوان یک ترکیب زیست‌فعال چربی‌دوست دارای خواص سلامتی‌بخش ویژه‌ای می‌باشد اما به‌دلیل ویژگی‌های همچون حلالیت بسیار پایین در محیط آبی، حساسیت به شرایط محیطی به‌ویژه دما، نور، pH و زیست‌فراهمی کم در سیستم گوارشی، کاربرد این ماده در صنایع غذایی محدود شده است (موسوی بایگی و همکاران، ۱۴۰۲). بر اساس تحقیقات انجام شده در مورد کورکومین، مهمترین چالش این ترکیب رسانش آن در بدن است. بنابراین، به‌عنوان یک ماده هیدروفوب و حساس به pH باید حاملی برای آن طراحی شود که هم هیدروفوب و هم هیدروفیل باشد و همچنین نسبت به pH معده مقاومت داشته باشد. به‌منظور پایداری و بهبود دسترسی زیستی کورکومین، از ترکیباتی چون میسل‌ها، لیپوزوم‌ها، امولسیون‌ها، ذرات لیپیدی جامد و ذرات بیوپلیمری استفاده شده است (Zheng et al., 2020). از معایب روش‌های فوق، می‌توان به راندمان پایین، پیچیده بودن فرآیند، عدم تبخیر کامل حلال، هزینه تولید بالا و نیمه‌عمر پایین، ظرفیت کم درون‌پوشانی، استعداد بالای اکسیداسیون و هیدرولیز اشاره کرد. استفاده از هیدروژل‌ها، یکی از ساده‌ترین، ارزان‌ترین و قابل کنترل‌ترین روش‌های پوشش‌دهی کورکومین است. هیدروژل‌ها، شبکه‌های پلیمری آبدوست، سه‌بعدی و با اتصالات عرضی هستند (Rafiee et al., 2018). در سال‌های اخیر توجه جهانی به گسترش محصولات بر پایه پروتئین گیاهی در حال افزایش است که علت آن پایداری، هزینه کمتر، کاهش خطر شیوع بیماری‌های گوناگون و دلایل فرهنگی می‌باشد (Kim et al., 2014). دانه چیا، از بهترین و غنی‌ترین منابع پروتئین گیاهی و یک عامل ژل‌ساز است. از ارزش‌های اقتصادی پروتئین چیا می‌توان به مواردی همچون پروتئینی نسبتاً کامل، دارای ۹ اسید آمینه ضروری شامل: لیزین، لوسین، ایزولوسین، والین، فنیل آلانین، تریپتوفان، هیستیدین، ترئونین و متیونین و مناسب برای بیماران سلپیک به علت نداشتن گلوتن اشاره کرد (Katunzi-Kilewela et al., 2021). همچنین به علت داشتن خواص عملکردی خوب و تشکیل ژل می‌تواند کاربرد زیادی در صنایع غذایی و دارویی داشته باشد (Katunzi-Kilewela et al., 2021). با توجه به اینکه پروتئین دانه چیا به‌عنوان هیدروژل استفاده شده است اما مطالعات نشان می‌دهد که هیدروژل حاصله از استحکام چندانی برخوردار نمی‌باشد. لذا در این پژوهش، این هیدروژل با استفاده از موسیلاژ دانه چیا استحکام بخشیده شده است. موسیلاژ یک هتروپلی‌ساکارید آب‌دوست است (Hsieh et al., 2022). این ترکیب به‌عنوان یک تراوش طبیعی در محلول آبی است که می‌تواند تا چندین برابر وزن خود آب جذب کند. پس از هیدراتاسیون، یک محلول ژلاتینی تشکیل می‌شود و قدرت ژل را افزایش می‌دهد (Katunzi-Kilewela et al., 2021). از موسیلاژ می‌توان به‌عنوان تثبیت‌کننده، غلیظ‌کننده، قوام‌دهنده و امولیسفایر در صنایع غذایی استفاده کرد (Hsieh et al., 2022). موسیلاژ دانه چیا به‌عنوان عامل قوام‌دهنده در شکل‌گیری هیدروژل نقش دارد. با توجه به موارد فوق، هدف از این پژوهش بررسی پایداری کورکومین در شرایط محیطی به‌ویژه نور و دما و ارزیابی دسترسی زیستی از طریق به‌دام‌اندازی در هیدروژل در شرایط سیستم شبیه‌سازی شده معده و روده است. در این پژوهش، ابتدا شرایط فرآیند تولید هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد حاوی کورکومین بهینه شد و سپس خصوصیات هیدروژل بهینه شده بررسی گردید و رهاش آن تحت شرایط شبیه‌سازی معده و روده مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

دانه‌های چیا از شرکت جام نور طلایی ایران تهیه گردید. کورکومین با درصد خلوص بالای ۹۶ درصد از شرکت بایوسبیک (کانادا)، پپسین، پانکراتین و سدیم کلرید از شرکت سیگما آلدریج^۲ (آمریکا)، اتانول ۹۶ درصد از شرکت هامون طب مرکزی (ایران)، اسید هیدروکلریک ۳۷ درصد، اسید سیتریک، اسید بوریک و اسید سولفوریک ۹۸ درصد از شرکت دکتر مجللی (ایران)، مونوپتاسیم فسفات از شرکت مرک^۳ (آلمان)، متانول، هگزان نرمال و سدیم هیدروکسید (NaOH) از شرکت باراد (ایران) تهیه شدند.

استخراج و خالص‌سازی موسیلاژ

در ابتدا آب شهری با نسبت یک به پنج (حجمی / وزنی) به دانه‌های چیا اضافه شد، سپس در دمای اتاق و به‌مدت یک ساعت به‌کمک همزن دستی (HR1577, Philips) ساخت کشور چین) هم‌زده شدند، جداسازی دانه‌های متورم احاطه شده با لایه ژل مانند از طریق فیلتر کردن با خلا و بواسطه مش (۱۰۰ میکرومتر) در ۲۲۰ مگابار انجام شد. سپس محلول موسیلاژ توسط اواپراتور تحت خلا (R-215, Bocchi) ساخت کشور سوئیس) در ۵۵ درجه سلسیوس تغلیظ شد (Marin Flores, 2008). ماده خشک موسیلاژ غلیظ حدود

۱/۶۱ ± ۳/۲۰ % به دست آورده شد.

استخراج ایزوله پروتئین

ابتدا آرد دانه چیا با استفاده از دستگاه آسیاب آزمایشگاهی (Moulinex، AR100، ساخت کشور چین) و عبور از مش با اندازه منافذ ۰/۵ میلی متر تهیه شد. آرد حاصل جهت حذف چربی به نسبت ۱ به ۵ (وزنی/حجمی) با هگزان نرمال مخلوط گردید و به مدت یک ساعت در دمای آزمایشگاه و توسط همزن مغناطیسی، چربی گیری شد. سپس این مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۸۰۰۰ g و دمای ۴ درجه سلسیوس، سانتریفیوژ (Partazma، ساخت کشور ایران) شد (Boye et al., 2010). آرد فاقد چربی و موسیلاژ با نسبت یک به بیست (وزنی/حجمی) با آب مقطر مخلوط شد و توسط محلول سود یک نرمال به pH=۱۲ رسانده شد. این سوسپانسیون به مدت یک ساعت روی همزن (Stewart، ساخت کشور انگلستان) مخلوط شد و با دور ۱۰۰۰۰ g به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق (۲۵ درجه سلسیوس) سانتریفیوژ (Partazma، ساخت کشور ایران) گردید. سپس محلول شفاف جدا شده با استفاده از اسیدسیتریک ۲ مولار، به pH=۳ رسانده شد و به مدت یک شب در دمای یخچال (۴-۷ درجه سلسیوس) نگهداری شد سپس رسوب اسیدی در دور ۷۰۰۰ g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. رسوب سانتریفیوژ با آب مقطر دیونیزه سه بار شستشو شد و توسط خشک کردن انجمادی خشک و در دمای ۲ درجه سلسیوس نگهداری شد (Wang et al., 2016).

اندازه گیری میزان پروتئین به روش کلدال

در این روش، اندازه گیری نیتروژن کل به سه مرحله کلی هضم، تقطیر و تیتراسیون تقسیم بندی شد. به منظور برآورد درصد نیتروژن ابتدا نمونه مورد نظر توسط اسید سولفوریک هضم شد و نیتروژن موجود به سولفات آمونیوم تبدیل شد. سپس نیتروژن موجود در سولفات آمونیوم به صورت آمونیاک آزاد و توسط اسیدبوریک به بورات آمونیوم تبدیل شد و با استفاده از اسیدسولفوریک ۰/۱ نرمال تیتراژ شد و آنگاه با محاسبه اسید مصرفی، مقدار نیتروژن به دست آورده شد. سپس مقدار نیتروژن در فاکتور پروتئین که ۶/۲۵ است، ضرب شد (سزپلازا و همکاران، ۲۰۱۳). در این تحقیق برای تعیین مقدار پروتئین، از دستگاه کلدال (Tekator، KJELTEC AUTO1030 Analyzer، ساخت کشور سوئد) استفاده شد.

با استفاده از این روش، از ۲۰۰ گرم آرد فاقد چربی، 0.1 ± 57.68 درصد پروتئین و ۹/۲۲ درصد نیتروژن، با سه بار تکرار بدست آورده شد. از ضریب ۶/۲۵ برای تبدیل نیتروژن تام به پروتئین استفاده شد (سزپلازا و همکاران، ۲۰۱۳).

آماده سازی محلول پروتئین، موسیلاژ و کورکومین حل شده در اتانول آبی ۵۰ درصد

ابتدا محلول مادر پروتئین در غلظت های (۷/۵، ۱۰، ۱۲/۵، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ درصد وزنی/وزنی) به وسیله اضافه کردن آب مقطر به پودر تهیه شد و سپس pH محلول توسط سود ۱ مولار بر روی 0.12 ± 0.07 تنظیم شد. همچنین با اضافه کردن محلول مادر موسیلاژ دانه چیا تغلیظ شده در غلظت های (۷/۵، ۱۰، ۱۲/۵، ۱۵ درصد وزنی/وزنی) در دمای اتاق و همزنی به مدت ۲ ساعت (۱۲۰۰ rpm) محلول پروتئین و موسیلاژ تهیه شد. سپس به منظور آب دار شدن کامل مولکول های پروتئین و موسیلاژ، به مدت یک شب در دمای یخچال (۴-۷ درجه سلسیوس) نگهداری شدند. روز بعد، محلول پروتئین و موسیلاژ در ۹۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه حرارت داده شد. سپس دمای ظرف ها با استفاده از آب شهری به دمای اتاق کاهش داده شد (Aliabbasi et al., 2021). کورکومین (۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر) در اتانول آبی ۵۰ درصد حل شد و با نسبت کورکومین نهایی به پروتئین ۳۵۰ : ۱ (وزنی/وزنی) به محلول پروتئین و موسیلاژ اضافه شد و به مدت یک ساعت هم زده شد (دمای محیط، pH=۷). به منظور جلوگیری از تخریب نوری کورکومین، ظرف حاوی نمونه توسط فویل آلومینیومی پوشیده شد (Alavi et al., 2018). در نهایت ظرف حاوی نمونه به مدت یک شب در دمای یخچال (۴-۷ درجه سلسیوس) نگهداری و ژل تشکیل شد (Aliabbasi et al., 2021).

نحوه ساخت هیدروژل ها

فرآیند ژلاسیون سرمانند شامل دو مرحله است: در ابتدا محلول پروتئین و موسیلاژ، در ۹۰ درجه سلسیوس و به مدت ۲۰ دقیقه حرارت داده شدند. دمای ظرف ها با استفاده از آب شهری به دمای اتاق کاهش داده شد. سپس ظرف حاوی نمونه به مدت یک شب در دمای یخچال (۴-۷ درجه سلسیوس) نگهداری و ژل تشکیل شد (Aliabbasi et al., 2021). هیدروژل های پروتئین و موسیلاژ (۷/۵، ۱۰، ۱۲/۵، ۱۵ درصد)

با استفاده از پروتئین (۷/۵، ۱۰، ۱۲/۵، ۱۵ درصد) و موسیلاژ (۷/۵، ۱۰، ۱۲/۵، ۱۵ درصد) ساخته شدند و هیدروژل‌های پروتئین (۲۰، ۲۵، ۳۰ درصد) با استفاده از پروتئین (۲۰، ۲۵، ۳۰ درصد) ساخته شدند.

جدول ۱- درصد پروتئین و موسیلاژ مورد استفاده جهت تولید هیدروژل‌ها

ردیف	حروف اختصاری	تیمار (نمونه)	درصد موسیلاژ	درصد پروتئین
۱	HPM7.5%	هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۷/۵ درصد	۷/۵	۷/۵
۲	HPM10%	هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۰ درصد	۱۰	۱۰
۳	HPM12.5%	هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد	۱۲/۵	۱۲/۵
۴	HPM15%	هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۵ درصد	۱۵	۱۵
۵	HP20%	هیدروژل پروتئین ۲۰ درصد		۲۰
۶	HP25%	هیدروژل پروتئین ۲۵ درصد		۲۵
۷	HP30%	هیدروژل پروتئین ۳۰ درصد		۳۰

تجزیه و تحلیل مشخصات بافت (TPA)^۱

دو مرحله فشردن متوالی به نمونه‌های استوانه‌ای (۴۷ در ۱۱ میلی‌متر) توسط پروب استوانه‌ای با قطر ۵۰ میلی‌متر، توسط دستگاه بافت سنج (Brookfield CT، ساخت کشور ایالات متحده آمریکا) اعمال شد. این پروب استوانه‌ای TA5 / 1000 با سرعت ۱ میلی‌متر بر ثانیه به سمت پایین حرکت کرد (Kazemi-Taskooh et al., 2021). با درصد فشردگی ۵۰ درصد انجام شدند (Aliabbasi et al., 2021). از عامل‌های مورد سنجش این آزمون، سفتی (Hardness)، انسجام (Cohesiveness)، فنریت (Springness) و قابلیت جویدن (Chewiness) بودند (Liu et al., 2018). تمام محاسبات براساس میانگین ۳ تکرار در هر تیمار انجام شد. در ضمن بافت هیدروژل‌ها از نظر سفتی، پیوستگی و قابلیت جویدن هیدروژل‌ها در بخش نتایج در قسمت تجزیه و تحلیل بافت هیدروژل‌ها بررسی و مقایسه شد.

پایداری فیزیکی کورکومین در هیدروژل‌ها

پایداری رسوب کورکومین بارگذاری شده در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ با یک دستگاه سانتریفیوژ (Partazma، ساخت کشور ایران) مشخص شد. از نیروی گریز از مرکز، برای تسریع کردن میزان رسوب استفاده شد. ۰/۲ گرم از نمونه‌ها در ۲ میلی‌لیتر اتانول (۹۶ درصد) حل شد و با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۵ ثانیه سانتریفیوژ شد. سپس جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-VIS، سسیل (CE2502)، ساخت کشور انگلستان در طول موج ۴۲۰ نانومتر خوانده شد. این فرآیند در فواصل زمانی ۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۳۰۰۰، ۴۰۰۰، ۵۰۰۰، ۶۰۰۰، ۷۲۰۰ ثانیه و درجه حرارت ۲۵ درجه سلسیوس انجام شد (Guo et al., 2020).

ثبات نوری کورکومین و پایداری حرارتی کورکومین در هیدروژل‌ها

قابلیت پایداری نوری کورکومین با استفاده از لامپ یووی (فیلیپس (Actinic BL TL-D)، ساخت کشور لهستان) پس از ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰ و ۷۵ دقیقه قرار گرفتن در معرض نور یووی (۳۵ درجه سلسیوس، ۰/۳۵ وات بر متر مربع) مورد ارزیابی قرار گرفت و پایداری حرارتی کورکومین، با قرار دادن نمونه‌ها در حمام آب (۸۵ درجه سلسیوس و ۹۰ دقیقه) اندازه‌گیری شد. ۰/۲ گرم از نمونه‌ها در فاصله زمانی ۱۵ دقیقه، در ۲ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد حل شد و با دور ۳۰۰۰، ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-VIS، سسیل (CE2502)، ساخت کشور انگلستان، در طول موج ۴۲۰ نانومتر خوانده شد (Guo et al., 2020).

درصد ماندگاری کورکومین پس از نور و عملیات حرارتی با رابطه^۱ تعیین شد:

$$\text{رابطه ۱)} \quad \text{درصد ماندگاری کورکومین} = \frac{\text{محتوای باقی مانده کورکومین}}{\text{محتوای اولیه کورکومین}} \times 100$$

بررسی پایداری کورکومین در هیدروژل‌ها در شرایط اسیدی معده

هیدروژل‌های حاوی کورکومین تحت شرایط اسیدی (pH = ۳) و دمای ۵۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۴ روز انکوبه شدند (Zheng et al., 2020).

2017). بعد از ۱۴ روز، مقدار مشخصی از هیدروژل‌های حاوی کورکومین (۱۰۰ میلی‌گرم) از بالای ژل گرفته شد و در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول رقیق حل شد، صوت‌دهی با توان ۲۰۰ وات، فرکانس ۲۴ هرتز به مدت دو دقیقه انجام شد. سپس مخلوطها در ۴۰۰۰ g به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و با اسپکتروفوتومتر در ۴۲۶ نانومتر تجزیه و تحلیل شدند و با استفاده از رابطه^۲ محاسبه شدند (Alavi et al., 2018).

$$\text{رابطه}^۲ = (\%) \text{ کورکومین} = \frac{\text{مقدار کل کورکومین در ژل پیش محلول}}{\text{مقدار کورکومین در بالای ژل}} \times ۱۰۰$$

تعیین اندازه ذرات هیدروژل

جهت تعیین اندازه ذرات هیدروژل، در ابتدا ژل بالک رقیق‌سازی شد. بدین منظور ۴۰ میلی‌گرم نمونه هیدروژل حاوی ۱۲/۵ درصد پروتئین، کورکومین و موسیلاژ، با استفاده از آب مقطر (pH = ۷) ۱۰۰۰ برابر رقیق شد (به صورت سوسپانسیون معلق است). سپس میانگین قطر حجمی هیدروژل حاوی ۱۲/۵ درصد پروتئین، کورکومین و موسیلاژ، بلافاصله پس از آماده‌سازی توسط دستگاه تشخیص‌دهنده پراش نوری دینامیک (DLS) (مدل SZ – 100z شرکت Horiba Jobin Jyovin از کشور ایالات متحده آمریکا) در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و با زاویه ۹۰ درجه اندازه‌گیری شد. به منظور جلوگیری از پراکنش متعدد ذرات (Scattering Multiple) هیدروژل فوق با استفاده از آب مقطر (pH = ۷) ۱۰۰۰ برابر رقیق شد. متوسط اندازه ذرات بر اساس قطر حجمی ذرات (D_{4,3}) و رابطه^۳ در سه تکرار محاسبه شد.

$$\text{رابطه}^۳ = D_{4,3} = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3}$$

n_i = تعداد قطرات با قطر d_i

بررسی رهایش کورکومین در شرایط معده روده

در ابتدا محلول هضم به روش زیر تهیه شد: ۲ گرم کلرید سدیم در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و ۷ میلی‌لیتر اسید هیدروکلریک ۳۷ درصد به محلول اضافه و در pH = ۱/۲ تنظیم شد. به محلول به دست آمده ۳/۲ گرم در لیتر پیپسین اضافه شد که به آن، محلول هضم معده (SGF) گویند (جلالی، ۱۳۹۷). ۶/۸ گرم مونوبازیک فسفات پتاسیم در ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر دوبار تقطیر حل شد و سپس ۱۹۰ میلی‌لیتر از سدیم هیدروکسید ۰/۲ مولار به ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر دوبار تقطیر اضافه شد. pH محلول در ۷/۵ تنظیم شد و محلول به حجم یک لیتر رسانده شد و ۱۰ گرم بر لیتر پانکراتین به محلول اضافه شد که به این محلول، محلول هضم روده (SIF) گویند (جلالی، ۱۳۹۷). حجم مشخصی از محلول کورکومین درون پوشانی شده (کمتر از ۵ میلی‌متر) درون کیسه‌های دیالیز (با وزن مولکولی ۱۲۰۰۰ دالتون) ریخته شد و درون بشر حاوی ۵۰٪ اتانول و ۵۰٪ محلول هضم در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد. همچنان که محلول درون بشر در حال همزده شدن بود (جلالی، ۱۳۹۷) به مدت ۳ ساعت (محیط شبیه‌سازی شده معده) و به مدت ۵ ساعت (محیط شبیه‌سازی شده روده) قرار گرفت و جذب توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر UV – VIS در طول موج ۴۲۰ نانومتر خوانده شد (Maltais et al., 2005). درصد رهایش کورکومین با رابطه^۴ بررسی شد.

$$\text{رابطه}^۴ = (\%) \text{ کورکومین} = \frac{\text{مقدار کل کورکومین قبل از هضم}}{\text{مقدار کورکومین بعد از هضم}} \times ۱۰۰$$

طیف کورکومین در هیدروژل‌های هضم شده با اسپکتروفوتومتر فلورسانس اندازه‌گیری شد (Alavi et al., 2018).

انواع مدل‌سازی رهایش

Zero – order equation: $F = k_0 t$

انتشار مرتبه صفر: رابطه^۵

First – order equation: $F = 100 \times [1 - \exp(-k_1 t)]$

انتشار مرتبه اول: رابطه^۶

Higuchi's model: $F = K_H \times t^{1/2}$

انتشار هیگچی: رابطه^۷

انتشار کرسمیر پیپاس: رابطه^۸ $F = k_{kp} \times t^n$ (Korsmeyer – Peppas model) که در آن (F) کسری از کورکومین آزاد شده در زمان t و (K) ثابت مرتبه صفر، ثابت مرتبه اول، ثابت آزادسازی و (n) توان آزادسازی هستند.

طرح آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها

هفت تیمار بدست آمده با درصد پروتئین و موسیلاژ (۷/۵، ۱۰، ۱۲/۵، ۱۵ درصد)، با درصد پروتئین (۲۰، ۲۵ و ۳۰ درصد)، به صورت طرح کاملا تصادفی ارزیابی شدند. تجزیه و تحلیل آماری به کمک نرم افزار SPSS (ویرایش ۲۶، NY آمریکا)، از طریق آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مقایسه میانگین چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ صورت پذیرفت. تمامی آزمون‌ها با سه تکرار انجام شدند. تمامی داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد گزارش شدند.

نتایج و بحث

تجزیه و تحلیل بافت هیدروژل‌ها

تجزیه و تحلیل پروفایل بافت (TPA) شامل سفتی، پیوستگی، فنریت^۳ و قابلیت جویدن^۴ نمونه‌های هیدروژل مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج تجزیه و تحلیل TPA هیدروژل‌های پروتئین و هیدروژل‌های پروتئین و موسیلاژ چیا در جدول (۲) نشان داده شده است. سفتی معادل بیشترین نیرویی است که در اولین فشردگی به ماده غذایی وارد می‌شود و در منحنی پروفایل آنالیز بافت معادل ارتفاع اولین پیک می‌باشد و استحکام یک هیدروژل را نشان می‌دهد (Saha et al., 2010).

فنریت یا قابلیت ارتجاع: قابلیت ارتجاع (که گاهی به الاستیسیته ربط داده می‌شود) شاخصی برای میزان لاستیکی بودن ژل و ارزیابی تخریب ساختار بافت ژل در فشردگی اولیه در دهان است. قابلیت ارتجاع به نوع صمغ و غلظت صمغ (موسیلاژ) بستگی دارد (Saha et al., 2010).

انسجام بافت (پیوستگی): انسجام ژل به معنای اندازه‌گیری میزان انرژی لازم برای شکستن ساختار داخلی ژل می‌باشد (Sanderson et al., 1990).

قابلیت جویدن نمونه‌ها از ضرب سفتی در فنریت و پیوستگی بدست آمد.

مطابق جدول (۲)، بالاترین سفتی، پیوستگی و قابلیت جویدن، به نمونه با ۱۲/۵ درصد غلظت پروتئین و موسیلاژ تعلق داشت. نمونه حاوی ۲۰ درصد پروتئین دارای کمترین سفتی (۰/۴۸ \pm ۰/۰۴)، پیوستگی (۰/۲۷ \pm ۰/۰۳) و قابلیت جویدن (۰/۰۰ \pm ۰/۰۰) بود. تمامی پارامترهای مربوط به TPA شامل سفتی از (۰/۴۸ \pm ۰/۰۴) به (۰/۸۰ \pm ۰/۰۷)، پیوستگی از (۰/۲۷ \pm ۰/۰۳) به (۰/۹۹ \pm ۰/۰۹) و قابلیت جویدن از (۰/۰۰ \pm ۰/۰۰) به (۰/۷۰ \pm ۰/۰۱) ژل با افزایش محتوای پروتئین از ۲۰ به ۳۰ درصد افزایش یافت. با افزایش غلظت پروتئین، ساختار شبکه ای ژل متراکم‌تر شد و سبب ایجاد برهمکنش‌های پروتئین - پروتئین قوی‌تری بین مولکول‌های پروتئین در طی تشکیل شبکه ژل گردید (Yang et al., 2017). در مطالعه دل‌آرام و همکاران (۱۴۰۲) در هیدروژل‌های آماده شده از پروتئین آب پنیر، سفتی، پیوستگی و قابلیت جویدن بافت با افزایش غلظت پروتئین از ۵ درصد به ۷ درصد افزایش یافت. این افزایش می‌تواند به دلیل افزایش برهمکنش‌های غیرکووالانسی (گروه‌های آب‌گریز) پروتئین‌های دنا توره شده باشد که منجر به تشکیل شبکه و افزایش سفتی هیدروژل می‌شود (Kuhn et al., 2010).

با افزایش غلظت موسیلاژ از ۷/۵ درصد به ۱۲/۵ درصد، سفتی از (۰/۹۵ \pm ۰/۰۹) به (۱/۷۵ \pm ۰/۰۸)، پیوستگی از (۰/۱۸ \pm ۰/۰۱) به (۱/۵۸ \pm ۰/۰۶) و قابلیت جویدن از (۰/۰۱ \pm ۰/۰۰) به (۰/۸۲ \pm ۰/۲۵) هیدروژل بهبود یافت. در مطالعه دل‌آرام و همکاران (۱۴۰۲) در هیدروژل‌های آماده شده از پروتئین آب پنیر، سفتی، پیوستگی و قابلیت جویدن بافت با افزایش غلظت صمغ قدومه شهری از ۰/۲ درصد به ۰/۶ درصد افزایش یافت. با افزایش غلظت موسیلاژ از ۱۲/۵ درصد به ۱۵ درصد، سفتی نمونه‌های هیدروژل از (۱/۷۵ \pm ۰/۰۸) تیوتن به (۰/۷۰ \pm ۰/۰۶) نیوتن کاهش یافت که با نتایج آنالیز به دست آمده مطابقت دارد. در هیدروژل‌های پروتئین و موسیلاژ، ضعیف‌ترین

هیدروژل از نظر سفتی (0.70 ± 0.06)، هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۵ درصد بود. نمونه شاهد حاوی ۲۰ گرم پروتئین، بافت ضعیف‌تری نسبت به نمونه‌های حاوی موسیلاژ داشت و دستگاه با این تنظیمات، داده‌ای برای ما گزارش نکرد. در این پژوهش طبق جدول (۲) مشاهده شد که بالاترین سفتی (1.75 ± 0.08)، پیوستگی (1.58 ± 0.06) و قابلیت جویدن (0.25 ± 0.82) به نمونه با ۱۲/۵ درصد موسیلاژ و پروتئین متعلق بود.

جدول ۲. اثر غلظت پروتئین بر خصوصیات بافتی در هیدروژل‌های پروتئین (HP) و اثر غلظت موسیلاژ بر خصوصیات بافتی در هیدروژل‌های پروتئین و موسیلاژ (HPM)

نمونه	نمونه	سفتی (N)	فربیت (mm)	پیوستگی (N)	قابلیت جویدن (N)
HPM 7.50%		0.95 ± 0.09^{ab}	0.09 ± 0.01^c	0.18 ± 0.01^e	0.1 ± 0.0^d
HPM 10%		0.80 ± 0.07^b	0.0 ± 0.0^d	1.07 ± 0.13^b	0.0 ± 0.0^e
HPM 12.50%		1.75 ± 0.08^a	0.30 ± 0.05^b	1.58 ± 0.06^a	0.82 ± 0.25^a
HPM 15%		0.70 ± 0.06^b	0.06 ± 0.01^c	1.14 ± 0.14^b	0.4 ± 0.1^c
HP 20%		0.48 ± 0.04^c	0.0 ± 0.0^d	0.27 ± 0.03^{de}	0.0 ± 0.0^e
HP 25%		0.70 ± 0.06^b	0.21 ± 0.04^b	0.39 ± 0.04^d	0.4 ± 0.1^c
HP 30%		0.80 ± 0.07^b	0.89 ± 0.06^a	0.99 ± 0.09^c	0.70 ± 0.1^b

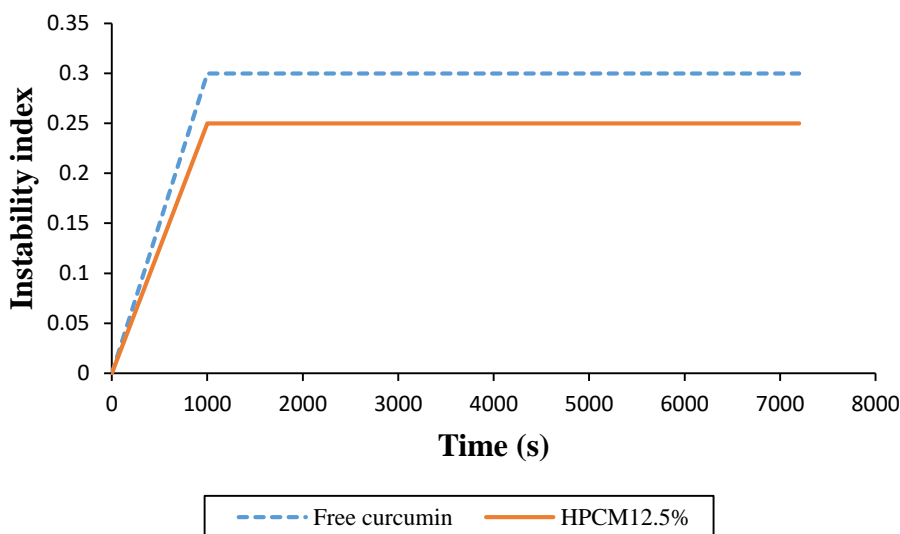
حروف متفاوت در داده‌های هر ستون نشان‌گر اختلاف آماری معنی‌دار میانگین‌هاست ($P < 0.05$).

کارایی درونپوشانی و مقدار بارگذاری کورکومین در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد

در این پژوهش بارگذاری کورکومین در هیدروژل ۱۲/۵ درصد موسیلاژ و پروتئین، به دلیل استحکام مکانیکی خوب انجام شد. کارایی درون‌پوشانی کورکومین در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد، 9.76 ± 0.08 میکروگرم کورکومین در هر میلی‌گرم پروتئین بود که نشان می‌دهد حدود ۹۰ درصد کورکومین در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد درونپوشانی شد. در پژوهشی، مقدار بارگذاری کورکومین برای میکروژل پروتئین آب پنی ۰/۴۶ ± 17.51 میکروگرم کورکومین در هر میلی‌گرم پروتئین و کارایی درون‌پوشانی کورکومین برای میکروژل پروتئین آب پنی ۹۰ درصد بودند (Mohammadian et al., 2019).

پایداری فیزیکی کورکومین در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد

همان‌طور که در شکل (۱) نشان داده شده است، شاخص ناپایداری در زمان‌های کمتر از ۱۰۰۰ ثانیه، به سرعت افزایش یافت و سپس به ثبات نسبی رسید. هم‌راستا با این نتایج گوا و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که شاخص ناپایداری در زمان‌های کمتر از ۱۰۰۰ ثانیه به سرعت افزایش یافت و سپس به ثبات نسبی رسید.

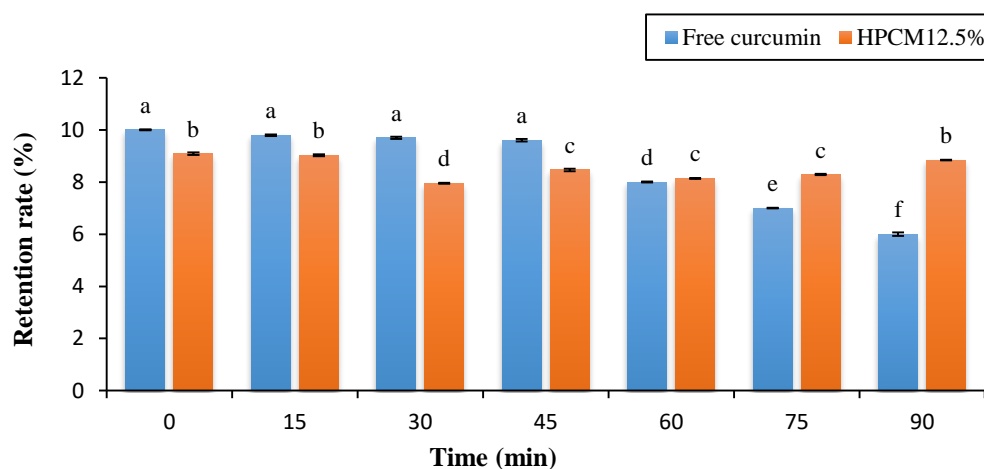


شکل ۱. پایداری فیزیکی کورکومین در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد

شاخص بی‌ثباتی هیدروژل پروتئین، کورکومین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد، 0.1 ± 0.25 و شاخص بی‌ثباتی کورکومین آزاد 0.1 ± 0.3 شد و در فواصل زمانی ۷۲۰۰ ثانیه، تغییری در شاخص بی‌ثباتی مشاهده نشد. به‌طور کلی، شاخص ناپایداری کوچکتر به‌معنای ثبات بهتر می‌باشد (Xu et al., 2016). در پژوهشی، شاخص بی‌ثباتی کمپلکس‌های پروتئین ایزوله نخود - کورکومین، 0.2 ± 0.28 و پروتئین ایزوله نخود - کورکومین - رامنولیپید ۱:۳، 0.1 ± 0.18 بودند و در فواصل زمانی ۷۲۰۰ ثانیه، تغییری در شاخص بی‌ثباتی مشاهده نشد (Guo et al., 2020). در پژوهش حاضر، شاخص ناپایداری هیدروژل پروتئین، کورکومین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد کوچکتر از شاخص ناپایداری کورکومین آزاد شد که نشان‌دهنده ثبات بهتر کورکومین در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد است.

ثبات نوری کورکومین در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد

کورکومین به نور حساس می‌باشد و توسط نور مرئی سریع‌تر از نور UV تخریب می‌گردد (Ansari et al., 2005). همان‌طور که در شکل (۲) نشان داده شده است، از لحظه شروع آزمون تا ۴۵ دقیقه همواره ثبات نوری کورکومین آزاد بیشتر از کورکومین در هیدروژل بوده است. این ثبات نوری می‌تواند به‌دلیل شرایط تابش کم نور UV باشد (Appendino et al., 2022). در مطالعه ای که توسط لی و همکاران (۲۰۱۳) انجام شد تغییرات در پایداری شیمیایی و زیست‌فعالی کورکومین توسط اشعه UV مورد بررسی قرار گرفت. تخریب کورکومین در آب یا فسفات بافر سالین تحت تابش UV (۲۵۴ نانومتر) تسریع شد. سطوح باقیمانده کورکومین پس از ۲۴ ساعت تابش UV به‌ترتیب ۳۶/۹ و ۱۶/۸ درصد بود (Lee et al., 2013). در شکل (۲) ثبات نوری کورکومین آزاد و بارگذاری شده در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد نشان داده شده است. در لحظه صفر، درصد ماندگاری کورکومین آزاد، ۱۰ درصد و هیدروژل پروتئین کورکومین موسیلاژ ۱۲/۵ درصد، ۹ درصد بود ولی در پژوهشی که توسط گوا و همکاران (۲۰۲۰) انجام شد در لحظه صفر، درصد ماندگاری کورکومین آزاد و بقیه نمونه‌ها، ۱۰۰ درصد بود و با افزایش زمان، درصد ماندگاری کورکومین آزاد و بقیه نمونه‌ها کاهش یافت.



شکل ۲. ثبات نوری کورکومین آزاد و بارگذاری شده در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد میانگین‌های دارای حروف لاتین مشترک در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی دار ندارند.

درصد ماندگاری کورکومین آزاد بعد از ۱۵ دقیقه تابش نور یووی به سرعت به (0.3 ± 0.9) کاهش یافت که نشان می‌دهد بیشتر کورکومین در مدت کوتاهی تخریب شده است. تخریب سریع کورکومین با تخریب حلقه‌های آروماتیک توسط نور همراه بود (Liu et al., 2018). بعد از ۹۰ دقیقه تابش نور یووی، درصد ماندگاری کورکومین به‌تدریج به (0.7 ± 0.6) کاهش یافت. با این‌حال، برای محافظت بهتر از کورکومین، در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد، کورکومین بارگذاری شد. بعد از ۹۰ دقیقه تابش نور یووی، درصد ماندگاری کورکومین بارگذاری شده در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد (0.1 ± 0.8) شد. هم‌راستا با این نتایج (Guo et al., 2020) گزارش کردند که درصد ماندگاری کورکومین بارگذاری شده در کمپلکس پروتئین ایزوله نخود - کورکومین - رامنولیپید ۱:۳ بعد از ۹۰ دقیقه تابش نور یووی، (0.1 ± 0.47) بود و درصد ماندگاری کورکومین بارگذاری شده در کمپلکس پروتئین ایزوله نخود بعد از ۹۰ دقیقه (0.1 ± 0.7) بود. بنابراین، کورکومین در کمپلکس پروتئین ایزوله

نخود-کورکومین-رامنولیبید ۱:۳ پایدارتر بود. این پدیده را می‌توان اینگونه توضیح داد که رامنولیبید با تغییر ساختار حوزه‌های آبریز در مولکول‌های پروتئین ایزوله نخود می‌تواند قرارگیری حلقه‌های آروماتیک در این مولکول‌ها را آسان‌تر کند، بنابراین، حلقه‌های آروماتیک بیشتری از کورکومین می‌تواند توسط پروتئین ایزوله نخود محافظت شود (Guo et al., 2020).

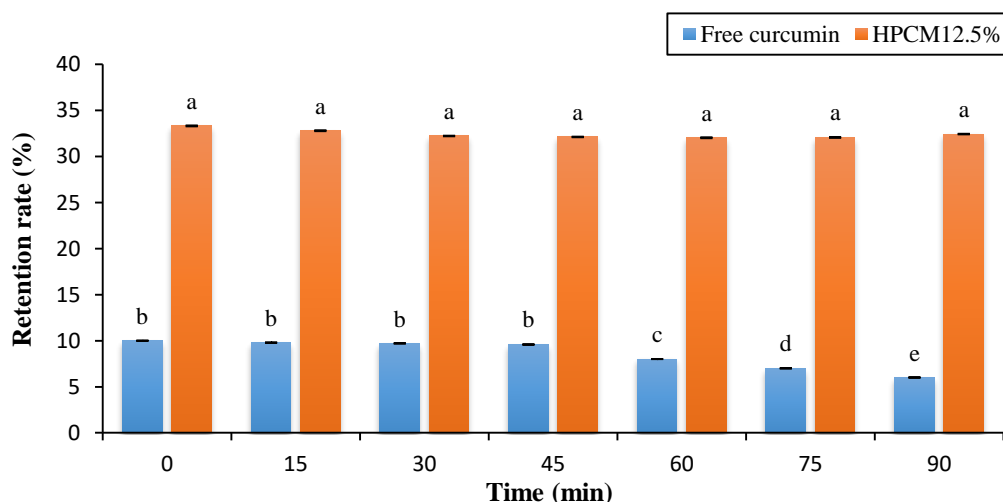
در پژوهشی که توسط مقدسی فریمانی و همکاران، ۱۳۹۷ انجام شد، برای اثبات ثبات نانوامولسیون کورکومین تهیه شده از اسپکتروفوتومتر UV-VIS در محدوده طول موج ۳۵۰-۵۵۰ نانومتر استفاده شد. طیف UV-VIS امولسیون تهیه شده پیک جذب با حداکثر جذب در ۴۲۵ نانومتر و پیک کوچک شانه در حدود ۴۴۵ نانومتر نشان داده شد. این جذب می‌تواند به تحریک نوع π - π سیستم آروماتیک گسترش یافته مربوط باشد. خصوصیت تغییرات شدت در مورد حداکثر پیک جذب ۴۲۵ نانومتر برای ارزیابی ثبات نانوامولسیون کورکومین در (pH = 7) تهیه شد. یک کاهش جزئی در حداکثر جذب بعد از یک ماه و مقدار بیشتر بعد از سه ماه دلیل بر ثبات نانوامولسیون تهیه شده بود (مقدسی فریمانی و همکاران، ۱۳۹۷).

پایداری حرارتی کورکومین در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد

در شکل (۳)، کورکومین آزاد در شرایط حرارتی در بی‌ثباتی بالایی نشان داده شده است. در لحظه صفر، درصد ماندگاری کورکومین آزاد، ۱۰ درصد و هیدروژل پروتئین کورکومین موسیلاژ ۱۲/۵ درصد، ۳۳ درصد بود اما در پژوهشی که توسط گوا و همکاران (۲۰۲۰) انجام شد در لحظه صفر، درصد ماندگاری کورکومین آزاد و بقیه نمونه‌ها، ۱۰۰ درصد بود و با افزایش زمان، درصد ماندگاری کورکومین آزاد و بقیه نمونه‌ها کاهش یافت.

کورکومین بارگذاری شده در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد، پایداری بهتری نسبت به کورکومین آزاد در حین عملیات حرارتی بعد از ۶۰ دقیقه اول نشان داد. این نتیجه ممکن است به وجود پیوندهای هیدروژنی بین مولکول‌های پروتئین دانه چیا و کورکومین مرتبط باشد (Peng et al., 2010). درصد ماندگاری کورکومین در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ، از زمان صفر دقیقه تا زمان ۹۰ دقیقه از ± 0.5 به $33/33 \pm 0.3$ رسید که نشان می‌دهد درصد ماندگاری کورکومین در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ، با افزایش زمان به شدت کاهش یافت. بعد از ۹۰ دقیقه عملیات حرارتی فقط $32/43 \pm 0.3$ درصد کورکومین تخریب شد. درحالی‌که اثر محافظ کورکومین در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد آشکارتر بود. هم‌راستا با این نتایج گوا و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که در کمپلکس پروتئین ایزوله نخود-کورکومین-رامنولیبید ۱:۳ بعد از ۹۰ دقیقه عملیات حرارتی، فقط $49/47 \pm 0.3$ درصد کورکومین تخریب شد (Guo et al., 2020). درصد ماندگاری کورکومین در کمپلکس پروتئین ایزوله نخود بعد از ۹۰ دقیقه عملیات

حرارتی، $9/57 \pm 0.5$ درصد بود (Guo et al., 2020). دوره طولانی عملیات حرارتی ممکن است منجر به قرارگرفتن گروه‌های جانبی غیرقطبی بیشتری در اثر حرارت شود، بنابراین ممکن است تخریب کورکومین بیشتر شود (Guo et al., 2020). در مطالعه‌ای که توسط وانگ و همکاران (۲۰۲۱) انجام شد در کمپلکس کورکومین-پروتئین سویا، پایداری حرارتی و پایداری نوری بهبود یافت (Wang et al., 2021).



شکل ۳. پایداری حرارتی کورکومین آزاد و بارگذاری شده در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد میانگین‌های دارای حروف لاتین مشترک در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی دار ندارند.

پایداری کورکومین در برابر شرایط اسیدی معده

نتایج تحقیق نشان داد که کورکومین تحت شرایط اسیدی پایدار است. درصد پایداری کورکومین در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد، ۹۰/۰۸ درصد شد. مطابق با این نتایج، علوی و همکاران (۲۰۱۸) مشاهده کردند که پایداری کورکومین در هیدروژل پروتئین آب پنیر با ۰/۱ درصد وزنی / وزنی کاپا - کاراگینان، ۹۲ درصد و در هیدروژل پروتئین آب پنیر با ۰/۵۵ درصد وزنی / وزنی کاپا - کاراگینان، ۱۰۰ درصد بودند (Alavi et al., 2018).

تعیین اندازه ذرات

نتایج مربوط به تجزیه و تحلیل اندازه ذرات هیدروژل‌های حاوی ۱۲/۵ درصد پروتئین و موسیلاژ به شرح جدول (۳) به دست آمد. پس از فرآیند حرارت دادن در (pH = ۷/۳) در هیدروژل پروتئین، کورکومین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد، قطر میانگین حجمی تعدادی ذرات، در طی زمان کاهش یافت. با این حال، شاخص پراکندگی محلول هیدروژل پروتئین و موسیلاژ به طور قابل توجهی تحت تاثیر بارگذاری کورکومین قرار گرفت ($p < 0.05$). افزایش غلظت پروتئین و افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته، منجر به کاهش بازده همگن سازی و افزایش قطر میانگین ذرات شد. اندازه ذرات ایزوله پروتئین لوبیا چیتی (PBI) و لوبیا چیتی انباشته حرارتی (TA - PBI) پس از فرآیند حرارت دادن در (pH = ۷/۳) به طور قابل توجهی افزایش یافت. عملیات حرارتی معمولاً برای بهبود ویژگی‌های عملکردی پروتئین‌ها از طریق اصلاح ساختار پروتئین استفاده شد. این تغییرات ساختاری شامل باز شدن ساختار سوم اولیه پروتئین و بر این اساس، تجمع پروتئین است (Aliabbasi et al., 2021).

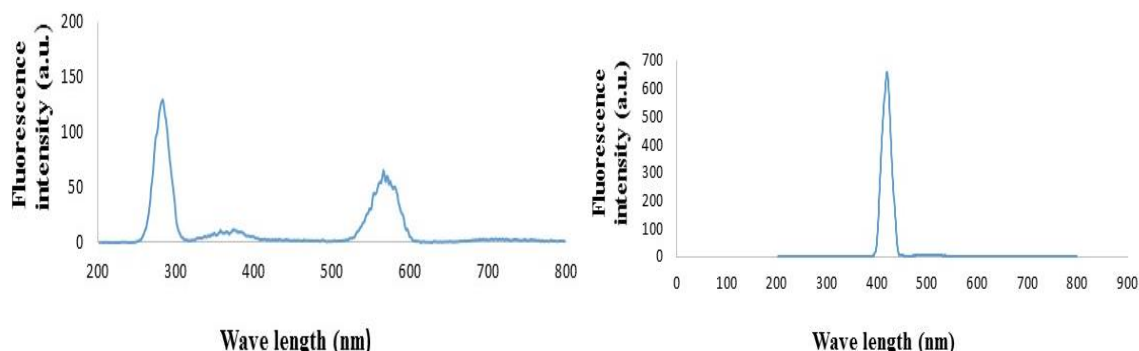
جدول ۳. اندازه ذرات هیدروژل پروتئین، کورکومین، موسیلاژ ۱۲/۵ درصد (HPCM 12.5%)

نمونه	میانگین قطر برحسب تعداد (نانومتر)	میانگین قطر برحسب حجم (نانومتر)	شاخص پراکندگی
HPCM 12.5%	۴۰۹/۶۶±۱۱۵۴/۳۰	۲۰۶/۷۱±۱۵۳۸/۰۵	۰/۳۱±۰/۳۳

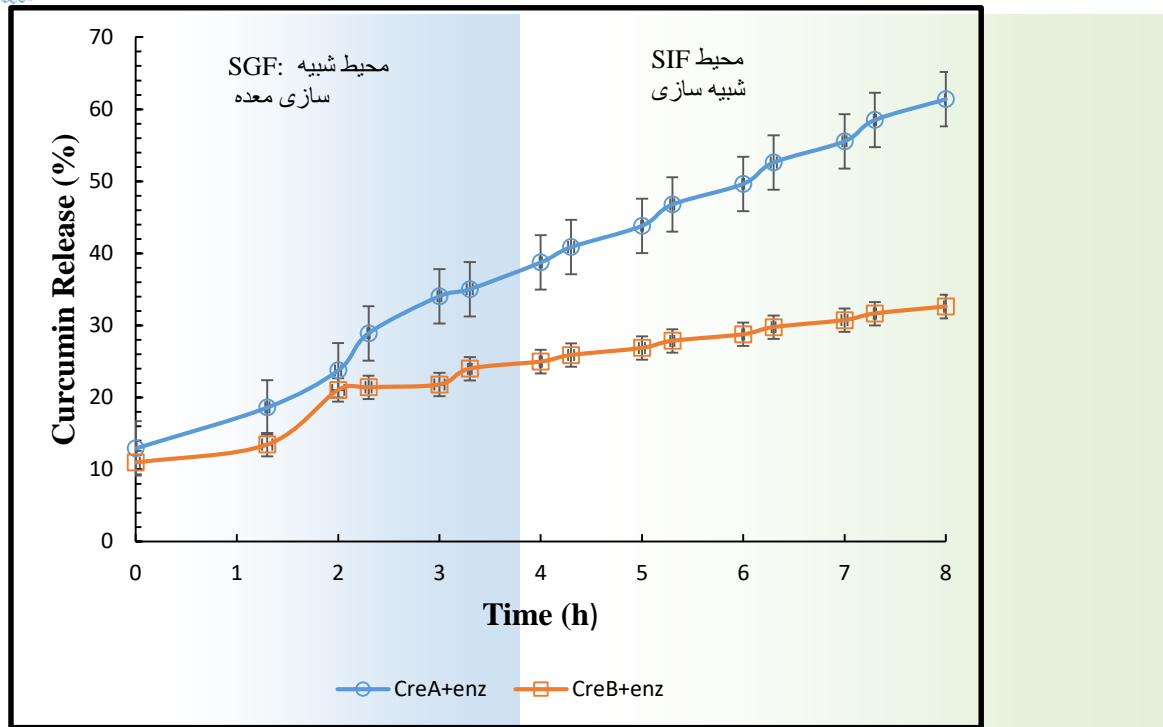
میانگین‌های با بالانویس‌های مختلف در یک ستون به طور قابل توجهی متفاوت هستند.

آنالیز کورکومین توسط طیف‌سنجی فلورسانس

به منظور بررسی در دسترس بودن کورکومین به گروه‌های فلورفور پروتئین، خاموشی فلورسانس پروتئین‌ها در طول موج برانگیخته ۲۸۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۴). شدت فلورسانس برهمکنش تجمع پروتئین با کورکومین کاهش یافت. کاهش در شدت فلورسانس اصلی پروتئین بعد از اتصال به کورکومین نسبت داده شد. توانایی کورکومین به عنوان یک لیگاند به اتصال باقیمانده‌های تریپتوفان و تایروزین پروتئین‌ها که در بخش هیدروفوبیک ساختار اولیه پروتئین قرار گرفت (Aliabbasi et al., 2021). طیف فلورسانس هیدروژل پروتئین، کورکومین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد در طول موج برانگیخته ۴۲۰ نانومتر، با افزایش شدید شدت فلورسانس در شکل (۴) نشان داده شد (بالاترین شدت (a.u.) ۶۹۰) ($p < 0.05$). شدت فلورسانس کورکومین بارگذاری شده در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ افزایش یافت. این نتایج نشان داد که کورکومین بعد از بارگذاری در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ، از محیط هیدروفوبیک به محیط هیدروفوبیک انتقال داده شد که این به دلیل برهمکنش کورکومین با مسیرهای هیدروفوبیک مولکول‌های پروتئین است. کورکومین در هسته هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد بود. بنابراین طیف‌سنجی فلورسانس آشکار ساخت که کورکومین بارگذاری شده در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ با تشکیل پیوندهای هیدروژنی و برهمکنش‌های هیدروفوبیک بین گروه‌های عاملی است (Moghadam et al., 2019). تحقیقات انجام شده بر روی دو پروتئین گردو و لوبیا نیز با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد (Aliabbasi et al., 2021, Moghadam et al., 2019).



شکل ۴. آنالیز کورکومین در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد توسط طیف‌سنجی فلورسانس



شکل ۵. نمودار رهایش کورکومین در شرایط شبیه‌سازی شده معده و روده در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۷/۵ درصد در حضور آنزیم‌های پپسین و پانکراتین (A+enz)، هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد در حضور آنزیم‌های پپسین و پانکراتین (B+enz).

SGF: Simulated Gastric Fluid
SIF: Simulated Intestinal Fluid

بررسی رهایش کورکومین در هیدروژل‌های بر پایه پروتئین و موسیلاژ در شرایط دستگاه گوارش

نتایج نشان داد که طی هضم یک ساعته معده، کورکومین محصور شده بسیار پایدار بود و با فعالیت پپسین در سیستم آزاد نشد و در طی هضم معده، بیش از ۹۰ درصد کورکومین به صورت محصور شده حفظ شد که دلیل آن وجود موسیلاژ پلی‌ساکاریدی است که هیدروژل در مقابل هضم آنزیمی مقاوم شد. در شرایط اسیدی معده، هیدروژل‌های پایدار شده با پروتئین دارای میزان زیادی بار مثبت بوده و دافعه الکترو استاتیک قوی بین آن‌ها وجود دارد که از تجمع ذرات جلوگیری می‌کند. ذرات با اندازه کوچک‌تر نسبت سطح به حجم بالاتری داشته و بیشتر در معرض آنزیم پپسین قرار گرفتند. مولکول‌های موسیلاژ دارای یک زنجیره خطی آنیونی هستند بنابراین بیشتر مستعد تجمع قطرات از طریق خنثی کردن بار و اثراتصال هستند. هیدروژل‌های فاقد موسیلاژ، بار مثبت کمتری در شرایط معده داشتند و این نشان‌گر این است که علی‌رغم ضعیف بودن جذب الکترواستاتیک بین پروتئین و موسیلاژ در pH اسیدی (به علت کاهش جزئی بار منفی روی موسیلاژ چیا زیر مقادیر pK_a آن)، موسیلاژ تا حدودی روی هیدروژل تثبیت شده با پروتئین باقی می‌ماند و از پروتئین در برابر آنزیم پپسین محافظت می‌کند (Pinheiro et al., 2016). کورکومین محصور شده در هیدروژل‌های تثبیت شده با پروتئین در طی دو ساعت در هضم معده به صورت پایدار باقی ماند. علت مقاومت هیدروژل در هضم پپسین را حضور گلوبولین در پروتئین دانستند که به علت داشتن ساختار کروی فشرده، در برابر تخریب در شرایط معده مقاوم است (Sagiri et al., 2015). نتایج حاصل از رهایش کورکومین در محیط شبیه‌سازی شده روده نشان داد که، سرعت رهایش کورکومین در نمونه‌های حاوی ۷/۵ درصد پروتئین و موسیلاژ بیشتر از نمونه‌های حاوی ۱۲/۵ درصد پروتئین و موسیلاژ بود. با افزایش غلظت پروتئین، سرعت رهایش کورکومین کاهش یافت. ژلی که دارای محتوای پروتئینی بالاتری است یک ساختار شبکه‌ای فشرده با منافذ ریز ایجاد کرد که منجر به آهسته‌تر شدن سرعت رهایش کورکومین شد. با افزایش غلظت پروتئین اندازه منافذ ژل کاهش یافت (Sagiri et al., 2015). محتوای بالای اسیدگلوتامیک در ترکیب پروتئین دانه چیا باعث نیروی دافعه الکترواستاتیکی شدید در pH ۷/۵ شد که نفوذ بافر در شبکه ژل به همراه تخریب ماتریس تسریع شد و باعث رها شدن سریع‌تر در شرایط SIF شد (Shankar et al., 2008). با افزایش غلظت موسیلاژ سرعت رهایش کورکومین (به‌ویژه در غلظت ۱۲/۵ درصد موسیلاژ) به مقدار قابل توجهی کاهش یافت. کمترین مقدار رهایش کلی کورکومین مربوط به نمونه (۱۲/۵ درصد موسیلاژ) بود. موسیلاژ به‌عنوان بخشی از فاز پیوسته هیدروژل، تاثیر مثبتی روی به‌تاخیر انداختن رهایش کورکومین از هیدروژل‌ها در دستگاه گوارش فوقانی داشت. بررسی شد که فرایند هیدروژلیفیکاسیون

منجر به اتصال عرضی گسترده پروتئین‌ها از طریق ایجاد پیوندهای آب‌گریز و دی‌سولفیدی جدید شد (Vahedifar et al., 2018). پایداری هیدروژل‌های پروتئین و موسیلاژ در برابر تخریب توسط شرایط ناهموار دستگاه گوارش و آنزیم‌های گوارشی (پپسین و پانکراتین) بهبود یافت. در مطالعه‌ای که توسط دل‌آرام و همکاران، ۱۴۰۲ انجام شد، تاثیر غلظت پروتئین بر رهایش کورکومین از ژل‌های پروتئینی مورد بررسی قرار گرفت، نتایج نشان داد که افزایش غلظت ایزوله پروتئین آب پنیر از ۵ درصد به ۷ درصد، باعث کاهش رهایش کورکومین در شرایط شبیه‌سازی شده معده از ۲۵ درصد به ۱۹ درصد می‌شود. همچنین، افزودن صمغ قدومه شهری به ژل‌های پروتئین آب پنیر، تاثیر معنی‌داری بر کاهش میزان رهایش کورکومین از هیدروژل‌های مرکب پروتئین-صمغ در شرایط شبیه‌سازی شده معده و روده کوچک نسبت به هیدروژل‌های پروتئینی داشت (دل‌آرام و همکاران، ۱۴۰۲). رهایش کورکومین از هیدروژل‌های پروتئین گیاهی پس از دو ساعت انکوباسیون در محیط شبیه‌سازی شده معده ($13/98 \pm 2/36$ درصد) بود. درصد رهایش کورکومین در ۲ ساعت به اوج خود رسید، رهایش تراکمی پس از ۴ ساعت ($25/52 \pm 3/65$ درصد) شد (Gupta et al., 2024). در پژوهشی دیگری که توسط سامچو و همکاران، ۲۰۰۹ انجام شد، رهایش آلفاتوکوفرول همراه با پوشاندن ذرات توسط پلی‌ساکارید نشان‌گر غلظت‌های بالاتر پلی‌ساکارید باعث محافظت بهتر از آلفا توکوفرول در شرایط هضم معده شد (Somchue et al., 2009).

کینتیک رهایش در شرایط مشابه دستگاه گوارش

برازش آماری داده‌ها نشان داد که در مورد دو سامانه بافری دارای آنزیم، هم مدل درجه صفر و هم مدل کرسمیر - پپاس به نحو بهتری می‌توانند رفتار رهایش سامانه را شرح دهند. ضریب تبیین مدل درجه صفر $0/97 - 0/90$ و مدل کرسمیر پپاس در بازه $0/99 - 0/95$ قرار گرفتند (جدول ۴). در شرایط مشابه دستگاه گوارش، توان انتشار مدل کرسمیر - پپاس (n) در منطقه فیک قرار گرفت (طبق جدول ۵). در ارزیابی کینتیک رهایش کافئین از هیدروژل کلئیدوزومی رفتار فیک ملاحظه شد (Amiryousefi et al., 2016). در ارزیابی کینتیک رهایش فاموتیدین از میکروکپسول‌های هیدروژل ساخته شده با یون‌های کلسیم، رفتار فیک مشاهده شد (Tripathi et al., 2012). اثر موسیلاژ بر n در محلول شبیه‌سازی شده معده، معنی‌دار ($p < 0.05$) بود و با افزایش موسیلاژ از $7/5$ درصد به $12/5$ درصد، توان انتشار (n) این سامانه از $0/001$ به $0/000$ کاهش یافت. اثر موسیلاژ بر n در محلول شبیه‌سازی روده معنی‌دار ($p < 0.05$) بود و با افزایش موسیلاژ از $7/5$ درصد به $12/5$ درصد، توان انتشار (n) این سامانه از $0/002$ به $0/001$ کاهش یافت. طبق اطلاعات جدول (۴)، معادله‌های درجه صفر و کرسمیر - پپاس از نظر آماری جهت برازش داده‌های رهایش کورکومین به دلیل ضریب تبیین بالا مناسب می‌باشد. برازش مدل درجه صفر با ضریب تبیین بالا، نشان‌گر ثابت بودن سرعت رهایش طی زمان (مستقل از غلظت کورکومین) می‌باشد.

جدول ۴. مدل‌سازی کینتیک رهایش کورکومین از هیدروژل‌های پروتئین - موسیلاژ $7/5$ درصد در حضور آنزیم (آ+ آنزیم)، $12/5$ درصد در حضور آنزیم (ب+ آنزیم) ساخته شده در محیط‌های معده و روده

نمونه	محیط	مدل درجه صفر		مدل درجه اول		مدل هیگوجی		مدل کرسمیر - پپاس	
		ضریب تبیین R^2	ثابت معادله K_0	ضریب تبیین R^2	ثابت معادله K_1	ضریب تبیین R^2	ثابت معادله K_H	ضریب تبیین R^2	ثابت معادله K_{kp}
آ+آنزیم	معده	$0/97$	$0/11^a$	$0/79$	$-0/0011^a$	$0/89$	$0/19^b$	$0/99$	$-0/34^c$
ب+آنزیم	معده	$0/92$	$0/07^b$	$0/93$	$-0/0007^c$	$0/88$	$0/13^d$	$0/95$	$-0/21^e$
آ+آنزیم	روده	$0/93$	$0/07^b$	$0/72$	$-0/0008^b$	$0/90$	$0/21^a$	$0/99$	$-0/61^a$
ب+آنزیم	روده	$0/90$	$0/04^d$	$0/90$	$-0/0004^e$	$0/89$	$0/11^e$	$0/95$	$-0/33^d$

حروف متفاوت در داده‌های هر ستون نشان‌گر اختلاف آماری معنی‌دار است ($p < 0/05$).

جدول ۵. مکانیزم انتقال بر اساس توان انتشار در معادله کرسمیر - پپاس

مکانیزم انتقال	توان انتشار (n)
انتشار فیک	$0.45 \geq n$
انتقال غیرفیک (انتشار و فرسایش)	$0.45 < n < 0.89$
انتقال نوع دوم (فرسایش)	$n \geq 0.89$

نتیجه گیری کلی

هیدروژل‌های ساخته شده تنها از پروتئین و موسیلاژ دارای بافت و استحکام ضعیف هستند و برای افزایش استحکام آن‌ها در این پژوهش از روش ترکیب پروتئین و موسیلاژ استفاده شد. موسیلاژ دانه چیا به عنوان عامل قوام‌دهنده در شکل‌گیری هیدروژل نقش دارد و بنابراین امکان تشکیل هیدروژل جامد با پایه پروتئین به روش سرد می‌باشد. در این پژوهش، از غلظت‌های مختلف پروتئین و موسیلاژ برای تولید هیدروژل به روش سرد استفاده گردید. با توجه به نتایج بافت‌سنجی، افزایش غلظت پروتئین و موسیلاژ تاثیر مثبتی بر خصوصیات بافتی هیدروژل‌ها داشته است. بطوریکه با افزایش غلظت پروتئین و موسیلاژ از ۷/۵ درصد به ۱۲/۵ درصد، سفتی ژل از ۰/۹۵ نیوتن به ۱/۷۵ نیوتن افزایش یافت. بنابراین نمونه حاوی ۱۲/۵ درصد پروتئین و موسیلاژ دارای بهترین ویژگی‌های بافتی است.

کورکومین بارگذاری شده در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد، پایداری بهتری به کورکومین آزاد در حین عملیات حرارتی و نوری دارد. در هیدروژل پروتئین و موسیلاژ ۱۲/۵ درصد، بالاترین استحکام مکانیکی و کارایی درون‌پوشانی کورکومین را نشان داد. نتایج مربوط به رهایش کنترل شده در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که مقدار کلی رهایش کورکومین در طی هضم معده - روده‌ای برای نمونه حاوی ۷/۵ درصد پروتئین و موسیلاژ، ۶۰/۷۱ درصد و برای نمونه حاوی ۱۲/۵ درصد پروتئین و موسیلاژ، ۲۷/۳۰ درصد بود. بنابراین هیدروژل‌های پروتئین و موسیلاژ، مانع از انتشار و تخریب کورکومین بارگذاری شده در دستگاه گوارش فوقانی شدند. از این رو هیدروژل‌ها برای تحویل ترکیبات زیستی به روده بزرگ مناسب می‌باشند. رهایش کورکومین از سیستم حامل هیدروژل در تمام دو فاز دستگاه گوارش (معده و روده کوچک) براساس مکانیسم انتشار فیک رخ داده بود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از حمایت مالی دانشگاه فردوسی مشهد در انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

جلالی، مریم (۱۳۹۷). درون‌پوشانی کورکومین درون میسل‌های کازئین شیر شتر و تولید پودر از ذرات تولیدی. *پایان‌نامه کارشناسی ارشد*. به‌راهنمایی مریم سلامی. کرج: دانشگاه تهران، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی.

دل‌آرام، بیتا (۱۴۰۲). بررسی امکان تولید هیدروژل پروتئین آب پنیر - صمغ قدومه شهری به روش انعقاد سرد به منظور درون‌پوشانی کورکومین، *پایان‌نامه کارشناسی ارشد*، به‌راهنمایی آرش کوچکی. مشهد: دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی.

مقدسی‌فریمانی، فریبا (۱۳۹۷). نانوامولسیون طبیعی کورکومین: سنتز، شناسایی و بررسی حالیت، پایداری، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و سمیت سلولی، *رساله دکتری*، به‌راهنمایی محمدرضا حسین‌دخت. مشهد: دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم پایه.

موسوی بایگی، سیده فاطمه؛ کوچکی، آرش؛ قرآنی، بهروز و محبی، محبت (۱۴۰۲). توسعه و ارزیابی خصوصیات لیپوزوم بهینه‌سازی شده جهت درون‌پوشانی کورکومین. *نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران*، ۱۹(۱)، ۵۷-۷۸.

REFERENCES

- Alavi, F., Emam – Djomeh, Z., Yarmand, M. S., Salami, M., Momen, S., & Moosavi – Movahedi, A. A. (2018). Cold gelation of curcumin loaded whey protein aggregates mixed with k – carrageenan: Impact of curcumin loaded whey protein aggregates mixed with k – carrageenan, Impact of gel Microstructure on the gastrointestinal fate of curcumin. *Food Hydrocolloids*. 85, 267–280. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.07.012>
- Aliabbasi, N., Emam – Djomeh, Z., Askari, G., & Salami, M. (2021). Pinto bean protein – based acid – induced cold – set gels as carriers for curcumin delivery Fabrication and characterization. *Food Hydrocolloids for Health*. 1(100035). <https://doi.org/10.1016/j.fhfh.2021.100035>
- Amiryousefi, M. R., Mohebbi, M., Gholmohammadzadeh, S., & Koocheki, A. (2016). Encapsulation of caffeine in hydrogel colloidosome: optimization of fabrication, characterization and release kinetics evaluation. *Flavour and fragrance journal*. 31(2), 163 – 172. <https://doi.org/10.1002/ffj.3297>
- Ansari, M. J., Ahmad, S., Kohli, K., Ali, J., & Khar, R. K. (2005). Stability-indicating HPTLC determination of curcumin in bulk drug and pharmaceutical formulations. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 39 (1-2), 132-138. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2005.03.021>
- Appendino, G., Allegrini, P., Combarieu, E.D., Novicelli, F., Ramaschi, G., Sardone, N. (2022). Shedding

- light on curcumin stability. *Fitoterapia*. 156, 105084. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2021.105084>
- Boye, J.I., Aksay, S., Roufik, S., Ribéreau, S., Mondor, M., Farnworth, E., & Rajamohamed, S.H. (2010). Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultra filtration and isoelectric precipitation techniques. *Journal of Food Research International*. 43, 537–546. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.021>
- Delaram, B. (2023). Exploring the possibility of producing cold-set whey protein- *Lepidium perfoliatum* seed gum hydrogel for curcumin encapsulation (*Master's thesis, Ferdowsi University, Mashhad*). Retrieved from previous Theses.
- Guo, Q., Bayram, I., Zhang, W., Su, J., Shu, X., Yuan, F., Mao, L., & Gao, Y. (2020). Fabrication and characterization of curcumin - loaded pea protein isolate - surfactant complexes at neutral pH. *Food Hydrocolloids*. 106214.1 - 48. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106214>
- Gupta, S., Ghoshal, G. (2024). Plant protein hydrogel as a delivery system of curcumin: Characterization and in vitro release kinetics. *Journal of Food and Bioproducts Processing*. 143.66-79. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2023.10.007>
- Hsieh, K.C., Lin, T.C., & Kuo, M. I. (2022). Effect of whole chia seed flour on gelling properties, microstructure and texture modification of tofu. *Food Science and Technology*. 154, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112676>
- Jalali, M. (2017). Encapsulation of curcumin inside the casein micelles of camel milk and production of powder from the produced particles (Master's thesis, Tehran University, Karaj). Retrieved from previous Theses.
- Katunzi-Kilewela, A., Kaale, L. D., Kibazohi, O., & Rweyemamm, L.M.P. (2021). Nutritional, health benefits and usage of chia seeds (*Salvia hispanica*): *African Journal of Food Science*. 15(2), 48-59.
- Kazemi – Taskooh, Z., Varidi, M. (2021). Designation and characterization of cold – set whey protein – gellan gum hydrogel for iron entrapment. *Food Hydrocolloids*. 111, 106205: 1–60.
- Kim, Y.H., Furuya, H., & Tabata, Y. (2014). Enhancement of bone regeneration by the dual release of a Macrophage recruitment agent and platelet-rich plasma from gelatin hydrogels. *Biomaterials*. 35, 214-224.
- Kuhn, K. R., Cavallieri, A. L. F., & Da Cunha, R. L. (2010). Cold-set whey protein gels induced by calcium or sodium salt addition. *International journal of food science & technology*. 45(2), 348-357. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02145.x>
- Lee, B.H., Choi, H.A., Kim, M.R., Hong, J. (2013). Changes in chemical stability and bioactivities of curcumin by ultraviolet radiation. *Journal of Food Science and Biotechnology*. 22, 279-282. <https://doi.org/10.1007/s10068-013-0038-4>
- Liu, F., Li, R., Mao, L. Y., & Gao, L. (2018). Ethanol-induced composite hydrogel based on propylene glycol alginate and zein: Formation, characterization and application, *Food chemistry*. 255, 390-398. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.072>
- Maltais, A., Remondetto, G. E., Gonzalez, R., & Subirade, M. (2005). Formation of soy protein isolate cold-set gels: Protein and salt effects. *Journal of food science*. 70(1), C67-C73. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb09023.x>
- Marin Flores, F.M., Acevedo, M.J., Tamez, R.M., Nevero, M.J., & Garay, A.L. (2008). *Word International Property Organization*. Method for obtaining mucilage from *Salvia hispanica* L. Mexico. WO / 2008 / 0044908.
- Moghadam, M., Salami, M., Mohammadian. M., Delphi, L., Sepehri, H., Emam - Djomeh, Z., & Moosavi-Movahedi, A.A. (2019). Walnut protein - curcumin complexes: fabrication, structural characterization, antioxidant properties, and in vitro anticancer activity, *Journal of Food Measurement and Characterization*. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00336-9>
- Moghaddasi Farimani, F. (2018). Natural nanoemulsion curcumin: preparation and characterization of solubility, stability, antioxidant activity and toxicity assessment (Ph.D. 's thesis, Ferdowsi University, Mashhad). Retrieved from previous Theses.
- Mohammadian, M., Salami, M., Momen, S., Alavi, F., & Emam - Djomeh, Z. (2019). Fabrication of curcumin – loaded whey protein microgels: Structural properties, antioxidant activity, and in vitro release behavior, *LWT – Food Science and Technology*. 103, 94-100. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.076>
- Mousavi Baygi, S.F., Koocheki, A., Ghorani, B., & Mohebbi, M. (2023). Evaluation of Behavior and Modeling of Curcumin Release from Liposomes under Simulated Gastrointestinal Laboratory Conditions. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 57-78. [in Persian].
- Peng, H., Xiong, H., Li, J, Xie, M., Liu, Y., Bai, C., & Chen, L. (2010). Vanillin cross – linked chitosan microspheres for controlled release of resveratrol. *Food Chemistry*. 121(1), 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.085>



- Pinheiro, A.C., Coimbra, M.A., & Vicente, A.A. (2016). In vitro behaviour of curcumin nanoemulsions stabilized by biopolymer emulsifiers – Effect of interfacial composition. *Food Hydrocolloids*. 52, 460–467. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.025>
- Rafiee, Z., Nejatian, M., Daeihamed, M., & Jafari, S.M. (2018). Application of different nanocarriers for encapsulation of curcumin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1495174>.
- Sagiri, S. S., Singh, V. K., Kulanthaivel, S., Banerjee, I., Basak, P., Battachrya, M. K., & Pal, K. (2015). Stearate organogel – gelatin hydrogel based bigels: Physicochemical, thermal, mechanical characterizations and in vitro drug delivery applications. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*. 43, 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2014.11.026>
- Saha, D. and Bhattacharya, S. (2010). Characteristics of gellan gum based food gel. *Journal of Texture Studies*. 41: 459-471. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2010.00236.x>
- Sanderson, G.R. 1990. Gellan gum. In P. Harris, Food gels.
- Saze-Plaze, P., Navas, M.J., Wybraniec, S., Michalowski, T., & Asuero, A.G. (2013). An overview of the Kjeldahl method of nitrogen determination. Part II. Sample preparation, working scale, instrumental Finish, and quality control. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 43(4), 224-272. <https://doi.org/10.1080/10408347.2012.751787>
- Shankar, S., Ganapathy, S., Chen, Q., & Srivastava, R. K. (2008). Curcumin sensitizes TRAIL – resistant xenografts: Molecular mechanisms of apoptosis, metastasis and angiogenesis. *Molecular Cancer*. 7(1), 16. 10.1186/1476 - 4598 - 7 - 16. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-7-16>
- Somchue, W., Serm Sri, W., Shiowatana, J., & Siripinyanond, A. (2009). Encapsulation of α – tocopherol in rotein – based delivery particles. *Food Research International*. 42, 909–914. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.04.021>
- Tripathi, R., & Mishra, B. (2012). *AAPS PharmSciTech*. 13. 1091.
- Vahedifar, A., Madadlou, A., & Salami, M. (2018). Influence of seeding and stirring on the structural properties and formation yield of whey protein microgels. *International Dairy Journal*. 79, 43–51. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.12.003>
- Wang, C., Liu, Z., Xu, G., Yin, B., & Yao, P. (2016). Preparation and Characterization of chia seed protein isolate - chia seed gum complex coacervates. *Food Hydrocolloids*. 52, 554-563. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.033>
- Wang, Y., Sun, R., Xu, X., Du, M., Zhu, B. (2021). Structural interplay between curcumin and soy protein to improve the water- solubility and stability of curcumin. *International Journal of Biological Macromolecules*. 193, 1471-1480. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.10.210>
- Xu, D., Aihemaiti, Z., Cao, Y., Teng, C., and Li, X. 2016. Physicochemical stability, microheological properties and microstructure of lutein emulsions stabilized by multilayer membranes consisting of whey protein isolate, flax seed gum and chitosan. *Food Chem*. 202: 156–164. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.052>
- Yang, J., Zhou, Y., & Chen, L. (2017). Elaboration and characterization of barley protein nanoparticles as an oral delivery system for lipophilic bioactive compounds. *Food & unctio*n. 5, 92-101. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.07.023>
- Zheng, B., Zhang, Z., Chen, F., Luo, X., & McClements, D.J. (2017). Impact of delivery system type on curcumin stability: Comparison of curcumin degradation in aqueous solutions, emulsions, and hydrogel beads. *Food Hydrocolloids*. 71, 187-197. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.05.022>
- Zheng, B., & McClements, D.J. (2020). Formulation of More Efficacious Curcumin Delivery Systems Using Colloid Science: Enhanced Solubility, Stability, and Bioavailability. *Molecules*. 25(12), 2791. <https://doi.org/10.3390/molecules25122791>

Encapsulation of curcumin by chia seed protein and mucilage hydrogels: Evaluation of stability and kinetic release

EXTENDED ABSTRACT

Introduction

Curcumin is a lipophilic bioactive ingredient found in turmeric. Due to its excellent antioxidant properties and high safety curcumin is known to possess anti-cancer and anti-microbial properties. However, curcumin is insoluble in water and has low stability and low bio-availability. Also, curcumin in the presence of light, heat, and oxygen is unstable and undergoes degradation via oxidation and isomerization. To overcome these problems, many researchers employed curcumin in carriers, such as nanoparticles and hydrogels. Among various delivery systems, hydrogels stand out for their ability to encapsulate, load, and release bioactive compounds. The swelling body known as a hydrogel is suited for use as a flexible material due to its high-water content and softness. They are employed in the food industry as carriers for bioactive substances because of their good biodegradability, and specific biological activity. So, encapsulation of biologically active ingredients in hydrogels with uniform network structures can improve their stability and bio-availability. For bioactive delivery, natural food-grade polymers such as proteins or polysaccharides are used as building blocks of hydrogels. Proteins, as natural biopolymers, are secure and inexpensive carriers for the loading of curcumin with high nutrition value. According, in this research, chia protein was used as a carrier for the encapsulation of curcumin. Due to the weak mechanical characteristics of protein-based cold-set hydrogels and their sensitivity to enzymatic degradation, scientists have concentrated on developing protein/polysaccharide binary gels. Chia mucilage is a hydrophilic heteropolysaccharide. Chia mucilage can be employed as an encapsulating agent of probiotics. Our main aim was to determine whether encapsulation affects the release of curcumin from the delivery system and to study the release kinetics of curcumin in simulated gastrointestinal situations.

Materials and Methods

Chia seeds were purchased from Jam Noor Talai Company Iran and kept at room temperature. In the Transfer Phenomena Lab, mucilage and protein isolates were extracted and purified. Protein solutions were prepared by dissolving in double-distilled water for 2 hours at room temperature while using magnetic stirring to achieve various protein concentrations (7.5%, 10%, 12.5%, 15%, 20%, 25%, and 30% w/v). Furthermore, solutions were created by using a magnetic stirrer for 2 hours while adding the mucilage stock solution at various concentrations (7.5%, 10%, 12.5%, 15%). The solutions' pH was raised to 7.3 ± 0.12 with 1 M NaOH, followed by an overnight chill in the fridge to complete hydration. The protein and mucilage solutions were heated at 90 °C for 20 minutes the next day. As a result, tap water was used to bring the vials' temperature down to room temperature. They were stored in the refrigerator for 24 hours. A curcumin suspension with a concentration of 80 mg/mL was prepared in 50 % aqueous ethanol solution. The final ratio of curcumin to protein is 1:350 (w/w). The mixture was stirred on a magnetic stirrer for 1 hour at room temperature.

Results and Discussion

The results indicated that the gel made with 12.5% protein and 12.5% mucilage exhibited better mechanical properties, so it was selected for curcumin recovery and other evaluations. The encapsulation efficiency and loading amount of curcumin in chia protein isolate and mucilage were $90.15 \pm 0.05\%$ and $9.76 \pm 0.08 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$, respectively. The instability index of protein and mucilage hydrogel 12.5 % was smaller than the instability index of free curcumin and it indicates better stability of curcumin in the protein and mucilage hydrogel 12.5%. The mean diameter by volume and the number of particles during the time after the heating process at pH 7 in protein, curcumin, and mucilage hydrogel 12.5% decreased. However, the polydispersity indices of protein and mucilage hydrogel solutions were significantly affected by curcumin loading ($p < 0.05$).

Conclusion

Our study indicated that chia seed protein isolates /chia seed mucilage gels had high entrapment efficiency and could preserve curcumin in the upper gastrointestinal tract. The results of release in vitro conditions showed that the overall release of curcumin during gastrointestinal digestion for the sample containing 7.5% protein and mucilage was 60.71% and for the sample containing 12.5% protein and mucilage was 27.30%. Therefore, protein hydrogels and mucilage can prevent the spread and demolition of curcumin loaded in the upper gastrointestinal tract. Hydrogels are therefore useful in delivering biological compounds to the colon.