

تولید امولسیون‌های لیکوپین با استفاده از ژلاتین و مالتودکسترین و بهینه سازی فرآیند با به کارگیری روش سطح پاسخ

آزاده سلیمی^{a*}، یحیی مقصودلو^b، سید مهدی جعفری^c، علیرضا صادقی ماهونک^b،
مهدی کاشانی نژاد^b، امان محمد ضیایی^c

^a استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران
^b دانشیار دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
^c استادیار دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۵۵

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۶/۱

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۹/۲۳

چکیده

مقدمه: لیکوپین رنگدانه ای مفید برای بدن است اما به دلیل آسیب پذیری بالا در برابر شرایط محیطی، کاربرد آن در صنعت محدود شده است. برای رفع این مشکل می توان از روش هایی مانند ریزپوشانی لیکوپین استفاده کرد. گام اول بدین منظور، تهیه امولسیون با بالاترین پایداری می باشد لذا هدف از این تحقیق، بهینه سازی شرایط تولید امولسیون ها با استفاده از روش سطح پاسخ بود.

مواد و روش ها: بر اساس روش سطح پاسخ، هجده امولسیون با سه متغیر مستقل شامل سرعت هموژنایزر، مقدار لیکوپین و مقدار ژلاتین + مالتودکسترین تهیه شدند. ابتدا لیکوپین در روغن سویا حل شد تا به محلول ۵٪ (وزنی-وزنی) لیکوپین برسیم، ژلاتین و مالتودکسترین نیز در آب حل شده و به نسبت ۱ به ۱۹ با هم ترکیب شدند. سپس لیکوپین، با استفاده از هموژنایزر در مخلوط ژلاتین + مالتودکسترین پخش شد. پس از تولید، پایداری امولسیون ها از طریق اندازه گیری ویسکوزیته، اندیس کرمی شدن و اندازه قطرات بررسی شد.

یافته ها: سرعت هموژنایزر، مقدار لیکوپین و مقدار ژلاتین+مالتودکسترین تاثیر معنی داری بر اندازه قطرات امولسیون، ویسکوزیته و اندیس کرمی داشتند. مدل درجه دو به خوبی توانست تغییرات اندازه قطرات در امولسیون را بیان کند و در مورد ویسکوزیته و اندیس کرمی شدن، این مدل های خطی بودند که به خوبی با داده ها همبستگی داشتند.

نتیجه گیری: برای تولید بهترین امولسیون با پایداری بالا، لازم است مقدار ۳۵/۲۸٪ وزنی-وزنی + مالتودکسترین با ۱۸/۰۷٪ وزنی-وزنی لیکوپین در هموژنایزری با سرعت ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه امولسیون شوند.

واژه های کلیدی: امولسیون لیکوپین، پایداری، روش سطح پاسخ، ژلاتین، مالتودکسترین

مقدمه

یکی از رنگدانه‌های کاروتنوئیدی مهم لیکوپن است که اثر مثبت آن در بدن و جلوگیری از ابتلا به بسیاری از بیماری‌ها بخصوص سرطان‌ها ثابت شده است اما به دلیل داشتن پیوندهای دوگانه غیر اشباع، به شدت در معرض اکسیداسیون و تخریب در طول فرآیند و نگهداری قرار دارد (Lee & Chen, 2002; Pesek & Warthesen, 1987). یکی از روش‌های افزایش مقاومت این ماده در برابر شرایط محیطی، فرآیند ریزپوشانی می‌باشد. در این حالت لیکوپن به عنوان ماده هسته در مرکز کپسول‌هایی با اندازه بسیار کوچک^۱ قرار می‌گیرد و به دلیل کاهش تماس با شرایط بیرونی، ماندگاری بیشتری پیدا می‌کند (Shu et al., 2006). برای رسیدن به بهترین شرایط ریزپوشانی در مورد موادی که نامحلول در آب هستند مانند لیکوپن، گام نخست تولید امولسیون با حداکثر پایداری می‌باشد و خصوصیات ذاتی امولسیون‌ها مانند اندازه قطرات، پایداری و اندیس کرمی شدن و ویسکوزیته آن‌ها می‌تواند تاثیر مستقیمی بر کیفیت پودرهای ریزپوشانی شده داشته باشد (Jafari et al., 2008). لذا تولید امولسیون‌های پایدار می‌تواند موجب بهینه شدن شرایط نگهداری و حفظ کیفیت رنگدانه لیکوپن گردد.

برای تولید امولسیون‌ها، باید توسط اعمال نیروهای خارجی و با استفاده از موادی با فعالیت سطحی بالا و ترکیباتی با خصوصیات امولسیفایری، شرایط را به سمت پایداری سوق داد. این پایداری تا حدود زیادی وابسته به اندازه ذرات و میزان پراکندگی ذرات فاز گسسته در فاز پیوسته، نوع امولسیفایر و ویسکوزیته امولسیون است. در واقع پایداری امولسیون‌ها را می‌توان با افزودن پایدار کننده‌ها که در بسیاری از مواقع و بخصوص در سیستم‌های خوراکی می‌توانند بیوپلیمرها باشند، افزایش داد (Huang et al., 2001). در این بین پروتئین‌ها نقش مهمی ایفا می‌کنند چرا که قادر هستند با اتصال پیدا کردن به فاز گسسته و تشکیل فیلم از به هم پیوستن قطرات تا حدود زیادی جلوگیری کنند (Klein et al., 2010; Taherian et al., 2011; Rodea-González et al., 2012). ژلاتین یکی از پروتئین‌های پر مصرف در زمینه تولید

امولسیون‌ها و ریزپوشانی ترکیبات مختلف می‌باشد و دلیل آن، خصوصیات امولسیفایری مناسب، قابلیت تشکیل فیلم، حلالیت پذیری در آب و خوراکی بودن آن است (Shu et al., 2006).

دسته دیگری از بیوپلیمرها که به طور وسیعی در تولید امولسیون‌ها استفاده می‌شوند، پلی ساکاریدهای هستند. پلی ساکاریدهایی مانند مالتودکسترین به دلیل خاصیت آبدوستی زیاد، ساختار شاخه ای و وزن مولکولی بالا، نقش مهمی در افزایش غلظت و چسبندگی در محیط دارند. در واقع این ترکیبات می‌توانند با افزایش ویسکوزیته، یک سد ماکرومولکولی در برابر فرآیند ناپایداری امولسیون تشکیل دهند (Sun & Arntfield, 2012). بسیاری از این پلی ساکاریدها را می‌توان به طور ترکیبی با موادی مانند ژلاتین استفاده کرد تا بتوان به خصوصیات پایداری و امولسیفایری بهتری دست یافت (Sun et al., 2007).

در بین ویژگی‌های امولسیون، اندازه قطرات یکی از مهم‌ترین عوامل موثر بر پایداری آن می‌باشد که خود می‌تواند تحت تاثیر شرایط گوناگون در حین تولید امولسیون قرار گیرد. به عنوان مثال دور و سرعت هموژنایزر، غلظت و مقدار مواد جامدی که به عنوان پایدار کننده و امولسیفایر استفاده می‌شوند و حتی مقدار فاز گسسته‌ای که به امولسیون اضافه می‌شوند، همگی می‌توانند بر اندازه قطرات موثر باشند (Jafari et al., 2012; Ilia Anisa & nour, 2010; Jafari et al., 2007a; Jafari et al., 2007b; Chanamai & McClements, 2001).

هدف از این تحقیق، بهینه‌سازی شرایط تولید امولسیون‌ها با استفاده از روش سطح پاسخ و یافتن نقاط بهینه موثر بر پایداری امولسیون‌ها شامل سرعت دور هموژنایزر (۱۴۰۰۰ تا ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه)، مقدار ژلاتین + مالتودکسترین (۳۰ تا ۴۰ درصد) و همچنین مقدار لیکوپن (۱۰ تا ۲۰ درصد ماده خشک) افزوده شده است تا در نهایت بتوان بهترین امولسیون را جهت فرآیندهای بعدی از جمله ریزپوشانی تولید کرد.

مواد و روش‌ها

- مواد

¹ Micro size

چین) متصل به کامپیوتر استفاده شد. بدین منظور یک قطره از امولسیون در ۱۰۰ سی سی محلول سدیم دودسیل سولفات ۰/۰۱٪ (وزنی-حجمی) رقیق شده (Tcholakova *et al.*, 2004) و سپس یک قطره از آن روی لام ریخته شد و زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰۰ از آن ها عکس گرفته شد. در گام بعدی این عکسها توسط نرم افزار Image J (نسخه ۱/۴۴P) آنالیز شده و اندازه قطرات مشخص شد (Ushikubo & Cunha, 2014).

- بررسی پایداری از طریق اندیس کرمی شدن:

برای اندازه گیری اندیس کرمی شدن در امولسیونها، تغییرات فازی در امولسیونهایی که در لوله های آزمایش نگهداری می شدند مورد بررسی قرار گرفت. در مدت نگهداری، مشاهده شد که امولسیونها به سه قسمت شامل یک لایه بالایی کدر، لایه میانی و لایه ای شفاف در پایین لوله آزمایش تفکیک شدند. مجموعه ارتفاع لایه کدر بالایی و لایه شفاف پایینی اصطلاحاً لایه سرم نامیده می شود و با داشتن ارتفاع کل امولسیون اولیه، به کمک رابطه ۱ می توان اندیس کرمی شدن امولسیونها را محاسبه کرد (Li *et al.*, 2012).

=اندیس کرمی شدن (%)

(۱) $100 \times (\text{ارتفاع کل امولسیون اولیه} / \text{مجموعه ارتفاع لایه کدر بالایی و لایه شفاف پایینی})$

- بررسی ویسکوزیته

به منظور اندازه گیری ویسکوزیته نمونه ها، مقدار ۱۵ میلی لیتر از هریک برداشته شده و به کمک دستگاه ویسکومتر (D220، بروکفیلد، آمریکا) و با استفاده از اسپندل استوانه ای LV-2C، ویسکوزیته آن ها در دمای ثابت ۳۰ درجه سانتی گراد خوانده شد (Gharibzahedi *et al.*, 2011).

- بهینه سازی

برای بهینه سازی فرآیند، از نرم افزار Design Expert نسخه ۶,۰,۲ استفاده شد. بدین منظور از طرح مرکب مرکزی با نقاط مرکزی در هر وجه و ۴ نقطه مرکزی برای بررسی تاثیر سه متغیر مستقل شامل سرعت هموژنایزر (۱۴۰۰۰-۱۸۰۰۰ دور در دقیقه)، مقدار ماده جامد (ژلاتین + مالتودکسترین، ۳۰-۴۰٪ وزنی-وزنی) و مقدار لیکوپین

لیکوپین از شرکت آنهویی مین متالز دولوپمنت (آنهویی چین) خریداری شد، ژلاتین از شرکت فرمند (ایران) تهیه گردید، مالتودکسترین با دکستروز اکی والان ۲۰ از شرکت کینهانگدائو لیهو (کینگهدائو، چین) تهیه شد. روغن سویا ماهک ساخته شده در شهرک صنعتی سلیمی (تبریز، ایران)، از بازار محلی خریداری شد، سدیم آزاید از شرکت سیگما (آمریکا) و سدیم دودسیل سولفات از شرکت مرک (آلمان) تهیه گردیدند.

- تهیه امولسیونها

برای تولید فاز پیوسته که شامل ترکیبی از پروتئین ژلاتین و مالتودکسترین بود، ابتدا پودر مالتودکسترین در آب مقطر حل شده و برای اطمینان از انحلال کامل آن، به مدت یک شب باقی ماند. سپس ژلاتین در آب جوش حل شده و با نسبت ۱ به ۱۹ با مالتودکسترین ترکیب شد. به همین روش مخلوط هایی با درصدهای مختلف ماده جامد (۳۰٪، ۳۵٪ و ۴۰٪ وزنی/وزنی) بدست آمد (Shu *et al.*, 2006).

از طرفی دیگر، لیکوپین خریداری شده در روغن سویا حل شد تا به محلول یکنواخت ۵٪ وزنی-وزنی لیکوپین در روغن برسیم (Rocha *et al.*, 2012). برای تولید امولسیونها، محلول روغنی لیکوپین به طور تدریجی به مخلوط ژلاتین+مالتودکسترین اضافه شد. بدین منظور و برای مخلوط کردن دو فاز، از هموژنایزر دور بالا (D91126، شرکت هایدولف، آلمان) استفاده شد. در مرحله اول برای تولید امولسیون اولیه با ذرات درشت، از سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه و سپس برای تولید نهایی امولسیونها از سرعت های ۱۴۰۰۰ تا ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد.

برای بررسی پایداری امولسیونها و اندازه گیری شاخص کرمی شدن، به امولسیونها ۰/۰۱٪ سدیم آزاید اضافه شده (برای جلوگیری از فساد میکروبی) و نمونهها در لوله های آزمایش ریخته شدند و در بن ماری (WB14، ممرت، آلمان) ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲ هفته باقی ماندند (Jafari *et al.*, 2012).

- بررسی اندازه قطرات امولسیون

برای بررسی اندازه ذرات قطرات امولسیون، از میکروسکوپ دیجیتالی (VIVA-BW1008، گانگ دانگ،

متغیرهای مستقل، بنا بر توصیه سایر محققین، از طرح‌های سعه‌بدی و کنتور مدل‌های رگرسیونی استفاده شد (Gharibzahedi et al., 2012).

یافته‌ها

- پیدا کردن مدل‌های مناسب

میانگین اندازه قطرات، اندیس کرمی شدن و مقادیر ویسکوزیته به دست آمده از کلیه امولسیون‌های تولید شده در جدول ۲ آورده شده‌اند. در مورد اندازه قطرات، مقادیر بهینه شده با مدل درجه دو تعریف شدند. همچنین برای ویسکوزیته و اندیس کرمی شدن، مدل‌های خطی به عنوان بهترین مدل‌ها انتخاب شدند. ضرایب همبستگی برای ویسکوزیته و اندیس کرمی شدن، به ترتیب ۰/۹۶۳۱ و ۰/۸۷۰۳ بودند، همچنین ضریب همبستگی برای اندازه قطرات، معادل ۰/۹۱۳۹ بود که پس از ساده کردن مدل به ۰/۸۳۳۱ تبدیل شد.

همانطور که در جدول ۲ مشخص است، مقادیر تجربی بدست آمده همخوانی مناسبی با مقادیر پیش بینی شده توسط روش سطح پاسخ داشتند و ضرایب همبستگی نشان می‌دهند که مدل‌های انتخاب شده به خوبی با داده‌ها هماهنگ شده‌اند.

(۱۰-۲۰٪ وزنی-وزنی) بر سه متغیر وابسته شامل اندازه قطرات امولسیون، اندیس کرمی شدن و ویسکوزیته به عنوان پاسخ‌ها، مورد استفاده قرار گرفت. سطوح کد شده و واقعی متغیرها در جدول ۱ آورده شده‌اند.

جدول ۱- نمادها، مقادیر کد شده و مقادیر واقعی متغیرهای مستقل

نماد	متغیرهای مستقل	سطوح کد شده		
		-۱	۰	۱
X ₁	سرعت هموزنایزر (دور در دقیقه)	۱۴۰۰۰	۱۶۰۰۰	۱۸۰۰۰
X ₂	درصد لیکوپین (وزنی/وزنی)	۱۰	۱۵	۲۰
X ₃	درصد ژلاتین+مالتودکسترین (وزنی/وزنی)	۳۰	۳۵	۴۰

معنی‌دار بودن یا نبودن هر یک از ضرایب مدل‌های ارائه شده توسط نرم‌افزار، از طریق بررسی *p*-value مشخص شد و مقادیری که ارزشی بالاتر از ۰/۰۵ داشتند، معنی‌دار نبوده و از مدل‌ها حذف شدند تا مدل‌های جدیدی با پارامترهای معنی‌دار ($P < 0.05$) بدست آیند. کیفیت مدل‌های مناسب از طریق بررسی ضریب همبستگی (R^2) و ضریب همبستگی تنظیم شده ($Adjusted R^2$) مورد بررسی قرار گرفت.

همچنین برای بررسی تصویری و گرافیکی تاثیرات

جدول ۲- مقادیر تجربی و پیش بینی شده برای اندازه قطرات، ویسکوزیته و اندیس کرمی شدن

شماره آزمایش	متغیرهای مستقل			مقادیر ژلاتین+مالتودکسترین (درصد سرعت هموزناسیون)				متغیرهای وابسته				
	X ₁	X ₂	X ₃	اندیس کرمی شدن (%)	ویسکوزیته (سانتی یواز)	اندازه قطرات (میکرومتر مربع)	پیش بینی شده	تجربی	پیش بینی شده	تجربی	پیش بینی شده	تجربی
۱	۱۶۰۰۰	۱۰	۳۵	۴۷/۵۳	۵۴/۵۰	۹۳/۰۲	۹۹/۳۲	۲۴/۹۵	۳۱/۹۳	۲۴/۹۵	۳۱/۹۳	۳۱/۹۳
۲	۱۶۰۰۰	۱۵	۴۰	۴۲/۴۳	۴۹/۸۰	۱۸۸/۱۲	۱۸۰/۶۵	۳۱/۳۷	۳۰/۴۵	۶۸/۶۴	۲۱۷/۲۳	۶۸/۶۴
۳	۱۴۰۰۰	۲۰	۴۰	۶۰/۵۴	۶۴/۱۲	۲۰۲/۵۶	۲۱۷/۲۳	۶۸/۶۴	۶۹/۹۸	۶۸/۶۴	۲۱۷/۲۳	۶۸/۶۴
۴	۱۶۰۰۰	۱۵	۳۵	۵۷/۵۵	۶۲/۰۷	۱۱۶/۶۲	۱۱۱/۵۷	۳۱/۳۷	۳۰/۸۹	۳۱/۳۷	۱۱۱/۵۷	۳۰/۸۹
۵	۱۴۰۰۰	۱۰	۴۰	۴۰/۵۱	۳۸/۰۲	۱۵۵/۳۷	۱۵۶/۹۸	۴۰/۰۲	۳۲/۲۰	۱۵۶/۹۸	۱۵۶/۹۸	۳۲/۲۰
۶	۱۸۰۰۰	۱۵	۳۵	۴۹/۴۵	۵۳/۳۵	۱۲۵/۷۷	۱۱۶/۹۸	۲۶/۷۰	۲۸/۶۲	۱۱۶/۹۸	۱۱۶/۹۸	۲۸/۶۲
۷	۱۶۰۰۰	۱۵	۳۰	۷۲/۶۶	۶۶/۳۴	۴۵/۱۱	۴۴/۵۷	۳۱/۳۷	۳۴/۴۰	۴۴/۵۷	۴۴/۵۷	۳۴/۴۰
۸	۱۴۰۰۰	۲۰	۳۰	۹۰/۷۷	۸۶/۰۶	۵۹/۵۵	۵۱/۷۶	۶۸/۶۴	۷۸/۰۵	۵۱/۷۶	۵۱/۷۶	۷۸/۰۵
۹	۱۶۰۰۰	۱۵	۳۵	۵۷/۵۵	۶۲/۲۱	۱۱۶/۶۲	۱۱۲/۳۱	۳۱/۳۷	۳۰/۸۶	۱۱۲/۳۱	۱۱۲/۳۱	۳۰/۸۶
۱۰	۱۸۰۰۰	۲۰	۳۰	۷۴/۵۸	۷۹/۹۳	۷۷/۸۶	۸۲/۹۴	۲۵/۲۴	۲۸/۲۹	۸۲/۹۴	۸۲/۹۴	۲۸/۲۹
۱۱	۱۶۰۰۰	۱۵	۳۵	۵۷/۵۵	۶۲/۴۰	۱۱۶/۶۲	۱۱۱/۵۴	۳۱/۳۷	۳۰/۸۸	۱۱۱/۵۴	۱۱۱/۵۴	۳۰/۸۸
۱۲	۱۸۰۰۰	۲۰	۴۰	۴۴/۳۴	۳۶/۴۴	۲۲۰/۸۷	۲۴۷/۹۷	۲۵/۲۴	۲۴/۵۳	۲۴۷/۹۷	۲۴۷/۹۷	۲۴/۵۳
۱۳	۱۴۰۰۰	۱۰	۳۰	۷۰/۷۵	۶۵/۶۹	۱۲/۳۷	۲۸/۴۶	۴۰/۰۲	۵۱/۹۹	۲۸/۴۶	۲۸/۴۶	۵۱/۹۹
۱۴	۱۸۰۰۰	۱۰	۴۰	۲۴/۳۲	۱۳/۲۱	۱۷۳/۶۸	۱۶۰/۳۴	۲۸/۱۷	۲۵/۵۲	۱۶۰/۳۴	۱۶۰/۳۴	۲۸/۱۷
۱۵	۱۴۰۰۰	۱۵	۳۵	۶۵/۶۴	۶۴/۸۶	۱۰۷/۴۶	۱۰۲/۶۷	۵۴/۳۳	۳۹/۴۵	۱۰۲/۶۷	۱۰۲/۶۷	۳۹/۴۵
۱۶	۱۶۰۰۰	۱۵	۳۵	۵۷/۵۵	۶۲/۱۹	۱۱۶/۶۲	۱۱۱/۹۸	۳۱/۳۷	۳۰/۰۰	۱۱۱/۹۸	۱۱۱/۹۸	۳۰/۰۰
۱۷	۱۸۰۰۰	۱۰	۳۰	۵۴/۵۵	۵۴/۸۶	۳۰/۶۷	۴۰/۴۰	۲۸/۱۷	۲۶/۵۶	۴۰/۴۰	۴۰/۴۰	۲۸/۱۷
۱۸	۱۶۰۰۰	۲۰	۳۵	۶۷/۵۶	۵۹/۸۷	۱۴۰/۲۱	۱۲۱/۵۴	۳۷/۷۹	۳۱/۵۷	۱۲۱/۵۴	۱۲۱/۵۴	۳۷/۷۹

پارامتر خطی سرعت هموزنایزر نیز تاثیر کمتر اما معنی داری بر مقدار ویسکوزیته داشت ($P < 0.05$). هیچ یک از پارامترهای درجه دو و اثرات متقابل، تاثیر معنی داری بر این ویژگی نداشتند.

معادلات نهایی بر اساس پارامترهای کد شده

معادلات نهایی برای اندازه قطرات

قبل از ساده سازی

$$\begin{aligned} X_1 + 6/42 \quad X_2 - 3/66 \quad X_3 - 7/89 \\ X_1 X_2 + 2/88 \quad X_1 X_3 + 1/12 \quad X_2 X_3 + 5/38 \quad X_1^2 + 3/09 \\ X_2^2 + 3/77 \quad X_3^2 \end{aligned} \quad (2)$$

بعد از ساده سازی

$$31/37 - 13/82 \quad X_1 + 6/42 \quad X_2 - 7/89 \quad X_1 X_2 + 9/15 \quad X_1^2 \quad (3)$$

معادله اندیس کرمی شدن

$$57/55 - 8/10 \quad X_1 + 10/01 \quad X_2 - 15/12 \quad X_3 \quad (4)$$

معادله ویسکوزیته

$$116/62 + 9/15 \quad X_1 + 23/59 \quad X_2 + 71/50 \quad X_3 \quad (5)$$

همچنین از جدول آنالیز واریانسها برای بررسی معنی دار بودن یا نبودن پارامترهای مدلها استفاده شد (جدول ۳) و برای هر پارامتری، مقادیر F بالاتر و P پایین تر نشانه معنی دارتر بودن آن ضریب رگرسیونی بود (Quanhong & Caili, 2005)، بنابراین متغیرهایی که بیشترین تاثیر را بر اندازه قطرات داشته اند، به ترتیب پارامتر خطی سرعت هموزنایزر و سپس اثر متقابل سرعت هموزنایزر و مقدار لیکوپن، پارامتر خطی مقدار لیکوپن و در نهایت پارامتر درجه دوم سرعت هموزنایزر بوده اند ($P < 0.05$) سایر پارامترها تاثیر معنی داری نداشته و از مدل حذف شدند.

در مورد اندیس کرمی شدن، متغیر مستقلی که بیشترین تاثیر معنی دار را داشت، مقدار ژلاتین + مالتودکسترین بود و پس از آن متغیرهای مقدار لیکوپن و سرعت هموزنایزر، تاثیر زیادی بر این مشخصه داشتند ($P < 0.05$). هیچ یک از پارامترهای درجه دو و اثرات متقابل، تاثیر معنی داری بر اندیس کرمی شدن نداشتند.

در نهایت نتایج به دست آمده نشان دادند که متغیر وابسته ویسکوزیته، شدیداً تحت تاثیر پارامترهای خطی مقدار ژلاتین + مالتودکسترین و مقدار لیکوپن بود. همچنین

جدول ۳- جدول آنالیز واریانس ضرایب رگرسیونی مدل های بدست آمده

متغیرها	اندازه قطرات		ویسکوزیته		اندیس کرمی شدن	
	ضرایب رگرسیون	F-value P-value	ضرایب رگرسیون	F-value P-value	ضرایب رگرسیون	F-value P-value
X_0	29/66		116/62		57/55	
خطی						
X_1	-13/82	46/32 < 0.0001	9/15	5/31 0.0370	-8/10	15/61 0.0014
X_2	6/42	10/01 < 0.033	23/59	35/31 < 0.0001	10/01	23/88 0.0002
X_3	-3/66	3/25 < 0.1089	71/50	324/30 < 0.0001	-15/12	54/44 < 0.0001
دوفاکتوره						
$X_1 X_2$	-7/89	12/08 0.0084	-	-	-	-
$X_1 X_3$	2/88	1/61 0.2397	-	-	-	-
$X_2 X_3$	1/12	0/25 0.6234	-	-	-	-
درجه دو						
X_1^2	5/38	7/56 0.166	-	-	-	-
X_2^2	3/09	0/63 0.4509	-	-	-	-
X_3^2	3/77	0/93 0.3625	-	-	-	-
R^2	0/9139		0/9631		0/8703	
Adj- R^2	0/8171		0/9551		0/8425	

- تاثیر متغیرهای مستقل بر اندازه قطرات

برای به تصویر کشیدن اثر متغیرهای مستقل بر متغیرهای وابسته، طرح‌های سه بعدی و کنتور مدل‌های درجه دو و خطی مورد بررسی قرار گرفتند. بدین منظور، در هر طرحی، دو متغیر مستقل و یک متغیر وابسته در حالیکه سومین متغیر مستقل در مقدار مرکزی خود ثابت نگه داشته شده بود، به تصویر کشیده شدند.

همانطور که در شکل ۱ مشخص شده است، با افزایش دور هموژنایزر از ۱۴۰۰۰ به ۱۸۰۰۰، اندازه قطرات امولسیون به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.05$). دلیل این امر را می‌توان اینگونه توجیه کرد که افزایش دور موجب افزایش دانسیته انرژی و نیروی وارد شده بر سیستم می‌گردد و از طرفی قطرات روغن را با فشار و شدت بیشتری از بین قسمت‌های ثابت و متحرک هموژنایزر عبور می‌دهد که خود منجر به شکسته شدن ذرات به اندازه‌های کوچک‌تر می‌شود. نتایج به دست آمده با نتایج تحقیقات سایر محققین همخوانی داشت (Gardouh et al., 2012; Haznedar & Dortunc, 2004).

از طرفی دیگر در همین شکل مشخص است که اندازه قطرات تا حدود زیادی نیز به محتوای لیکوپن موجود در امولسیون وابسته است ($P < 0.05$) و با افزایش مقدار لیکوپن، اندازه قطرات افزایش می‌یابد. دلیل این امر می‌تواند تاثیر منفی افزایش ویسکوزیته فاز گسسته (محلول لیکوپن) بر عملکرد هموژنایزر باشد. در واقع وقتی مقدار فاز گسسته افزایش می‌یابد، برای شکستن قطرات آن نیاز به دانسیته انرژی بالاتری داریم که خود می‌تواند از طریق افزایش سرعت و زمان هموژناسیون تامین شود. لذا در بازه سرعت‌های اندازه گیری شده در این تحقیق، افزایش مقدار فاز گسسته موجب افزایش اندازه قطرات شد و نتایج به دست آمده با نتایج به دست آمده از تحقیقات سایر محققین همخوانی داشت (Gardouh et al., 2012; Mehnert & Mader, 2001).

- تاثیر متغیرهای مستقل بر اندیس کرمی شدن

همانطور که در شکل ۲ مشخص شده، سرعت هموژنایزر و مقدار لیکوپن، هر دو تاثیر معنی‌داری بر اندیس کرمی شدن امولسیون‌ها داشتند ($P < 0.05$). نتایج نشان دادند که افزایش مقدار لیکوپن در امولسیون‌ها موجب

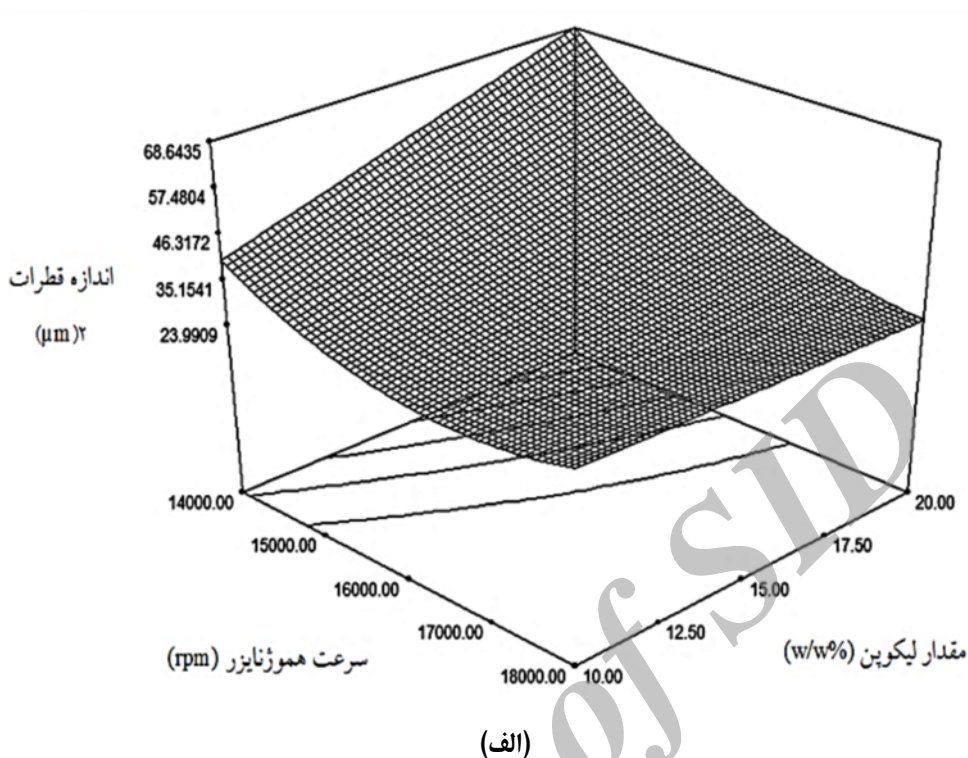
افزایش اندیس کرمی شدن گردید در حالیکه برعکس، افزایش دور هموژنایزر توانست اندیس کرمی شدن را کاهش دهد. دلیل این امر می‌تواند تاثیر بسیار زیاد افزایش سرعت و دور هموژنایزر بر کاهش اندازه قطرات باشد که پیشتر درباره آن صحبت شد. در واقع هرچقدر اندازه قطرات در امولسیون بزرگ تر باشد، بیشتر به هم برخورد کرده و به سمت دو فاز شدن حرکت می‌کنند. از طرفی نیروی گرانش می‌تواند نقش بیشتری در جدا شدن فازها از یکدیگر ایفا کند و در صورتی که فاز گسسته سبک‌تر از فاز پیوسته باشد، به صورت لایه کرم روی سطح امولسیون تجمع می‌یابد و اگر سنگین‌تر باشد، در امولسیون ته‌نشین می‌شود. پیامد هر یک از حالات فوق، کاهش پراکندگی قطرات فاز گسسته در فاز پیوسته و تشکیل لایه‌های کرمی می‌باشد (Boom, 2008)، لذا هرچقدر بتوانیم اندازه قطرات را کوچک تر کنیم، می‌توانیم پایداری در امولسیون را افزایش دهیم و این امر در نتایج بدست آمده نیز مشهود است.

از طرفی همانطور که پیشتر اشاره شد، افزایش مقدار لیکوپن به عنوان فاز گسسته در امولسیون می‌تواند منجر به افزایش اندازه قطرات امولسیون گردد، لذا همین امر نیز متعاقباً می‌تواند به کاهش پایداری امولسیون و افزایش اندیس کرمی شدن منتهی گردد. نتایج به دست آمده با نتایج سایر محققین همخوانی داشت (Gardouh et al., 2012; Mehnert & Mader, 2001).

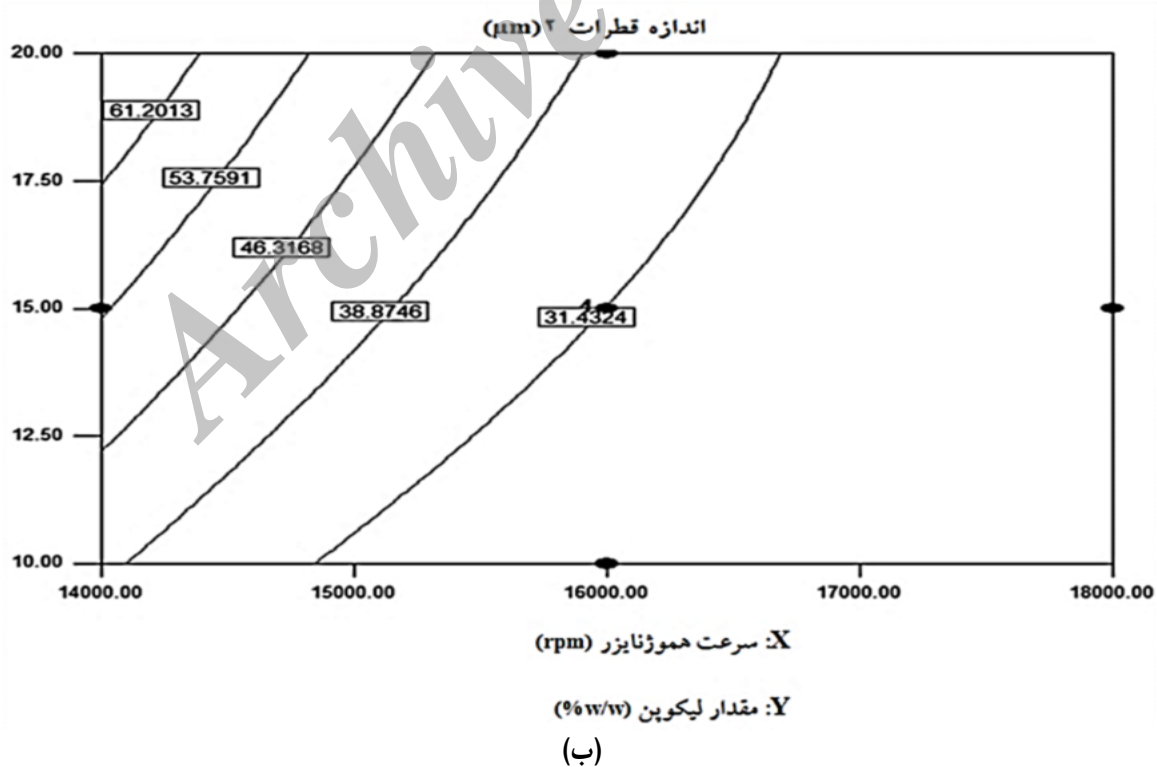
از طرفی دیگر، همانطور که در شکل ۳ مشخص شده، مقادیر بالاتر ژلاتین + مالتودکسترین در امولسیون موجب افزایش پایداری و کاهش اندیس کرمی شدن گردید و در این زمینه تاثیر معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). در واقع کلیه امولسیون‌ها سیستم‌های ناپایداری هستند که در آن‌ها قطرات فاز گسسته تمایل به نزدیک شدن به یکدیگر و تشکیل لایه‌های جدا از امولسیون را دارند. این پدیده را می‌توان با استفاده از تثبیت قطرات در نقاط مختلف امولسیون به تعویق انداخت. بدین منظور می‌توان از روش‌های گوناگونی استفاده کرد که به طور مثال می‌توان به استفاده از مواد فعال سطحی و بیوپلیمرها اشاره کرد. این مواد در سطح مشترک فاز پیوسته و گسسته جذب شده و موجب افزایش نیروهای دفعی الکترواستاتیکی بین قطرات امولسیون گردیده و همچنین با تغییر خصوصیات رئولوژیکی محیط مانند افزایش ویسکوزیته، می‌توانند حرکت قطرات

آمده با نتایج تحقیقات دیگر محققین همخوانی داشت (Jafari et al., 2007a; Gardouh et al., 2012).

به سمت یکدیگر را محدود کنند و از پدیده کرمی شدن تا حدودی پیشگیری نمایند (Boom, 2008) نتایج به دست



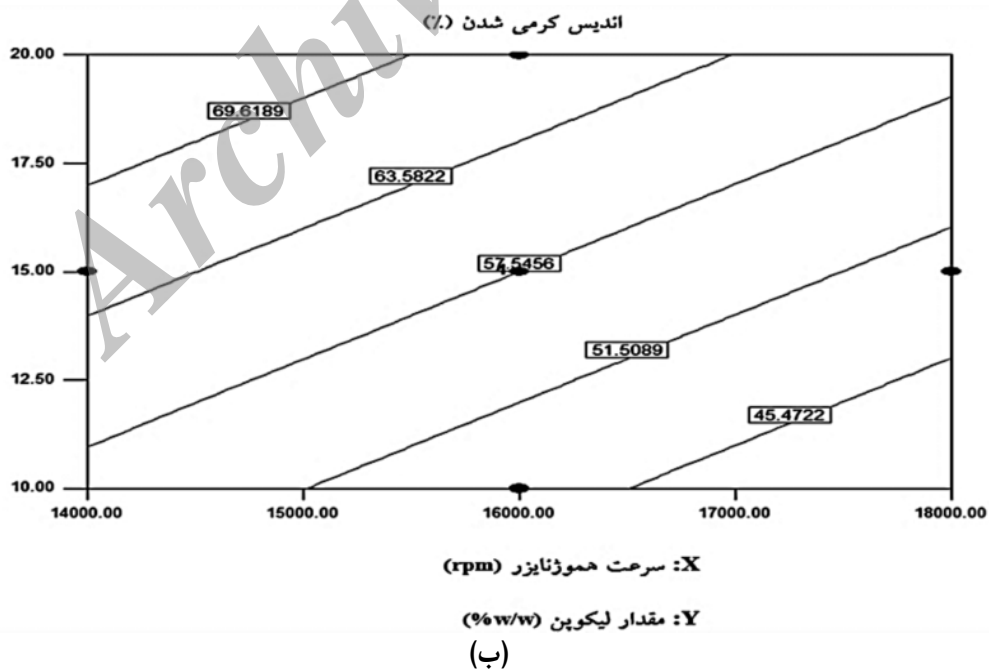
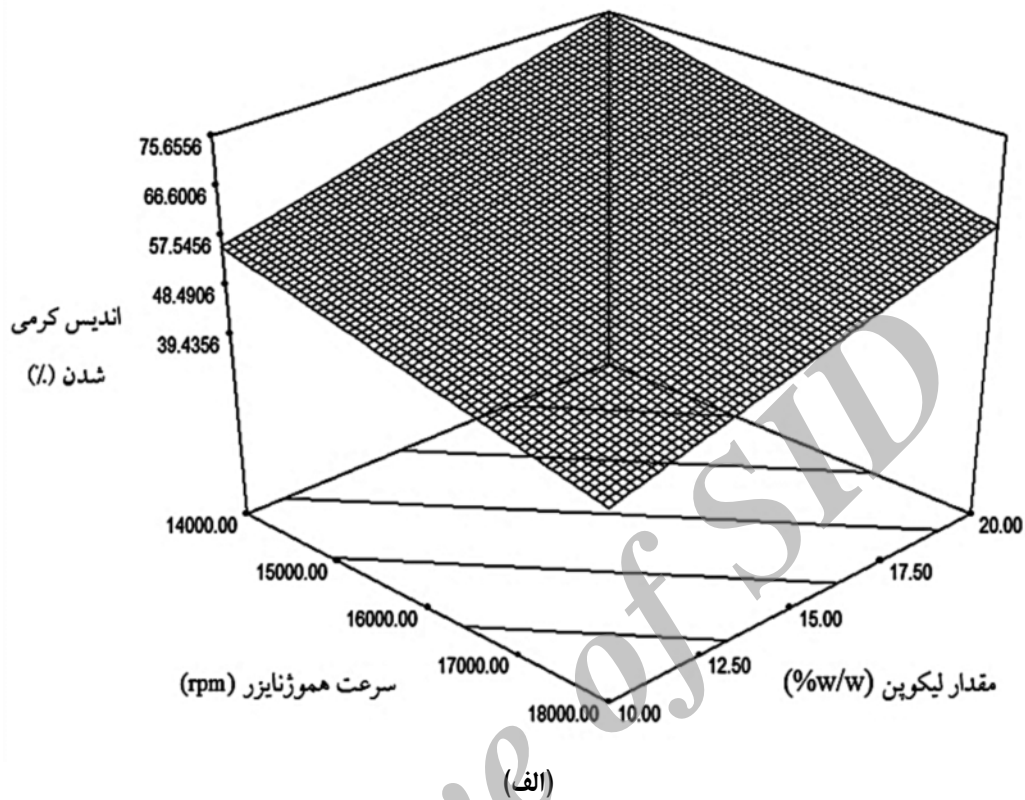
۶۱



شکل ۱- تصاویر سه بعدی (الف) و کنتور (ب) اندازه قطرات امولسیون به عنوان تابعی از سرعت همزنایزر و مقدار لیکوپین در مقدار ثابت ژلاتین+مالتودکسترین (۳۵٪)

کل سیستم گردید و تاثیر آن معنی‌دار بود ($P < 0.05$).
 محققینی که در زمینه تغییرات رئولوژیکی در امولسیون‌ها
 بررسی کرده‌اند عنوان داشته‌اند که یکی از مهم‌ترین عواملی

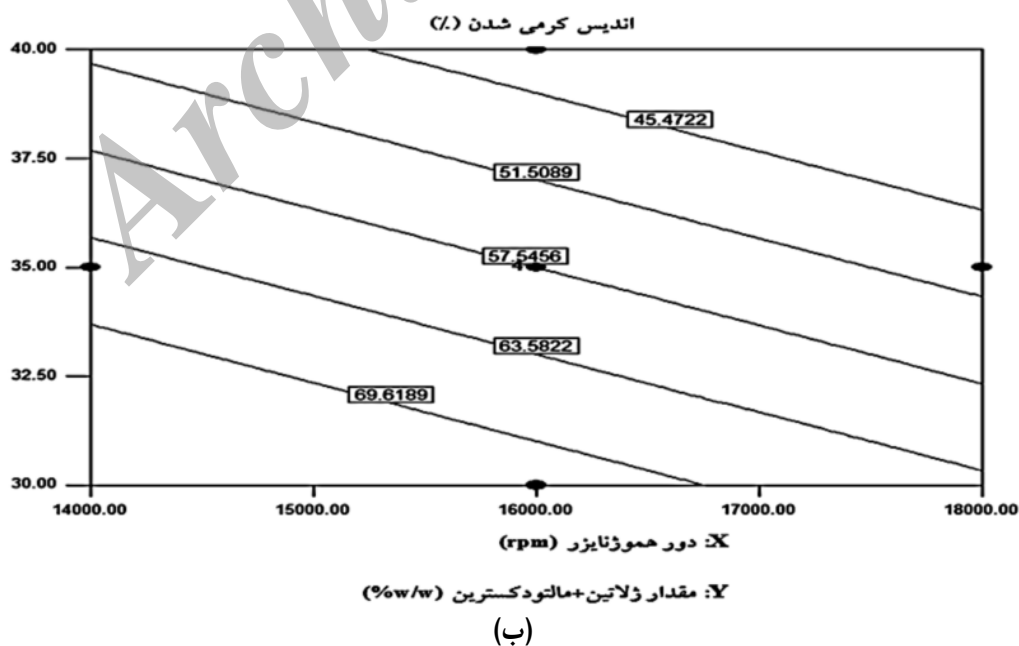
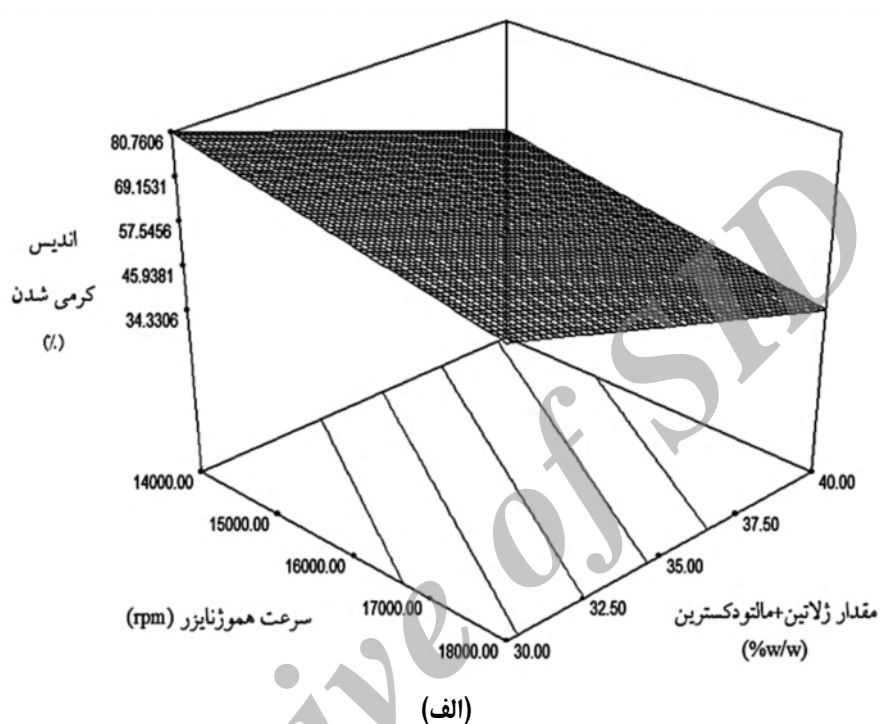
تاثیر متغیرهای مستقل بر ویسکوزیته امولسیون‌ها
 همانطور که در شکل ۴ مشخص شده است، مقادیر
 بالاتر لیکوپین در امولسیون‌ها موجب افزایش ویسکوزیته



شکل ۲- تصاویر سه بعدی (الف) و کنتور (ب) اندیس کرمی شدن امولسیون به عنوان تابعی از سرعت هموژنایزر و مقدار لیکوپین در مقدار ثابت ژلاتین+مالتودکسترین (۳۵٪)

وتاثیر این نیروها و برهمکنش‌ها بر جریان سیال، نهایتاً ویسکوزیته کلی امولسیون افزایش می‌یابد (Dluzewska *et al.*, 2006; Quemada & Berli, 2002). نتایج به دست آمده با نتایج ارائه شده سایر محققین همخوانی داشت (Watson & Mackle, 2002).

که می‌تواند ویسکوزیته را تحت تاثیر قرار دهد، جزء حجمی فاز گسسته است که از تقسیم حجم قطرات امولسیون بر حجم کل امولسیون به دست می‌آید (McClements, 2005). در واقع با افزایش مقداری فاز گسسته، برهمکنش بین قطرات این فاز افزایش یافته و به دلیل افزایش برهمکنش‌های هیدرودینامیکی و کلئیدی

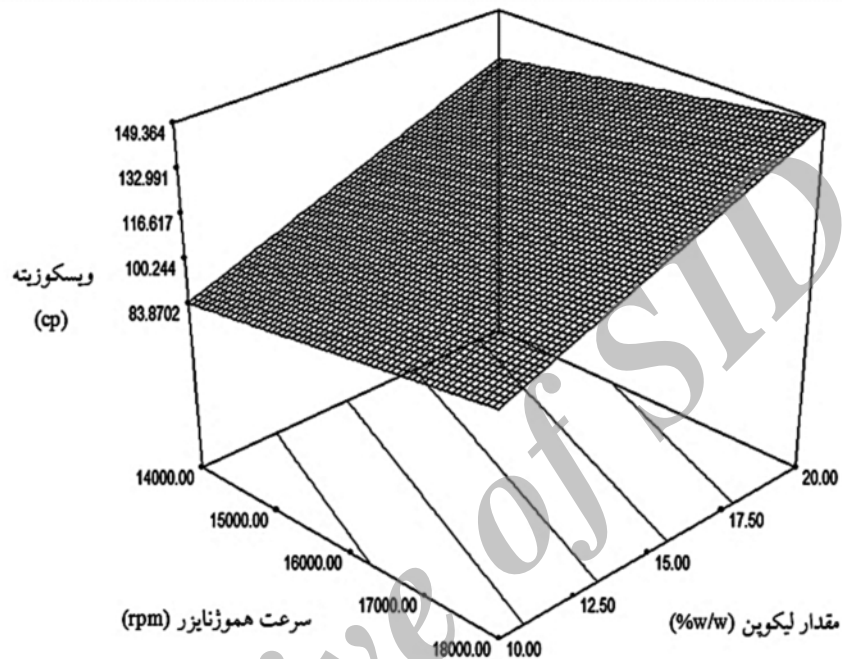


شکل ۳- تصاویر سه بعدی (الف) و کنتور (ب) اندیس کرمی شدن امولسیون به عنوان تابعی از سرعت هموژنایزر و مقدار ژلاتین+مالتودکسترین در مقدار ثابت لیکوپین (۱۵٪)

تولید امولسیون‌های لیکوپین با استفاده از ژلاتین و مالتودکسترین

در سیستم افزایش می‌یابد و همین امر موجب افزایش برخورد و برهمکنش بین قطرات و نهایتاً تاثیر بر گرانیروی و ویسکوزیته امولسیون می‌گردد. نتایج به دست آمده با نتایج ارائه شده توسط سایر محققین همخوانی داشت (Daik *et al.*, 2007; Watson & Mackle, 2002).

از طرفی دیگر در شکل ۴ مشخص است که سرعت هموژنایزر نیز تاثیر اندک اما معنی‌دار ($P < 0.05$) بر ویسکوزیته امولسیون‌ها داشت. دلیل این امر را می‌توان اینگونه توجیح کرد که با افزایش سرعت هموژنایزر، همانطور که پیشتر گفته شده، اندازه قطرات کاهش می‌یابد، از طرفی با کاهش اندازه قطرات، تعداد قطرات پراکنده

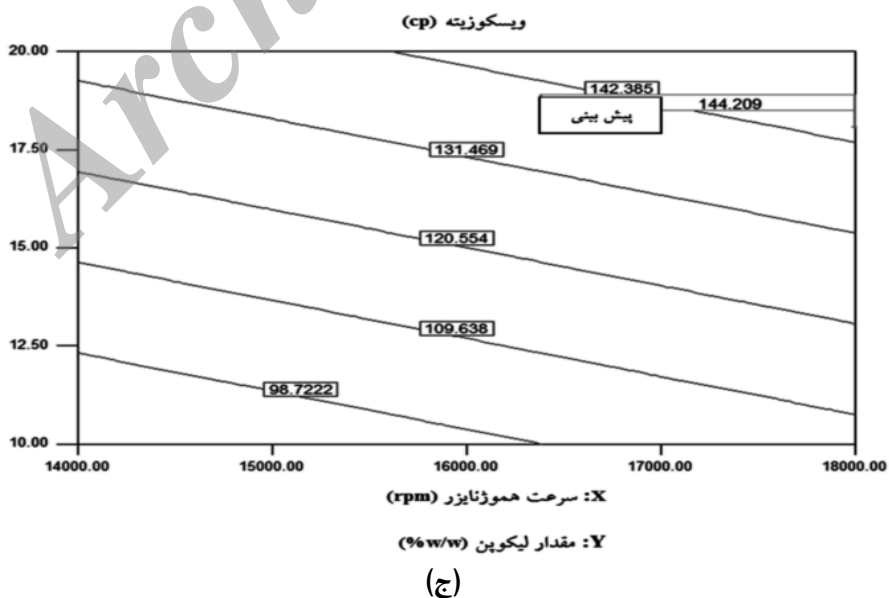
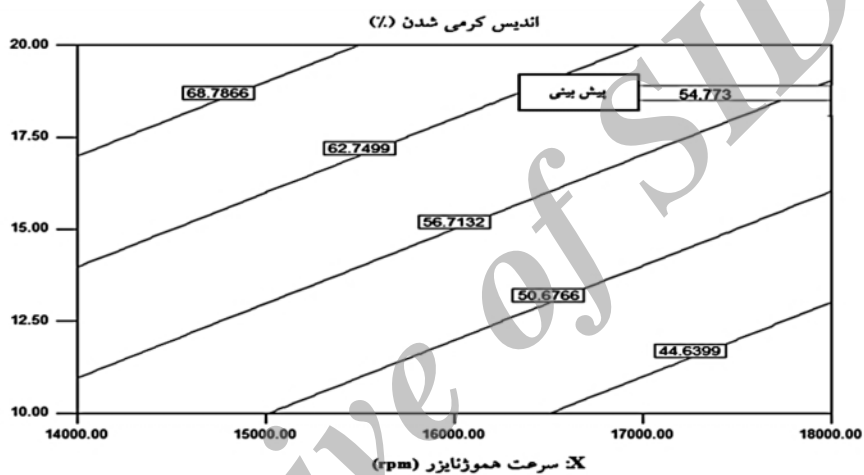
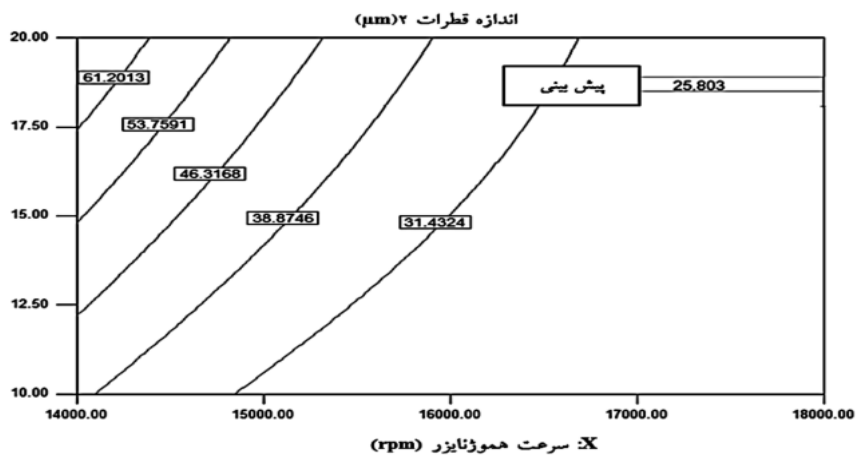


(الف)



(ب)

شکل ۴- تصاویر سه بعدی (الف) و کنتور (ب) ویسکوزیته امولسیون به عنوان تابعی از سرعت هموژنایزر و مقدار لیکوپین در مقدار ثابت ژلاتین+مالتودکسترین (۳۵٪)



شکل ۵- طرح های کنتور برای اندازه قطرات (الف)، اندیس کرمی شدن (ب) و ویسکوزیته (ج) امولسیون ها به عنوان تابعی از سرعت هموژنایزر و مقدار لیکوپن برای یافتن نقاط بهینه در مقدار ژلاتین+مالتودکسترین ثابت ۳۵/۲۸٪ وزنی-وزنی

بحث

- بهینه سازی شرایط تولید امولسیون ها با استفاده از مدل‌های سطح

با توجه به آنچه در مورد امولسیون‌ها گفته شد، امولسیون مناسب تر فرض می‌شود که اندازه قطرات و اندیس کرمی شدن آن در حداقل و ویسکوزیته آن بالا باشد. برای پیدا کردن مشخصات امولسیون بهینه توسط نرم افزار، در قسمت بهینه سازی، برای هریک از متغیرهای مستقل، محدوده مناسب تعریف شد، سپس به متغیرهای وابسته بر اساس میزان اهمیت آن‌ها در پایداری امولسیون، وزن خاصی داده شده و در گام نهایی از طرح‌های کنتور برای نشان دادن محدوده و مقادیر بهینه شده استفاده گردید. بدین منظور ابتدا طرح‌های کنتور برای اندازه قطرات، اندیس کرمی شدن و ویسکوزیته امولسیون‌ها به عنوان توابعی از سرعت هموژنایزر و مقدار لیکوپن در یک غلظت مشخص از ژلاتین و مالتودکسترین (۳۵/۲۸٪ وزنی/وزنی) بدست آمدند که در شکل ۵ نشان داده شده‌اند. در این طرح‌ها، هر نقطه مشخص شده به عنوان نقطه بهینه، نشان دهنده نقطه ای است که در آن در سرعت مشخصی از هموژنایزر و مقدار تعیین شده‌ای از لیکوپن، می‌توان به حداقل اندازه قطرات و اندیس کرمی شدن و حداکثر ویسکوزیته مطلوب در راستای رسیدن به امولسیون پایدار، دست یافت. با توجه به آنچه گفته شد، نقطه ای که در آن دور هموژنایزر معادل ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه و مقدار لیکوپن معادل ۱۸/۰۷٪ وزنی/وزنی است، به عنوان شرایط مطلوب و منتخب در نظر گرفته شدند. همانطور که گفته شد، این مقادیر در نقطه بهینه‌ای با میزان ۳۵/۲۸٪ وزنی/وزنی از ژلاتین+مالتودکسترین به دست آمدند.

۶۶

نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان دادند که مدل درجه دو به خوبی توانست تغییرات اندازه قطرات در امولسیون را بیان کند و در مورد ویسکوزیته و اندیس کرمی شدن، این مدل‌های خطی بودند که به خوبی با داده‌ها همبستگی داشتند. در واقع پارامتر خطی سرعت هموژنایزر، پارامتر خطی مقدار لیکوپن، برهم کنش این دو پارامتر و

همچنین توان دوم سرعت هموژنایزر، همگی تاثیر معنی‌داری بر اندازه قطرات امولسیون داشتند اما اثر سایر پارامترهای خطی و غیر خطی معنی‌دار نبوده و از مدل حذف شدند. از طرفی در مورد اندیس کرمی شدن و ویسکوزیته امولسیون‌ها، پارامترهای خطی هر سه متغیر مستقل شامل سرعت هموژنایزر، مقدار لیکوپن و مقدار ژلاتین+مالتودکسترین، اثر معنی‌داری داشتند اما هیچ یک از برهمکنش‌ها و درجات بالاتر معادلات، معنی‌دار نبودند. نتایج بهینه‌سازی مدل‌های سطح پاسخ نشان دادند که شرایط بهینه برای تولید بهترین امولسیون زمانی به حصول می‌رسد که مقدار ژلاتین+مالتودکسترین، ۳۵/۲۸٪ وزنی-وزنی و مقدار لیکوپن، ۱۸/۰۷٪ وزنی-وزنی و سرعت هموژنایزر ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه باشد.

منابع

- Boom, R. M. (2008). Food material science, Emulsions: Principles and Preparation, 1th ed. New York: Springer, pp. 305-339
- Chanamai, R. & McClements, D. J. (2001). Prediction of emulsion color from droplet characteristics: dilute monodisperse oil-in-water emulsions. Food Hydrocolloids, 15, 83-91.
- Daik, R., Bidol, S. & Abdullah, I. (2007). Effect of molecular weight on the droplet size and rheological properties of liquid natural rubber emulsion. Malaysian Polymer Journal (MPJ), 2 (1), 29-38.
- Dluzewska, E., Stobiecka, A. & Maszewska, M. (2006). Effect of oil phase concentration on rheological properties and stability of beverage emulsions. ACTA Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria, 5(2), 147-156.
- Gardouh, A. R., Ghorab, M. M. & Abdel-Rahman, S. G. S. (2012). Effect of Viscosity, Method of Preparation and Homogenization Speed on Physical Characteristics of Solid Lipid Nanodroplets. ARPN Journal of Science and Technology, 2(10), 966-1006.
- Gharibzahedi, S. M. T., Mousavi, S. M., Hamed, M. & Ghasemlou, M. (2012). Response surface modeling for optimization of formulation variables and physical stability

assessment of walnut oil in-water beverage emulsions. *Food Hydrocolloids*, 26, 293-301.

Haznedar, S. & Dortunc, B. (2004). Preparation and in vitro evaluation of Eudragit microspheres containing acetazolamide. *International Journal of Pharmacology and Pharmaceutical Sciences*, 269 (1), 131-140.

Huang, X., Kakuda, Y. & Cui, W. (2001). Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. *Food Hydrocolloids*, 15, 533-542.

Ilija Anisa, A. N., Nour, & A.H. (2010). Effect of Viscosity and Droplet Diameter on water-in-oil (w/o) Emulsions: An Experimental Study. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 38, 691-694.

Jafari, S. M., Beheshti, P. & Assadpoor, E. (2012). Rheological behavior and stability of D-limonene emulsions made by a novel hydrocolloid (Angum gum) compared with Arabic gum. *Journal of Food Engineering*, 109, 1-8.

Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y. & Bhandari, B. (2008). Encapsulation efficiency of food flavors and oils during spray drying. *Drying Technology*, 26(7), 816-835.

Jafari, S. M., He, Y. & Bhandari, B. (2007a). Effectiveness of encapsulating biopolymers to produce sub-micron emulsions by high energy emulsification techniques. *Food Research International*, 40, 862-873.

Jafari, S. M., He, Y. & Bhandari, B. (2007b). Production of sub-micron emulsions by ultrasound and microfluidization techniques. *Journal of Food Engineering*, 82, 478-488.

Klein, M., Aserin, A., Svitov, I. & Garti, N. (2010). Enhanced stabilization of cloudy emulsions with gum arabic and whey protein isolate. *Colloids and Surfaces B. Journal of Bio interfaces*, 77(1), 75-81.

Lee, M. T. & Chen, B. H. (2002). Stability of lycopene during heating and illumination in a model system. *Food Chemistry*, 78, 425-432.

Li, J. L., Cheng, Y. Q., Wang, P., Zhao, W. T., Yin, L. J. & Saiyo, M. (2012). A novel improvement in whey protein isolates emulsion stability: generation of an enzymatically cross-linked beet pectin layer using horseradish peroxidase. *Food Hydrocolloids*, 26, 448-455.

Mehnert, W. & Mader, K. (2001). Solid lipid nanodroplets: production, characterization

and applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 47, 165-196.

McClements, D. J. (2005). *Food emulsions: Principles, practice, and techniques*. 2nd ed. BocaRaton, FL: CRC Press, Pp 609

Pesek, C. A. & Warthesen, J. J. (1987). Photodegradation of carotenoids in vegetable juice system. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52, 744-746.

Quanhong, L. & Caili, F. (2005). Application of response surface methodology for extraction optimization of germinant pumpkin seeds protein. *Food Chemistry*, 92, 701-706.

Quemada, D. & Berli, C. (2002). Energy of interaction in colloids and its implications in rheological modeling. *Journal of Colloid and Interface Sciences*, 98, 51-85.

Rocha, G. A., Trindade, C. S. F. & Grosso, C. R. F. (2012). Microencapsulation of lycopene by spray drying: characterization, stability and application of microcapsules. *Food and Bio products processing*, 90: 37-42.

Rodea-González, D. A., Cruz-Olivares, J., Román-Guerrero, A., Rodríguez-Huezo, M. E., Vernon-Carter, E. J. & Pérez-Alonso, C. (2012). Spray-dried encapsulation of chia essential oil (*Salvia hispanica* L.) in whey protein concentrate-polysaccharide matrices. *Journal of Food Engineering*, 111(1): 102-109.

Shu, B., Yu, W., Zhao, Y. & Liu, X. (2006). Study on microencapsulation of lycopene by spray-drying. *Journal of Food Engineering*, 76, 664-669.

Sun, X. D. & Arntfield, S. D. (2012). Gelation properties of myofibrillar/pea protein mixtures induce by transglutaminase crosslinking. *Food Hydrocolloids*, 27, 394-400.

Sun, C., Gunasekaran, S. & Richards, M. P. (2007). Effect of xanthan gum on physicochemical properties of whey protein isolate stabilized oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 21, 555-564.

Taherian, A. R., Britten, M., Sabik, H. & Fustier, P. (2011). Ability of whey protein isolate and/or fish gelatin to inhibit physical separation and lipid oxidation in fish oil-in-water beverage emulsion. *Food Hydrocolloids*, 25, 868-878.

Tcholakova, S., Denkov, N. D. & Danner, T. (2004). Role of Surfactant Type and Concentration for the Mean Drop Size during Emulsification in Turbulent Flow. *Langmuir*, 20, 7444-7458.

Ushikubo, F. Y. & Cunha, R. L. (2014). Stability mechanisms of liquid water-in-oil emulsions. *Food Hydrocolloids*, 34, 145-153.

Watson, D. J. & Mackle, M. R. (2002). The rheology of aqueous emulsions prepared by

direct emulsification and phase inversion from a high viscosity alkyd resin. *Colloids and Surfaces a Physicochemical and Engineering Aspects*, 196, 121-134.

Archive of SID