

استخلاص الكاروتينويات من شرائح الجزر البرتقالي الطازجة واستخدامها كملون طبيعي في صناعة اللبن الرائب

نور الاطرش¹ محمد عبدالرحمن محمد² روعة حوري طلي³

¹ طالبة ماجستير في قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة دمشق، دمشق، سوريا.

² أستاذ دكتور في قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة دمشق، دمشق، سوريا.

³ أستاذ مساعد في قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة دمشق، دمشق، سوريا
rawaa.tlay@damascusuniversity.edu.sy, <https://orcid.org/0000-0002-8140-0473>

الملخص:

أُجري هذا البحث في مخابر (قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة دمشق، ومخابر الكيمياء، كلية العلوم، جامعة دمشق) بهدف الاستفادة من شرائح الجزر البرتقالي الطازجة في إنتاج ملون كاروتينويد، واستخدامه كملون طبيعي في تلوين اللبن الرائب بنس比 مختلفة (0.5, 1, 1.5, 2%). بيّنت نتائج دراسة المستخلص الناتج عن شرائح الجزر البرتقالي الطازجة محتواه من الكاروتينويات الكلية (11.94 مغ/100 غ) والنشاط المضاد للأكسدة المقدر بطريقة DPPH (49.05 %) والمُستخلص يمثل مصدراً غنياً للمركبات الفينولية (18.07 مغ مكافئ حمض غاليك/100 غ) مع مؤشرات لونية ^{a*} L* و ^{b*} a* و ^{b*} b* على الترتيب. بلغت إنتاجية المسحوق الناتج عن التجفيف لمستخلص شرائح الجزر البرتقالي الطازجة (69.24 %)، وبينت نتائج دراسة تأثير التجفيف والتخزين في المؤشرات الكيميائية للملون الناتج ارتفاعاً معنوياً في محتوى المسحوق من الرطوبة وإنخفاضاً في رقم PH والمحتوى من الكاروتينويات الكلية والنشاط المضاد للأكسدة. أثبتت عينات اللبن الرائب (الشاهد) ارتفاعاً معنوياً ملحوظاً في درجة السطوع (L*) ودرجة الأحمرار (a*) وإنخفاضاً معنوياً ملحوظاً في درجة الأصفار (b*) بالمقارنة مع العينات المدعمة بنسبة (0.5, 1.5, 2, 18%) من الكاروتينويات التي أثبتت فروقات معنوية واضحة في كافة مؤشرات اللون المدرسية ($\Delta H, \Delta E, \Delta C, b^*, a^*, L^*$)، في حين أدى ارتفاع نسبة إضافة ملون الكاروتينويد إلى 2 % إلى تراجع كافة الخصائص الحسية، وكان للعينة المدعمة بملون كاروتينويد 0.5 % الأثر الإيجابي الأكبر في تحسين الخصائص الحسية لعينات اللبن الرائب مقارنة مع العينات المضاف لها التراكيز الأعلى من ملون الكاروتينويد.

الكلمات المفتاحية: ملون، كاروتينويد، الجزر، المستخلص، المسحوق، اللبن الرائب.

تاريخ الایداع: 2023/9/12

تاريخ القبول: 2023/9/29



حقوق النشر: جامعة دمشق - سوريا،
يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب
CC BY-NC-SA 04 الترخيص

Extracting carotenoids from fresh orange carrot slices and using them as a natural coloring in the yoghurt industry

Nour Alattrash^{1*} **Mohammed Abd Alrahman Mohammed²**
Rawaa Houri Tlay³

*1 MSc. Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Damascus, Syria.

2 Prof. Dr. Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Damascus, Syria.

3 Associate professor, Food Science Department, Faculty of Agriculture, Damascus University, Arab Republic Syrian. rawaa.tlay@damascusuniversity.edu.sy <https://orcid.org/0000-0002-8140-0473>

Abstract:

This research was conducted at the laboratories of (Department of Food Sciences, Faculty of Agriculture, University of Damascus, and chemistry laboratories, Faculty of Science, University of Damascus) with the aim of benefiting from fresh orange carrot slices in the production of a carotenoid dye, and using it as a natural coloring in the coloring of yogurt in different proportions (0.5, 1, 1.5, %2).

The results of the study of the extract obtained from fresh orange carrot slices showed its content of total carotenoids (11.94 mg/100g) and antioxidant activity estimated by the DPPH method (49.05%) and the extract represents a rich source of phenolic compounds (18.07 mg gallic acid/100g). The yield of the powder resulting from freeze drying of the extract of fresh orange slices was (69.24%), and the results of the study of the effect of freeze drying and storage on the chemical indicators of the resulting colorant showed a significant increase in the moisture content of the powder and a decrease in the pH, the content of total carotenoids and the antioxidant activity. The yogurt samples (control) showed a significant increase in the brightness level (L^*) and the degree of redness (a^*) and a significant decrease in the degree of yellowness (b^*) compared to the samples fortified with percentages (0.5, 1, 1.5, 2%) of carotenoids. Significant differences were evident in all studied color indicators (L^* , a^* , b^* , ΔC , ΔE , and $H\Delta$), while the addition of a carotenoid colorant to 2% led to a decline in all sensory characteristics, and the sample fortified with a carotenoid colorant had 0.5%. The greater positive effect in improving the sensory properties of the yogurt samples compared to the samples that had higher concentrations of carotenoid colourin

Keywords: Colorant, Carotenoid, Carrot, Extract, Powder, Yogur

Received: 12 / 9 / 2023

Accepted: 19 / 9 / 2023



Copyright: Damascus University- Syria, The authors retain the copyright under a CC BY- NC-SA

1- المقدمة والدراسة المرجعية:

يُعد اللون عاملاً مهماً يزيد من قبول المستهلك للمنتجات الغذائية، ويرجع ذلك إلى أن المستهلكين يربطون دائماً لون الطعام بصفات أخرى مثل سلامة الغذاء (Jadhav and Bhujbal, 2020, 12)، حيث تُستخدم الألوان في الصناعات الغذائية للمحافظة على الألوان الطبيعية للأغذية أو لزيادة شدتها أو لإضفاء ألوان جديدة على المنتجات الغذائية (Nedamani, 2022, 396).

ركزت الاتجاهات العالمية في العقود الأخيرة على تصنيع الأغذية الوظيفية وتطوير منتجات غنية بالمعذيات وتساهم في تحسين الصحة وبالتالي تعد مصدراً مناسباً للمكونات النشطة حيوياً (Soliman and Nasser, 2022, 1)، يعتبر النبات مصدرًا هاماً للملونات الطبيعية مثل الكاروتينويات، والجزر من النباتات النموذجية لهذه الأبحاث لأنه غني بالكاروتينويات المختلفة لاختلاف ألوان جذوره (Zhao et al., 2022, 1).

يُمثل استبدال الألوان الاصطناعية بالملونات الطبيعية تحدياً بسبب عدم الثبات العالي للألوان الطبيعية تجاه العوامل المختلفة (Haas et al., 2019, 1)، كما أن استخدام الكاروتينويات في صناعة الأغذية مقيد بسبب ضعف قابليتها للذوبان في الماء وانخفاض التوافر البيولوجي وعدم الاستقرار الكيميائي والحساسية العالية للأكسدة في ظروف بيئية متعددة، لذلك تم تطوير العديد من التقنيات لتعزيز استقرار ألوان الطعام الطبيعية كتشكيل مستحلبات، التغليف (الكبسة الدقيقة، التغليف النانوي)، إذ أن التغليف لا يؤدي إلى تعزيز استقرار الكاروتينويات وحمايتها من التدهور فقط فحسب، بل يزيد من قابليتها للذوبان في الأنظمة المائية وتوفيرها البيولوجي (González-Peña et al., 2023, 16-17).

تم العثور على الكاروتينويات في الجزر في أوائل القرن التاسع عشر، وتم عزلها لأول مرة من الجزر من قبل weckenroder في عام 1831م (Maoka, 2020, 1)، درس Manisha آخرون (3547) متوسط محتوى الكاروتينويات لـ 48 صنف من الجزر البرتقالي وتراوح ما بين 2.72-16.94 مغ/100غ.

نظرًا للاستخدام المتعدد للكاروتينويات في صناعات مختلفة كان لا بد من تحسين طرائق الاستخلاص للحصول على أعلى نسبة استخلاص، ويعد اختيار طريقة استخلاص الكاروتينات من الطعام أمراً بالغ الأهمية نظرًا لوجود الكاروتينويات المتنوعة ذات المستويات المختلفة من القطبية، وكذلك وجود العديد من الحاجز الفيزيائية والكيميائية في الطعام (Saini and Keum, 2017, 2)، ومن أهم الطرائق الشائعة اتباعها لاستخلاص الكاروتينويات استخدام المذيبات (الأسيتون والهكسان والميتانول والإيتانول) وبفضل استخدام الإيتانول والأسيتون لأن تأثيرهما أقل في البيئة والصحة والسلامة (Miekus et al., 2019, 7)، وتعتبر هذه الطريقة تقليدية إذ تعتمد على نقع العينة في المذيب لاستخلاص الكاروتينويات، وقد افترض العلماء أن النقع كان متوقفًا على الطرائق الأخرى ربما بسبب عدم الحاجة إلى نظام تسخين أثناء الاستخلاص وبالتالي تجنب التحلل الحراري للكاروتينويات، كما يقلل من وقت التلامس بين المذيب والمواد الخام، وبالتالي فإن استخدام الكاروتينويات بالمذيبات العضوية يوفر مردود استخلاص جيد دون استخدام أدوات متطورة (Saini and Keum, 2017, 10-12).

كان استخدام الكاروتينويات في صناعة الأغذية محدوداً بسبب عدم ثباتها ضد العوامل الكيميائية (الأكسجين والمعادن والجذور الحرة) والعوامل البيئية (الضوء والحرارة) وعدم قابليتها للذوبان في الماء ونقطة الانصهار العالية والتوافر الحيوي المنخفض، كما تحد الطبيعة المحبة للدهون للكاروتينويات من اندماجها المباشر في الأنظمة المائية (González-Peña et al., 2023, 11).

أنها عرضة للتدحرج أثناء التخزين لذلك تحمي تقنيات التغليف الكاروتينويدات من التدحرج عن طريق تشكيل حاجز بين المواد الأساسية والجدارية، حيث تعتبر عوامل التغليف المناسبة ودرجة الحرارة والطريقة المتبعة من أهم العوامل لنجاح عملية التغليف (Eun et al., 2019, 1)، تتضمن الكبسة الدقيقة تعطية سائل أو صلب أو غاز بمادة حاملة لحماية المادة المطلوبة من الظروف البيئية كالرطوبة والحرارة والضوء والأكسجين ودرجة الحموضة والمركبات الأخرى، تشمل المواد الحاملة الشائعة السكريات (المالتودكسترين، النشاء)، الصمغ (الصمغ العربي، صمغ الغوار)، البروتينات (الغلوتين، الجيلاتين، بروتين مصل اللبن وبروتين الصويا)، يعتمد اختيار مادة حاملة مناسبة على خواصها الفيزيائية مثل الوزن الجزيئي ونقطة الانصهار وقابلية الذوبان والزوجة والانتشار وخصائص الاستحلاب(González-Peña et al., 2023, 12)، كما تختلف تبعاً لنوع المركب النشط حيوياً الذي يتم تغليفه (Martins et al., 2023, 5).

يعتبر التجفيف بالتجميد (التجفيف) من طرائق التغليف التي تسبب أقل ضرراً للكاروتينويدات، كما أن التحكم في معدل التجفيف بالتجميد وضغط الغاز الكلي والمتوسط النهائي لمحوى الرطوبة من الأمور الهامة للحصول على منتج مجفف بجودة مناسبة، في حين درجة الحرارة تلعب دوراً هاماً في التأثير المباشر على بنية المواد الناتجة، وبالتالي تدحرج العديد من ميزات المنتج المتعلقة بالمลمس والمسامية والحجم والشكل وقدرة إعادة التמיه والاستقرار (Lavelli and Sereikaite, 2022, 4)، وتعد دراسة تدحرج الكاروتينويدات أثناء المعالجة والتخزين أمراً بالغ الأهمية من أجل توفير أنظمة غذائية وظيفية عالية الجودة (Haas et al., 2019, 2).

كان هناك حاجة لابتعاد عن مضادات الأكسدة الصناعية واستخدام المصادر الطبيعية للحصول على مضادات أكسدة وملونات طبيعية مع البحث عن ظروف تحسن عملية تجفيف الملونات الطبيعية، باستخدام عوامل مساعدة للحصول على مسحوق ذو خصائص نوعية وقدرة تخزينية جيدة مع دراسة مدى تأثر هذه الملونات الطبيعية ونشاطها المضاد للأكسدة خلال التخزين لضمان حفظها لمدة طويلة، ونظرًا لعدم توفر دراسات محلية تهتم بانتاج ملونات طبيعية وتطبيقاتها في صناعة الأغذية، فقد تم اختيار الجزر للحصول على ملون طبيعي (كاروتينoid) واستخدامه في تلوين المنتجات الغذائية، كان الهدف من هذا البحث:

1. انتاج ملون كاروتينoid من مستخلص شرائح الجزر الطازجة، ودراسة الخصائص الكيميائية لملون الكاروتينoid الناتج.
2. دراسة تأثير التخزين لمدة ستة أشهر في المؤشرات الكيميائية لملون الكاروتينoid الناتج.
3. دراسة تأثير استخدام مسحوق ملون الكاروتينoid في منتج اللبن الرائب.

2- مواد البحث وطريقه:

2-1- مواد البحث:

جمعت ثمار الجزر ذو اللون البرتقالي صنف (NANCO F1) من قرية الطيبة في محافظة ريف دمشق بواقع 5 كيلو غرام، ثمارها أسطوانية الشكل، متوسطة الحجم، القشرة رقيقة ناعمة سهلة التقشير، والطعم جيد، تتحمل الثمار التخزين، تم استخدام اللب واللب الخشبي دون قشور، في حين تم الاحتفاظ بقشور الثمار، وأختيرت ثمار الجزر لإجراء البحث عليها لتتوفر هذا المنتج لفترة طويلة من العام، إضافة لمحتواها المرتفع من الكاروتينويدات وتكتفتها المنخفضة نسبياً كمادة أولية للبحث، حيث أمكن انتاج مسحوق الكاروتينويدات الهام في الصناعات الغذائية، وتم استخدام الأسيتون كمذيب عضوي في عملية الاستخلاص، كما تم استخدام المالتودكسترين التجاري (ذو مكافئ دكستروز 20) كمانع للتكتل وعامل مساعد في التجفيف، ويتوفر المالتودكسترين على شكل مسحوق أبيض.

(1) تحضير العينات:

غُسلت ثمار الجزر الطازج بالماء المقطر لإزالة الرمال والأترية عن السطح الخارجي وحُفظت في أكياس نظيفة.

(2) استخلاص الكاروتينويدات:

استخلصت المواد الملونة من شرائح الجزر الطازجة باستخدام مذيب الأسيتون العضوي بتركيز 99.5%， حيث اتبعت طريقة Ghosh وزملاؤه (2019, 356) لحصول على المستخلص الكاروتينويدي من شرائح الجزر الطازجة، إذ أخذ (2g من العينة في 20 مل أسيتون) وتم التقليب في درجة حرارة المخبر باستخدام محرك مغناطيسي من نوع Velp Scientifica إيطالي الصنع لاستخلاص الكاروتينويدات، وتم أخذ الطبقة السائلة الطافية المتجلسة وتكررت عملية الاستخلاص عدة مرات حتى ظهر الجزء الطافي عديم اللون، جُمعت الأجزاء الطافية المحتوية على الكاروتينويدات ورُشحت من خلال طبقة قطنية وحُفظت في عبوات زجاجية عائمة بعيداً عن الحرارة والضوء.

(3) تبخير مذيب الأسيتون من المستخلص:

استُرجم مذيب الأسيتون المستخدم في عملية الاستخلاص من مستخلص الكاروتينويد الناتج عن شرائح الجزر الطازجة باستخدام جهاز المُبخر الدوارني Heidolph Laborota digital 4010 ذو منشأ ألماني بدرجة حرارة 40 درجة مئوية عند ضغط 600 مم زئبقي، حيث فُصل المستخلص السائل عن شرائح الجزر باستعمال ورق الترشيح ورُكز مستخلص الكاروتينويد الناتج عن شرائح الجزر الطازجة للتخلص من كامل المذيب المستخدم.

(4) تجفيف ملون الكاروتينويدي:

أتبعت طريقة Šeregelj وزملاؤه (2017, 264) لتجفيف مستخلص الكاروتينويد عن طريق تجميد مستخلص الكاروتينويد في المجمدة حتى -40 درجة مئوية وحُفظ المستخلص عند -30 درجة مئوية لعدة أيام، حيث تم الحصول على الملون بتحضير مستحلب في البداية ثم القيام بعملية التجفيف وذلك عن طريق إذابة 7 مل من المالتودكسترين في 10.5 مل من الماء عند 60 درجة مئوية مع الاستمرار في التحريك حتى وصلت درجة الحرارة إلى 30 درجة مئوية، ثم أضيف 80 Tween (0.1 مل) كمبثت للمستحلب.

بشكل منفصل مُرج 10 مل من كل مستخلص مع زيت عباد الشمس 1.5 مل، ورُكز تحت ضغط مخفض في مبخر دوار عند 40 درجة مئوية للتأكد من إزالة كافة المذيب العضوي، وُخلط على الفور بمحلول المادة الحاملة الذي تم تحضيره مسبقاً، ثم عُرض محلول لقوة طرد مركزي عند 11000 دورة في الدقيقة لمدة 3 دقائق عند درجة حرارة الغرفة، وجُمدت طوال الليل، حيث جُدد المزيج المجمد بجهاز Christ، نوع 101021، أوروبوي المنشأ (Christ, 2010) عند -40 درجة مئوية، بعد التجفيف طُحن المسحوق في مطحنة كهربائية حتى الوصول إلى حجم جزيئات أقل من 200 ميكرومتر.

(5) تصنيع اللبن الرائب الممزوج بالتحريك:

صنُع اللبن الرائب وفقاً لـ Soliman و Nasser (2002, 4) مع بعض التعديلات وذلك بمعاملة الحليب حرارياً إلى 90-85 درجة مئوية لمدة 5 دقائق، ثم تبريد إلى 42 درجة مئوية وتنقيحه ببادئ 3% من المزارع البادئة، ثم مرحلة التحضين عند 42 درجة مئوية لمدة 3 ساعات حتى تتكون الخثرة، تلاها مرحلة إضافة الملونات بنسبي إضافة (2-1.5-0.5%) ثم التبريد عند 5 درجة مئوية طوال الليل.

2- المؤشرات الكيميائية:

1) تقدير المادة الصلبة الذائية الكلية: قيس محتوى مستخلص الكاروتينويد بعد التخلص من المذيب المستخدم من المواد الصلبة الذائية الكلية (TSS) بشكل مباشر وفقاً للمعيار التقني الكولومبي (Icontec, 1999)، وعُبر عن النتيجة كنسبة مئوية بالدرجة 20 درجة مئوية باستخدام جهاز الرفراكتومتر (0-30 Brix) Handheld Refractometer، ذو منشاً أوروبي.

2) تقدير الحموضة الكلية: قدر محتوى مستخلص الكاروتينويد بعد التركيز من الحموضة الكلية وفقاً لـ (AOAC, 1999) عن طريق المعايرة، وعُبر عن النتائج كنسبة مئوية (حمض السكريك).

3) تقدير رقم الد (pH): قدر رقم الد (pH) في مستخلص الكاروتينويد بمقاييس الأس الهيدروجيني الرقمي صنع شركة Mettler Seven Compact pH/Ion S210 (Toledo, AOAC, 2005).

2-2- تقدير المركبات الفعالة حيوياً والنشاط المضاد للأكسدة:

1) تقدير الكاروتينويات الكلية: قدر محتوى المستخلص من الكاروتينويات الكلية وفقاً لـ Singh وزملاؤه (2018, 901) استخدام جهاز المطياف الضوئي صنع (PRIMAdvanced CI0381، ذو منشاً سويسري) وأخذت الامتصاصية عند طول موجة 452 نانومتر، وعُبر عن المحتوى من الكاروتينويات الكلية بـ (مغ/100غ).

2) تقدير النشاط المضاد للأكسدة: قيس النشاط المضاد للأكسدة بتقدير النشاط الكابح للجذور الحرة باستخدام طريقة الجذر الحر الثنائي فينيل بيكريل هيدرازيل DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazone) وذلك وفقاً لـ (Šeregelj et al., 2017, 264) وبتحضير المستخلص الكحولي من المستخلص الكاروتينويدي بإضافة (1مل) من مستخلص الكاروتينويد بعد التركيز والتخلص من المذيب المستخدم إلى 30 مل ميتانول، وإضافة المستخلص الناتج إلى الحجم نفسه من محلول DPPH وخلطه جيداً ثم حفظه لمدة 30 دقيقة في الظلام عند درجة حرارة 20 درجة مئوية، ثم ثُقلت العينات عند 5500 دورة/د لمدة 5 دقائق، وقيست الامتصاصية عند طول موجة 517 نانومتر بجهاز المطياف الضوئي صنع (PRIMAdvanced CI0381، ذو منشاً سويسري) واستُعمل الميتانول في التجربة الشاهدة عوضاً عن المستخلص ونفس الحجم من محلول DPPH وبنطبيق نفس الشروط السابقة قيس النشاط المضاد للأكسدة للملون الناتج وفقاً لـ (Do et al., 2019, 51) وعُبر عن النشاط المضاد للأكسدة كنسبة مئوية لتنبيط الجذور الحرة.

3) تقدير المركبات الفينولية: اثنُج في استخلاص المركبات الفينولية ما ورد في طريقة (Singh et al., 2018, 902)، حيث أخذ من العينة المدروسة ووضع في أنبوب من البولي إيتيلين سعة 50 مل، تم الاستخلاص مع 50% إيثانول مطلق، ثم مُزجت بشكل جيد باستخدام محرك مغناطيسي وبدرجة حرارة الغرفة لمدة ساعة، ثم ثُقلت العينات باستخدام جهاز الطرد المركزي ذو منشاً ألماني وأخذ 100ميكرومول من السائل الرائق للتحليل، وأضيف إليه 2.9 مل من الماء المقطر و0.5 مل كاشف فولين ووضع في دورق معياري سعة 10 مل، ثم رُج المزيج وأضيف 2 مل من Na₂CO₃ (20%) وأُكمِل الحجم بالماء المقطر حتى العلامة، ثُرك المزيج لمدة ساعتين في حرارة الغرفة ثم ثُقل ورُشح وباستخدام جهاز المطياف الضوئي (PRIMAdvanced CI0381، ذو منشاً سويسري) قيست الامتصاصية على طول موجة 760 نانومتر. استُعمل حمض الغاليك ك محلول معياري مرجعي لتحضير لمنحنى المعياري بتركيز يتراوح من (0-140 ميكروغرام/مل) وعُبر عن النتائج (مغ مكافئ حمض غاليك/100غ).

4) تقدير الفلافونيدات الكلية: قدر محتوى المستخلص من الفلافونيدات الكلية وفق الطريقة المتبعة من قبل (Singh et al., 2018, 902)، حيث أخذ 1 مل من المستخلص المحضر عند تقدير الفينولات الكلية إلى دورق معياري يحتوي 4 مل ماء مقطر، ثم أضيف 0.3 مل من نتريت الصوديوم (65%)، وبعد 5 دقائق أضيف 0.3 مل كلوريد الألمنيوم (10%)، وبعد 6 دقائق أضيف 2

مل ماءات الصوديوم 1 مولار، ثم أكمل الحجم بالماء المقطر حتى 10 مل، وقيست الامتصاصية عند طول موجة 510 نانومتر بجهاز المطياف الضوئي، واستعمل الكاتيشين (CE) محلول معياري مرجعى لتحضير المنحنى المعياري بتركيز يتراوح ما بين (20-0) ميكروغرام/مل وعبر عن النتائج (مغ مكافئ كاتيشين/100 غ).

5) كفاءة تغليف الكاروتينويات (EE): حدد محتوى الكاروتينويات السطحية Surface Carotenoid (SC) والكاروتينويات الكلية Total Carotenoid (TC) (Seregelj et al., 2017, 264)، إذ حددت SC بخلط 0.25 غ من المسحوق الناتج عن التجفيف مع 5 مل من الأسيتون باستخدام محرك لمدة 20 ثانية، ثم أجريت عملية طرد مركز بمعدل 5000 دورة في الدقيقة لمدة 10 دقائق وفصلت المادة الطافية، ولتقدير TC خلط 0.25 غ من المسحوق مع 0.2 M PBS (pH 7) (L) لمدة دقيقة واحدة لكسر الكبسولات، واستخلاصها باستخدام 2 مل من ثنائي إيتيل الإيتير، وتركها طوال الليل عند 4 درجات مئوية بعد فصل طبقة الصبغة، كُرتت عملية الاستخلاص بنفس أحجام المذيب لتجميع الصبغة الكلية. أُجري القياس الكمي للكاروتينويات وفقاً للبروتوكول المذكور سابقاً، ثم حُسبت كفاءة التغليف استخدام المعادلة: $EE = [(TC-SC)/TC] \times 100\%$.

3-2- المؤشرات الفيزيائية:

1) تقدير مؤشرات اللون: عُينت مؤشرات اللون (L^* , a^* , b^*) باستخدام جهاز قياس اللون Hunter Lab من النوع Chroma Meter CR-410 من شركة Konica Minolta اليابانية، حيث عُير الجهاز بدايةً بالقرص الأبيض الخاص المزود به والذي يضم تناسق الألوان ($L^* = 87.5 - a^* = 0.3156 - b^* = 0.3224$)، وضع المستخلص السائل ضمن خلايا زجاجية بسماكه 1.5 سم وقيست القيم اللونية بالجهاز على ارتفاع 7.5 سم، تم ضبط الارتفاع بواسطة الرأس الاسطوانى المعدنى المزود بالجهاز، وتكررت عملية القياس لكل عينة ثلاثة مرات وأخذت القيم المتوسطة للقراءات وعبر عن النتائج وفق قيم (L^*, a^*, b^*)، حيث يشير المؤشر L^* إلى الأبيض و a^* إلى اللون (الأخضر وفق القيم السالبة) (والأحمر وفق القيم الموجبة)، ويشير b^* إلى اللون (الأصفر في القيم الموجبة) و (الأزرق ضمن القيم السالبة) وفقاً لـ (Gao and Rupasinghe, 2012, 213).

2) تقدير إنتاجية المسحوق: حُسب عائد مسحوق الكاروتينويات حسب الوزن قبل وبعد التجفيف، حيث يمكن حساب العائد النهائي من المسحوق من خلال الوزن وفقاً لـ (Do et al., 2019, 51).

4-2- الخصائص الحسية:

دُرست الخصائص الحسية لعينات اللبن المصنوع باستخدام مقياس هيدونيك (Hedonic Point Scale) (اللون، الرائحة، النكهة، القوام، القبول العام) وفقاً لـ (Larmond, 1970, 36)، ويُعبر المحكم في هذا الاختبار عن درجة رغبته أو عدم رغبته للعينة المختبرة، وعادة يستعمل المقياس درجات من (-1-9)، تم إجراء بعض التعديلات باستخدام درجات من (-5-5) وتم الاختبار الحسي من قبل مجموعة مؤلفة من (12) شخص، ثم أُجري التحليل الإحصائي لنتائج الاختبارات الحسية باستخدام برنامج التحليل الإحصائي MINITAB 14 عن طريق تحليل التباين ANOVA وثُورنت الفروق المعنوية بين المتosteatas باختبار أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى ثقة 95%.

5-2- التحليل الإحصائي:

أُجريت جميع الاختبارات بواقع ثلاث مكررات، وعُبّر عن النتائج على أساس (المتوسط الحسابي \pm الانحراف المعياري) باستخدام البرنامج الإحصائي MINITAB 14 عن طريق تحليل التباين ANOVA وُقُرِنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى ثقة 95%.

3- النتائج والمناقشة:

3-1- نتائج دراسة الخصائص الكيميائية ومؤشرات اللون المستخلص الكاروتينويدي المستخلص من شرائح الجزر البرتقالي الطازج:

الجدول 1؛ الخصائص الكيميائية ومؤشرات اللون للمستخلص الكاروتينويدي المستخلص من شرائح الجزر البرتقالي الطازج

المستخلص الكاروتينويدي	الخصائص الكيميائية	
11.94 \pm 0.11	الكاروتينويديات الكلية (مغ/100 غ)	
49.05 \pm 0.01	النشاط المضاد للأكسدة (DPPH) %	
18.07 \pm 0.04	الفينولات الكلية (مغ مكافئ حمض غاليك/100 غ).	
5.01 \pm 0.05	الفلاقونيدات الكلية (مغ مكافئ كاتيшиن/100 غ).	
0.064 \pm 0.01	الحموضة الكلية (%) مقدرة كحمض ستريك.	
6.12 \pm 0.02	(pH) رقم	
10.09 \pm 0.12	المادة الصلبة الذائبة الكلية (%)	
62.24 \pm 0.03	L*	مؤشرات اللون
24.92 \pm 0.03	a*	
43.91 \pm 0.21	b*	
50.05 \pm 0.05	ΔC	
56.06 \pm 0.16	ΔE	
79.28 \pm 0.23	ΔH	

(ΔH : total hue difference ، ΔE : total color difference ، ΔC : total saturation difference. b*: Yellowness ، a*: Redness. L*: Lightness)

بلغت إنتاجية مستخلص الكاروتينويدي من شرائح الجزر الطازجة (29%)، تم تركيز المستخلص الكاروتينويدي للوصول إلى مستخلص مركز بنسبة مادة صلبة ذائبة كلية (10.09%)، وبُين الجدول (1) نتائج دراسة الخصائص الكيميائية ومؤشرات اللون للمستخلص الكاروتينويدي المستخلص من شرائح الجزر البرتقالي الطازجة، حيث كان محتوى الكاروتينويديات الكلية بعد التركيز (11.94 مغ /100 غ) وتوافق ذلك مع (Bozalan and Karadeniz, 2011, 1062 ; Nahimana et al., 2011, 15342).

تأثر كمية الكاروتينويديات المستخلصة بعدة عوامل منها الوقت المستغرق للاستخلاص والمذيب المستخدم، كما يعد الضوء والحرارة والعوامل المحيطة بظروف الاستخلاص وأكسدة الكاروتينويديات السبب الرئيس لفقد الكبير في الكاروتينويديات (Sharmin et al., 2016, 14).

ثُبِّين النتائج في الجدول (1) أن مستخلص شرائح الجزر البرتقالي الطازجة يمثل مصدراً غنياً للمركبات الفينولية والتي بلغت (18.07 مغ مكافئ حمض غاليك/100 غ) وتعتمد نسبتها على ظروف الاستخلاص وقطبية المذيب المستخدم ونسبة العينة إلى

نسبة المذيب (Singh et al., 2017, 265)، كما تتعلق بتأثير ظروف إنتاج الجزر وتوافقت النتائج مع (Šeregelj et al., 2018, 903).

في حين أن العديد من الفينولات تتفاعل ببطء مع DPPH ويستمر التفاعل لعدة ساعات وبالتالي تحديد نقطة النهاية الثابتة غير ممكن وبالتالي قد تقلل طريقة DPPH المستخدمة لتقدير النشاط المضاد للأكسدة من تحديد إمكانية مضادات الأكسدة المقاسة،

وقد يعزى النشاط العالى لمضادات الأكسدة إلى وجود مركبات الفلافونيدات في مستخلص الجزر الطازج بنسبة (5.01 مغ كاتيшин/100 غ)، والعلاقة الإيجابية العالية بين الفينولات والنشاط المضاد للأكسدة عائدة إلى أن الفينولات قد تكون مضادةً للأكسدة سائداً في الجزر (Koley and Singh, 2019, 546).

يرتبط النشاط المضاد للأكسدة في مستخلصات الجزر المحبة للدهون بمحتها من الكاروتينويديات الكلية، إذ تشير كمية الكاروتينويديات المرتفعة (11.94 مغ مكافئ كاروتين/100 غ) إلى أنها ساهمت بشكل كبير في النشاط المضاد للأكسدة لجزء المحب للدهون في الجزر (Schmiedeskamp et al., 2022, 1637)، في حين يختلف النشاط المضاد للأكسدة تبعاً لصنف الجزر المستخدم، وقد أشار Gajewsk وآخرون (2010, 123) إلى ارتفاع قيم النشاط المضاد للأكسدة في الجزر البرتقالي بالمقارنة مع أصناف الجزر الأخرى، إذ بلغ (49.05%) وتتوافق ذلك مع ما أشار إليه (Bozalan and Karadeniz, 2011, 1065).

بلغ متوسط قيم الحموضة القابلة للمعايرة (0.064%) مقدرةً بكمض ستريك، وتعتبر الحموضة التي يمكن معايرتها مؤشراً أفضل لتأثير الحمض في النكهة من الرقم الهيدروجيني، في حين بلغ رقم pH (6.12).

يوضح الجدول (1) تغير اللون أثناء عملية استخلاص الكاروتينويديات من شرائح الجزر الطازجة، كانت المؤشرات اللونية لمستخلص كاروتينويد قبل التركيز *L و^a*a و^b*b (15.84, 16.74, 20.91) على الترتيب، في حين ازدادت بتأثير عملية التركيز تحت التفريغ لتصبح (43.91, 24.92, 62.24) على الترتيب.

تشير شدة المؤشرات اللونية أثناء عملية الاستخلاص إلى استخلاص كمية أكبر من الكاروتينويد (Rini et al., 2022, 3)، تعود القيم المرتفعة لمؤشر الاحمرار (43.91) إلى وجود البيتا كاروتين بكمية كبيرة في المستخلص وتتوافق هذه النتائج مع ما توصل إليه (Koley and Singh, 2019, 545).

3- نتائج دراسة تأثير عملية التجفيف والتخزين في المؤشرات الكيميائية لمستخلص شرائح الجزر الطازجة المُرَفَّز: كانت العينة بعد التجفيف مباشرةً عبارة عن كتلة قليلة الصلابة ولكن أمكن تحويلها بسهولة إلى مسحوق عن طريق الطحن الفيزيائي، وقد بلغت إنتاجية المسحوق من مستخلص شرائح الجزر البرتقالي الطازجة (%69.24).

الجدول 2: نتائج دراسة تأثير التجفيف والتخزين في الخصائص الكيميائية لمستخلص شرائح الجزر الطازجة المُرَفَّز

ملون كاروتينويد مستخلص من شرائح الجزر البرتقالي الطازجة				المؤشر
(6) أشهر	(3) أشهر	(1) شهر	(0) الزمن	
1.83±0.01 ^b	1.78±0.03 ^b	1.73±0.06 ^a	1.71±0.07 ^a	محتوى الرطوبة (%)
5.89±0.001 ^c	6±0.002 ^b	6.01±0.002 ^a	6.03±0.003 ^a	pH
100±0.002 ^d	77.62±0.003 ^c	67.26±0.003 ^b	67.18±0.002 ^a	كفاءة التخليف(EE) %
0	1.31±0.003 ^c	2±0.003 ^b	2.36±0.003 ^a	الكاروتينويديات السطحية (SC)
5.73±0.003 ^d	5.854±0.002 ^c	6.11±0.001 ^b	7.192±0.002 ^a	الكاروتينويديات الكلية (TC)
10.2±0.014 ^d	20.13±0.011 ^c	28.38±0.020 ^b	32.22±0.011 ^a	النشاط المضاد للأكسدة مقدراً بطريقة DPPH (%)

تشير الأحرف الصغيرة المختلفة في السطر الواحد إلى وجود فرق معنوي بين المعاملات بتأثير التخزين عند $p \leq 0.05$

(SC: Surface Carotenoid ، TC: Total Carotenoid,EE: Encapsulation Efficiency)

يُبيّن الجدول (2) نتائج دراسة تأثير التجفيف والتخزين في محتوى الرطوبة لملون الكاروتينوي، إذ أن النسب القليلة المضافة من المالتودكسترين ساهمت في الاحتفاظ بالرطوبة في المسحوق، وقد يشير هذا إلى أن نشاط ربط المالتودكسترين للماء هو سبب ارتفاع محتوى الرطوبة قليلاً للملون الناتج، وتوافق ذلك مع (Chen et al., 2017, 15-30) الذين بينوا أن الحصول على مسحوق باستخدام طريقة التجفيف يعطي أقل محتوى رطوبة، تراوح محتوى الرطوبة ما بين (1.71-1.83%) خلال مدة تخزين (6) أشهر، كما ثبّين النتائج أنَّ الارتفاع المعني في محتوى الرطوبة أثناء التخزين بدرجة حرارة الغرفة 25 درجة مئوية بدأ بعد التخزين لمدة 3 أشهر (1.78%)، في حين تراوحت قيم الأُس الهيدروجيني ما بين (5.89-6.03) حيث أن استخدام الدهن في الاستحلاب ساهم في خفض رقم الأُس الهيدروجيني (Flores-Miranda et al., 2015, 671)، مع وجود تأثير معني لعملية التخزين في إطلاق بعض الأحماض الـ (pH) للملون الناتج عن التجفيف عند التخزين لمدة 6 أشهر، إذ يساهم تحلل جدار الكبسولات الدقيقة في إطلاق بعض الأحماض الدهنية مثل poly-ε-caprolactone والتي تساهم في انخفاض قيم الأُس الهيدروجيني وتوافق ذلك مع (Silva et al., 2016, 2). من المعروف أن الكاروتينويات تتعرض لتفاعلات الأزمرة والتحلل عند درجات حرارة مرتفعة فعند تحلل β -carotene ينتج مركبات مثل E-5,8-epoxy- β -carotene، كما يحدث تحلل ملحوظ عند إذابة الكاروتينويد في الزيت لتحضير مستحلب جاهز للتجفيف، لذا تمت الإذابة على البارد ومع ذلك الفترة الطويلة المستغرقة للإذابة على البارد لمدة 2 دقيقة من الممكن أن تؤدي إلى تحلل β -carotene الموجود في المستخلص (Chen et al., 2017, 12)، ثبّين النتائج في الجدول (2) تعرض الكاروتينويات للتحلل أثناء التخزين ولم يلحظ أي فصل طور مرئي بسبب الدهن طوال مدة التخزين مما يشير إلى أن الملونات كانت مستقرة وتوافقت هذه النتيجة مع وزملاؤه (Chen, 2017), انخفض محتوى الكاروتينويات في الملون الناتج ببطء خلال مدة التخزين حتى وصل مقدار الانخفاض إلى 20.32% تقريباً خلال مدة التخزين (6 أشهر)، وهناك عاملان رئيسان يمكن أن يكونا مسؤولين عن هذا الانخفاض وهما المساحة الكبيرة من جسيمات المستحلب نتيجة لتقليص حجمها إلى النطاق النانوي (Borba et al., 2019, 232)، والتشكل المحتمل للجذور الحرة أثناء عملية التجانس، إذ أن الظروف التي يتم فيها صنع الكبسولات النانوية تؤثر بشكل مباشر في خصائصها (Silva et al., 2016, 6).

في حين أن المواد المستخدمة في الاستحلاب لها دور مهم في محتوى الكاروتينويد في الملون الناتج، وقد بيّن Rifqi وآخرون (2019, 3) أن إضافة 20% من المالتودكسترين أثناء الاستحلاب يعطي أعلى نسبة بيناً كاروتين في الملون الناتج، في حين تقل درجات حرارة التخزين الأكثر برودة من معدل تحلل الكاروتينويات (González-Peña et al., 2021, 6).

كفاءة التغليف (EE) تصف نسبة الكاروتينويات المغلفة إلى الإجمالية في المسحوق، حيث توجد الكاروتينويات السطحية عند أو بالقرب من سطح جزيئات المسحوق وبالتالي يتم اكتشافها على أنها SC ، نظراً لأن SC تتآكسد بسهولة خاصة أثناء التخزين، لذا فإن كفاءة التغليف هي المؤشر الأولي لتحديد العمر الافتراضي للصبغات المحتوية على الكاروتينويد، يمكن تقسيم انخفاض محتوى الكاروتينويات خلال التخزين إلى أنه عائد إلى الانخفاض السريع في الكاروتينويات السطحية غير المغلفة في الفترة الأولى من التخزين والتدحرج التدريجي للكاروتينويات المغلفة، لذا فإن معدل التحلل في الفترة الأولى مرتبط بنسبة المكون النشط على سطح الجسيمات أو بالقرب منه، في حين أن معدل التحلل أثناء التخزين يتأثر بشكل أساسي بخصائص المواد مثل المسامية وسماكّة الجدار التي تحدد معدل انتشار الأكسجين وبالتالي تدهور محتوى الكاروتينويد، وتوافقت النتائج الموضحة في الجدول (2) مع ما توصل إليه Haas وزملاؤه (2019, 10).

يتبع انخفاض النشاط المضاد للأكسدة نفس الاتجاه الذي تظهره الملوثات عند فقد الكاروتينويدات، وذلك بسبب أكسدة الكاروتينويدات وخسارة الرابطة المزدوجة والتي تعد ضرورية لحفظه على النشاط المضاد للأكسدة. بين (González-Peña) وأخرون (2021,4) أن ظروف التخزين تلعب دوراً مهماً في النشاط المضاد للأكسدة، إذ أن التخزين الأكثر برودة يسبب فقداً أعلى للنشاط المضاد للأكسدة (Flores-Miranda et al., 2015, 677).

يُعد تقييم النشاط المضاد للأكسدة مهمًا لمعرفة دور التجفيف في حماية الخصائص الوظيفية للجزيء والحفاظ عليها فترة أطول، تبين النتائج الموضحة في الجدول (2) أن النشاط المضاد للأكسدة يرتبط ارتباطاً وثيقاً بتركيز الكاروتينويد المدمج في المستحلب، إذ يؤدي التخزين لمدة طويلة إلى انخفاض معنوي في النشاط المضاد للأكسدة.

3-3- نتائج دراسة مؤشرات اللون لعينات اللبن الرائب المدعم بملون الكاروتينويد المستخلص من شرائح الجزر البرتقالي الطازجة:

الجدول 3؛ نتائج دراسة مؤشرات اللون لعينات اللبن الرائب المدعم بملون الكاروتينويد المستخلص من شرائح الجزر البرتقالي الطازجة

مؤشرات اللون						العينات المدروسة
ΔH	ΔE	ΔC	b^*	a^*	L^*	
32.33±0.008 ^a	22.86±0.006 ^a	21.54±0.005 ^a	14.9±0.012 ^a	-15.55±0.003 ^a	95.16±0.002 ^a	البن الرائب (الشاهد)
67.57±0.010 ^b	47.78±0.007 ^b	45.49±0.008 ^b	45.77±0.009 ^b	-1.86±0.004 ^b	72.9±0.003 ^b	% 0.5
73.37±0.014 ^c	51.88±0.009 ^c	49.37±0.011 ^c	49.7±0.011 ^c	0.74±0.003 ^c	71.57±0.002 ^c	% 1
79.56±0.016 ^d	56.25±0.011 ^d	54.84±0.013 ^d	55.14±0.013 ^d	2.11±0.005 ^d	74.98±0.004 ^d	% 1.5
88.34±0.014 ^e	62.47±0.010 ^e	60.95±0.011 ^e	61.06±0.011 ^e	5.47±0.003 ^e	73.82±0.003 ^e	% 2

تشير الأحرف الصغيرة المختلفة في العمود الواحد إلى وجود فرق معنوي بين المعاملات بتأثير نسب الإضافة عند $p \leq 0.05$

ΔH : total color difference ، ΔC : total saturation difference, b^* : Yellowness ، a^* : Redness، L^* : Lightness)
(total hue difference

يبين الجدول (3) أن عينات اللبن الرائب (الشاهد) أبدت ارتفاعاً معنوياً ملحوظاً في درجة السطوع (L^*) ودرجة الاحمرار (a^*) وإنخفاضاً معنوياً ملحوظاً في درجة الاصفرار (b^*) بالمقارنة مع العينات المدعمة بحسب مختلفة من الكاروتينويدات، في حين أدى التدعيم بحسب مختلفة من الكاروتينويدات من 0.5% إلى 2% إلى فروقات معنوية واضحة في كافة مؤشرات اللون المدروسة وكان للإضافة بنسبة 1.5% الأثر المعنوي الأكبر في رفع قيمة السطوع (74.98)، في حين كان لنسبة الإضافة 2% الأثر الأكبر في رفع قيمة مؤشرات ($\Delta H, \Delta E, \Delta C, b^*, a^*$).

3-4- نتائج دراسة الخصائص الحسية للبن الرائب المدعم بملون الكاروتينويد المستخلص من شرائح الجزر البرتقالي الطازجة:

الجدول 4؛ نتائج دراسة الخصائص الحسية للبن الرائب المدعم بملون الكاروتينويد المستخلص من شرائح الجزر البرتقالي الطازجة

العينات المدروسة	القام	الرائحة	الطعم	اللون	درجة القبول العام
لبن الرائب (الشاهد)	4.9±0.001 ^a	4.9±0.001 ^a	4.9±0.001 ^a	4.9±0.001 ^a	4.9±0.001 ^a
	4.67±0.009 ^b	4.8±0.005 ^b	4.7±0.005 ^b	4.6±0.005 ^b	4.6±0.009 ^b
	4.45±0.008 ^c	4.7±0.006 ^c	4.3±0.007 ^c	4.5±0.009 ^c	4.3±0.006 ^c
	4.15±0.007 ^d	4.5±0.009 ^d	4.1±0.008 ^d	4.2±0.007 ^d	3.8±0.008 ^d
	4±0.005 ^e	4.3±0.003 ^e	3.9±0.004 ^e	4.3±0.005 ^e	3.5±0.007 ^e

تشير الأحرف الصغيرة المختلفة في العمود الواحد إلى وجود فرق معنوي بين المعاملات بتأثير نسب الإضافة عند $p \leq 0.05$

يُشير الجدول رقم (4) إلى أنَّ الخصائص الحسية لعينات اللبن الرائب المصنعة تُبيّن تفوق عينات الشاهد في كافة الخصائص الحسية المدروسة، في حين أدى ارتفاع نسبة إضافة ملون الكاروتينويد إلى 2% إلى تراجع كافة الخصائص الحسية، وكان للعينة 0.5% الأثر الإيجابي الأكبر في تحسين الخصائص الحسية لعينات اللبن الرائب مقارنة مع العينات المضاف لها التركيز الأعلى من ملون الكاروتينويد.

4- الاستنتاجات:

- المحتوى المرتفع من مستخلص الكاروتينويد الناتج عن شرائح الجزر الطازجة من (الكاروتينويدات الكلية، النشاط المضاد للأكسدة، الفينولات الكلية، الفلافونيدات الكلية).
- يساعد المالتودكسترين إثناء التجفيف في الحصول على محتوى رطوبة منخفض وبالتالي فترة تخزين أطول.
- ارتفاع محتوى المسحوق من الرطوبة وانخفاض في رقم pH والمحظى من الكاروتينويدات الكلية والنশاط المضاد للأكسدة أثناء تخزين الملونات الناتجة لمدة 6 أشهر بدرجة حرارة الغرفة.
- حظيت عينات اللبن الرائب المدعمة بـ 2% من الملون المستخلص من شرائح الجزر البرتقالي الطازجة على مؤشرات اللون الأعلى في حين حظيت العينات المدعمة بـ 0.5% على التقييم الحسي الأعلى من حيث اللون والطعم والقام والرائحة.

5- التوصيات:

- دراسة تأثير استخدام أنواع أخرى من المذيبات في كمية الكاروتينويدات المستخلصة.
- دراسة تأثير طرائق استخلاص الكاروتينويدات المختلفة في الخصائص الكيميائية للمستخلصات الناتجة.
- دراسة تأثير طرائق التجفيف المختلفة في الخصائص الكيميائية للكاروتينويدات.
- دراسة تأثير استخدام نسب مختلفة من المالتودكسترين في الخصائص الكيميائية للكاروتينويدات المغلفة.
- استخدام مواد مساعدة أخرى في تغليف الكاروتينويدات ودراسة تأثيرها في الخصائص الكيميائية للكاروتينويدات المغلفة.
- نوصي باستخدام الملونات الطبيعية (الكاروتينويدات المستخلصة من شرائح الجزر البرتقالي) بتركيز 0.5%-2% كملونات طبيعية وآمنة وصحية في الغذاء.
- إنتاج ملونات طبيعية من أصناف الجزر الأخرى المزروعة في سوريا.

التمويل: هذا البحث ممول من جامعة دمشق وفق رقم الممول (501100020595)

References:

1. AOAC. (1999). In Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis of AOAC International, Gaithersburg, USA.
2. AOAC. (2005). Association of Official Analytical Chemistry. Official methods of analysis (18th ed.). USA: Washington, DC, In K. Herlich (Ed.) 2500.
3. Borba, C. M., Tavares, M. N., Macedo, L. P., Araújo, G. S., Furlong, E. B., Dora, C. L., Burkert, G. F. (2019). Physical and Chemical Stability of B-Carotene Nanoemulsions During Storage and Thermal Process. Food Research International, 229-237. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.03.045>.
4. Bozalan, N. K., Karadeniz, F. (2011). Carotenoid Profile, Total Phenolic Content, and Antioxidant Activity of Carrots. International Journal of Food Properties, 14, 5, 1060-1068, DOI: 10.1080/10942910903580918252 – 256.
5. Chen, J., Li, F., Li, Z., Clements, D. J., Xiao, H. (2017). Encapsulation of Carotenoids in Emulsion-based Delivery Systems: Enhancement of β-carotene Water-Dispersibility and Chemical Stability. Food Hydrocolloids, 9, 49-55.
6. Do, H. T., Kha, T. C., Huynh, T. P. P. (2019). Spray-Drying Microencapsulation of -Carotene by Polysaccharide from Yeast Cell Walls. The Journal of Agriculture and Development, 18, 6., 49-57.
7. Eun, J. B., Maruf, A., Das, P. R., Nam, S. H. (2019). A Review of Encapsulation of Carotenoids Using Spray Drying and Freeze Drying. Food Science and Nutrition, 1-26. DOI: 10.1080/10408398.2019.1698511.
8. Flores-Miranda, G. A., Toro, G. V. D., Yáñez-Fernández, J. (2015). Stability Evaluation of B-Carotene Nanoemulsions Prepared by Homogenization-Emulsification Process Using Stearic Acid as Oil Phase. Revista Mexicana de Ingeniería Química, 14, 3, 667-680. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62043088009>. México.
9. Gao, J., Rupasinghe H. P. V. (2012). Nutritional, Physicochemical and Microbial Quality of Ultrasound-Treated Apple-Carrot Juice Blends. Food and Nutrition Sciences, 3, 212-218. <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2012.32031>.
10. Ghosh, S., Adak, K., Saha, P., Upadhyay, S., Ghosh, A., Das, P. and Chatterjee, A. (February, 2019). Beta-Carotene Retention as Retinol Activity Equivalent at Different Cooking and Storage Variants. International Food Research Journal, 26, 1, 355 – 361. <http://www.ifrj.upm.edu.my>.
11. González-Peña, M. A., Lozada-Ramírez, J. D., Ortega-Regules, A. E. (2021). Antioxidant Activities of Spray-Dried Carotenoids Using Maltodextrin-Arabic Gum as Wall Materials. Bulletin of the National Research Centre, 45, 1-11. <https://doi.org/10.1186/s42269-021-00515-z>.
12. González-Peña, M. A., Ortega-Regules, A. E., Parrodi, C. A., Lozada-Ramírez, J. D., (2023). Chemistry, Occurrence, Properties, Applications, and Encapsulation of Carotenoids—A Review. Multidisciplinaey Digital Publishing Institute, 12, 313, 1-22. <https://doi.org/10.3390/plants12020313>.

- 13.Haas, K., Robben, P., Kiesslich, A., Volkert, M., Jaeger, H. (2019). Stabilization of Crystalline Carotenoids in Carrot Concentrate Powders: Effects of Drying Technology, Carrier Material, and Antioxidants. Multidisciplinaey Digital Publishing Institute, 8, 285, 1 – 16. Doi:10.3390/foods8080285.
- 14.Icontec, Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. (1999). Norma técnica colombiana uchuva NTC 4580. Bogota.
- 15.Jadhav, R. V., Bhujbal, S. S. (2020). A Review on Natural Food Colors. Pharmaceutical Resonance, 2, 2, 12 – 20. India.
- 16.Koley, T. K., Singh, B. K. (September, 2019). Quality Attributes of Novel Carrot Genotypes. Indian Journal of Horticulture, 76, 3, 543-547. DOI : 10.5958/0974-0112.2019.00087.2.
- 17.Larmond, E. (1970). Methods for Sensory Evaluation of Food Publication. Canadi Department pf Agriculture, 1284, 1-57.
- 18.Lavelli, V., Sereikaité, J. (2022). Kinetic Study of Encapsulated β-Carotene Degradation in Dried Systems: A Review. Multidisciplinaey Digital Publishing Institute, 11, 437, 1-18. <https://doi.org/10.3390/foods11030437>.
- 19.Manisha, Padmini, K., Rao, V. K., MV, D. (2023). Screening for Carotenoid Content in Accessions of Tropical Carrot (*Daucus Carota L.*). The Pharma Innovation Journal, 12, 6, 3544-3549. <https://www.thepharmajournal.com>.
- 20.Maoka, T. (2020). Carotenoids as Natural Functional Pigments. Journal of Natural Medicines, 74, 1-16. <https://doi.org/10.1007/s11418-019-01364-x>.
- 21.Martins, V. F. R., Pintado, M. E., Morais, R. M. S. C., Morais, A. M. M. B. (2023). Valorisation of Micro/Nanoencapsulated Bioactive Compounds from Plant Sources for Food Applications Towards Sustainability. Multidisciplinaey Digital Publishing Institute, 12, 32. pp:1-23.
- 22.Miekus, M., Iqbal, A., Marszałek, K., Puchalski, C., Swiergiel, A. (2019). Green Chemistry Extractions of Carotenoids from *Daucus carota L.*—Supercritical Carbon Dioxide and Enzyme-Assisted Methods. Multidisciplinaey Digital Publishing Institute, 24, 4339, 1-20. Doi:10.3390/molecules24234339.
- 23.Nahimana, H., Mujumdar, A. S., Zhang, M. (2011). Drying and Radial Shrinkage Characteristics and Changes in Color and Shape of Carrot Tissues (*Daucus Carota L*) During Air Drying. African Journal of Biotechnology, 10, 68, 15327-15345. DOI: 10.5897/AJB11.576.
- 24.Nedamani, A. R. (2022). Stability Enhancement of Natural Food Colorants- A Review. Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology, 10, 4, 369-388. DOI: 10.22101/jrifst.2022.277772.1235.
- 25.Rifqi, M., Setiasih, I. S., Cahayana, Y. (2019). Total B-Carotene of B-Carotene Carrot Powder (*Daucus Carota L.*) Encapsulation Result. Earth and Environmental Science, 443, 1-7. Doi:10.1088/1755-1315/443/1/012063.
- 26.Rini, Rasdiana, F. Z., Syukri, D. (2022). Extraction Technique For Maximum Yield of Carotene From Crops (Carrot). Earth and Environmental Science, 1-6. Doi:10.1088/1755-1315/1059/1/012044.

- 27.Saini, R. K., Keum, Y. S. (July, 2017). Carotenoid Extraction Methods: A Review of Recent Developments. *Food Chemistry*, 1-48. <https://www.researchgate.net/publication/318594238>. Korea.
- 28.Schmiedeskamp, A., Schreiner, M., Baldermann, S. (2022). Impact of Cultivar Selection and Thermal Processing by Air Drying, Air Frying, and Deep Frying on the Carotenoid Content and Stability and Antioxidant Capacity in Carrots (*Daucus carota L.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70, 1629-1639. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c05718>.
- 29.Šeregelj, V. N., Ćetković, G. S., Čadanović-Brunet, J. M., Šaponjac, V. T. T., Vulić, J. J., Stajčić, S. S. (2017). Extraction and Encapsulation of Bioactive Compounds from Carrots. *Acta Periodica Technologica*, 48, 261 – 273. <https://doi.org/10.2298/APT1748261S>.
- 30.Sharmin, T., Ahmed, N., Hossain, A., Hosain, M. M., Mondal, S. C., Haque, M. R., Almas, M., Siddik, A. B. (2016). Extraction of Bioactive Compound from Some Fruits and Vegetables (Pomegranate Peel, Carrot and Tomato). *American Journal of Food and Nutrition*, 4, 1, 8-19. DOI: 10.12691/ajfn-4-1-2.
- 31.Silva, M. M. D., Nora, L., Cantillano, R. F. F., Paese, K., Guterres, S. S., Pohlmann, A. R., Costa, T. M. H., Rios, A. D. O. (2016). The Production, Characterization, and the Stability of Carotenoids Loaded in Lipid-Core Nanocapsules. *Food Bioprocess Technol*, 1-11. DOI 10.1007/s11947-016-1704-3.
- 32.Singh, B. K., Koley, T. K., Maurya, P. M., Singh, P. M., Singh, B. (September–October, 2018). Phytochemical and Antioxidative Potential of Orange, Red, Yellow, Rainbow and Black Coloured Tropical Carrots (*Daucus Carota Subsp. Sativus Schubl. & Martens*). *Physiol Mol Biol Plants*, 24, 5, 899-907. <https://doi.org/10.1007/s12298-018-0574-8>.
- 33.Soliman, T. N., Nasser, S. A. (2022). Characterization of Carotenoids Double-Encapsulated and Incorporate in Functional Stirred Yogurt. *Sustainable Food Systems*, 1-13. DOI 10.3389/fsufs.2022.979252.
- 34.Zhao, Y. H., Deng, Y. J., Wang, Y. H., Lou, Y. R., He, L. F., Liu, H., Li, T., Yan, Z. M., Zhuang, J., Xiong, A. S. (2022). Changes in Carotenoid Concentration and Expression of Carotenoid Biosynthesis Genes in *Daucus carota* Taproots in Response to Increased Salinity. *Multidisciplinaey Digital Publishing Institute*, 8, 650, 1-10. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8070650>.

