

بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی و پایداری اکسیداتیو نانوکپسول‌های روغن ماهی در شرایط مختلف نگهداری

شهلا احمدی^a، سید مهدی اجاق^{b*}، شیرین حسنی^c

^a دانشجوی کارشناسی ارشد فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

^b دانشیار گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

^c دکتری فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۱/۷

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۶/۲۷

چکیده

مقدمه: فواید پزشکی و بهداشتی مصرف اسیدهای چرب امگا ۳ و همچنین حساسیت بالای اسیدهای چرب غیر اشباع به اکسیداسیون باعث گردید تا استفاده از ریزپوشانی روغن ماهی به منظور غنی‌سازی فرآورده‌های غذایی و دارویی رواج بیشتری پیدا کند. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نانوکپسول‌های روغن ماهی و همچنین بررسی پایداری اکسایشی آنها طی نگهداری در رطوبت‌های نسبی صفر و ۲۴ درصد انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: امولسیون روغن ماهی با نسبت ۴:۱ (روغن:پوشش) با ترکیبات دیواره‌ای شامل مالتودکسترین (M)، نشاسته اصلاح شده (Hi-cap) و کنستانتره آب پنیر (WPC) تهیه و به روش سونیکاسیون، نانوکپسول‌ها آماده گردیدند. خصوصیات امولسیون و پودر نانوکپسول تولید شده شامل ثبات امولسیون، ویسکوزیته ظاهری، رطوبت پودر، ضریب ریزپوشانی، اندازه ذرات و مورفولوژی نانوکپسول‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: با توجه به نتایج، کمترین مقدار درجه خامه‌ای شدن و ویسکوزیته به ترتیب در نانوکپسول‌های با پوشش ترکیبی از Hi+M و WPC+cap و مالتودکسترین مشاهده گردید. میزان رطوبت بین تیمارها مشخص نمود که تیمار Hi-cap+M حاوی بیشترین میزان رطوبت بود. کمترین و بیشترین اندازه ذرات به ترتیب در تیمارهای WPC+Hi-cap+M و M مشاهده گردید. همچنین، بهترین راندمان ریزپوشانی در نانوکپسول‌های با دیواره WPC+Hi-cap+M حاصل شد. تصاویر میکروسکوپ SEM حاکی از ورقه‌ای بودن پودرهای حاصل از ریزپوشانی با خشک‌کن انجمادی بودند. نگهداری پودر نانوکپسوله طی ۲۱ روز با رطوبت نسبی صفر و ۲۴٪ حاکی از افزایش مقادیر پراکسید و پاراآنیزیدین بود؛ میزان پراکسید و پاراآنیزیدین در رطوبت ۲۴٪ به طور قابل توجهی بیشتر از رطوبت صفر٪ بوده و بالاترین میزان ثبات اکسایشی در نانوکپسول‌های با دیواره WPC+Hi-cap+M مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: بر پایه یافته‌های تحقیق، رطوبت نسبی عامل تاثیرگذار بر روند اکسیداسیون نانوکپسول‌های حامل روغن ماهی بوده و بکارگیری تکنیک نانوریزپوشانی روشی عملی و مؤثر برای افزایش پایداری روغن ماهی به منظور غنی‌سازی مواد غذایی و ارتقای سلامتی انسان می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پایداری اکسایشی، خشک‌کن انجمادی، رطوبت، روغن ماهی ریزپوشانی

مقدمه

اکسیژن، و حرارت‌های بالا سریعاً اکسید شده و ترکیبات بد طعم و فرار تولید می‌کنند (Jafari *et al.*, 2008; Desai and Park, 2005). اکسیداسیون چربی‌ها به دنبال مجموعه واکنش‌های پیچیده بین اسیدهای چرب PUFA و گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر رخ می‌دهد که منجر به تولید محصولات واسطه‌ای و ثانویه از قبیل آلدئیدها، اپوکسی‌ها و کتون‌ها شده که در نهایت به محیط ماده غذایی رها می‌شوند. این واکنش‌های اکسیداسیون بر PUFA ها منجر به بروز موارد حسی غیر قابل قبول برای مصرف‌کننده شده و ارزش غذایی را کاهش می‌دهند، و گاهی اوقات می‌توانند اثرات نامطلوبی بر سلامتی انسان ایجاد نمایند (Tehrany *et al.*, 2012). بنابراین، نیاز شدیدی در جهت تولید و توسعه سیستم‌های انتقال و تحویل این ترکیبات در محصولات غذایی احساس می‌شود، به طوری که بتوان از این ترکیبات زیست فعال و سودمند در دامنه وسیعی از محصولات غذایی بهره گرفت (Komaiko *et al.*, 2016).

ریزپوشانی از جمله روش‌هایی است که به منظور حفظ ترکیبات حساس در صنایع مختلف از قبیل داروسازی، شیمیایی، آرایشی و صنعت مواد غذایی گسترش بسیار زیادی یافته است (Jafari *et al.*, 2008). ریزپوشانی روغن ماهی در یک ماتریکس دیواره‌ای پایدار به عنوان یک تکنیک مناسب برای انتقال و به‌کارگیری روغن ماهی مکمل در سیستم غذایی نهایی شناخته شده است (Binsi *et al.*, 2017). تحقیقات پیشین نشان دادند که فساد ناشی از اکسیداسیون در اثر ریزپوشانی کاهش یافته و میزان دسترسی زیستی مواد بهبود می‌یابند (Bakry *et al.*, 2015). ریزپوشانی روغن‌های زیست فعال روشی عملی و مؤثر را به منظور تنظیم میزان رهایش، افزایش پایداری فیزیکی، ممانعت از واکنش‌های اکسیداسیونی، کاهش فراریت و افزایش فعالیت زیستی روغن فراهم نموده است (Kumar, 2000). لازم به ذکر است که شرایط نگهداری پودر کپسوله شده از جمله رطوبت نقش قابل ملاحظه‌ای در پیشرفت اکسیداسیون روغن خواهد داشت. Maloney و همکاران (۱۹۶۶) گزارش کردند که اکسیداسیون چربی‌ها با کاهش رطوبت محیط، کند می‌گردد؛ با این وجود، این امر یک قانون عمومی نبوده و در برخی موارد نتایج متناقضی گزارش شده است (Baik *et al.*, 2004). همچنین، نشان

روغن ماهی حاوی مقادیر نسبتاً بالایی از ویتامین‌های محلول در چربی و همچنین اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره (PUFA) امگا-۳ به ویژه ایکوزاپنتانویک اسید (EPA) و دوکوزاهگزانویک اسید (DHA) است. این نوع اسیدهای چرب امگا-۳ هنگامی که در سطوح مناسب و به میزان کافی مورد مصرف قرار گیرند، پتانسیل بالایی به عنوان ترکیبات مؤثر در پیشگیری و بهبود بسیاری از بیماری‌ها خواهند داشت (Jordan, 2010). از جمله فواید این ترکیبات مهم زیستی می‌توان به تأثیر مثبت آنها در توسعه شبکه عصبی و سلامت قلب (خواص ضد التهاب و تنظیم ضربان قلب) و عروق اشاره کرد (Walker *et al.*, 2015). مطالعات پیشین گزارش نمودند که اسیدهای چرب امگا-۳ حاصل از روغن ماهی عملکرد مغز را افزایش داده و می‌توانند از بروز بیماری‌هایی از قبیل اختلالات واکنش ایمنی و نابهنجاری شبکه‌های چشم جلوگیری کنند (Lauterbach and Pawlik, 2014; Jordan, 2010). از آنجائی که بدن انسان قادر به ساخت اسیدهای چرب چند غیر اشباع امگا-۳ نیست، ضروری است که این ترکیبات از طریق رژیم غذایی و به ویژه با مصرف فرآورده‌های دریایی تأمین گردند. با این وجود، مصرف این مواد مغذی به دلیل عدم استقبال همگانی در مصرف ماهی و فرآورده‌های دریایی، نامساوی بودن دسترسی در مناطق مختلف، و کمبود منابع حاوی این اسیدهای چرب پایین است (Gruenfelder, 2014). بنابراین، امروزه گرایش زیادی به تولید محصولات غذایی و انواع نوشیدنی‌های غنی شده با روغن ماهی به عنوان راهکاری در جهت ارتقای مصرف سرانه اسیدهای چرب امگا-۳ به وجود آمده است (Walker *et al.*, 2015).

یکی از راهکارهای اصلی در نیل به این هدف، استخراج اسیدهای چرب PUFA از منابع دریایی جهت غنی‌سازی مواد غذایی پر مصرف و محبوب است (IFIC, 2008). با این حال، کاربرد اسیدهای چرب امگا-۳ در صنایع غذایی با هدف به‌کارگیری در فرمولاسیون غذاهای فراسودمند به دلیل عواملی از قبیل حلالیت پایین در آب و همچنین حساسیت بالا به فساد اکسیداتیو محدود شده است (Komaiko *et al.*, 2016). در واقع اسیدهای چرب PUFA موجود در روغن ماهی در صورت مواجهه با نور،

ترکیبات در برابر عوامل مخرب محیطی (همانند اکسیژن، نور)، آزادسازی کنترل شده در مواد غذایی و بدن، جلوگیری از ایجاد طعم و رنگ نامناسب در مواد غذایی، و افزایش دسترسی زیستی می‌باشد (Phillips and Williams, 2009).

مالتودکسترین نوعی نشاسته هیدرولیز شده است که به طور معمول برای ریزپوشانی ترکیبات غذایی استفاده می‌شود (Gharsallaoui et al., 2007). استفاده از این ماده مزیت‌هایی دارد که از این قبیل می‌توان به هزینه اندک، بو و مزه خنثی، ویسکوزیته ناچیز در غلظت‌های زیاد مواد جامد، و مقاومت بالا به اکسیداسیون اشاره نمود. بزرگ‌ترین مشکل در استفاده از این ترکیب به عنوان پوشش مربوط به ظرفیت ناچیز امولسیون‌کنندگی آن است (Carneiro et al., 2013). بنابراین، ترجیح داده می‌شود که با دیگر پلیمرهای زیستی فعال همچون نشاسته اصلاح‌شده (Bule et al., 2010; Singh et al., 2007) و پروتئین‌ها (Bae and Lee, 2008) به منظور بهبود راندمان ریزپوشانی ترکیب گردد.

بر اساس مجموع مطالعات صورت گرفته، تا کنون مطالعه‌ای در داخل کشور در زمینه بررسی تاثیر شرایط نگهداری پودر از نظر رطوبت نسبی بر میزان روند اکسیداسیون نانوکپسول‌های حاوی روغن ماهی صورت نگرفته است. لذا، در مطالعه حاضر روغن ماهی کیلکا به عنوان منبعی غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره انتخاب شده و با هدف تسهیل فرآیند جابه‌جایی و نگهداری توسط بیوپلیمرهای پروتئین آب پنیر، نشاسته اصلاح‌شده و مالتودکسترین ریزپوشانی شد. سپس توانایی این پلیمرها به عنوان ترکیبات دیواره در بهبود پایداری اکسیداتیو روغن ماهی در رطوبت نسبی صفر و ۲۴ درصد بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

مواد -

روغن ماهی کیلکا از شرکت پارس کیلکا مازندران خریداری گردید. مواد دیواره شامل نشاسته اصلاح‌شده (Hi-cap 100TM) از شرکت National starch (آلمان)، کنستانتره آب پنیر، و مالتودکسترین (18-20 DE) از شرکت مرک (آلمان) تهیه شدند. تمامی مواد مصرفی شامل توئین ۸۰ (سوربیتال مونو-۹-کتادکنوات)، اسیداستیک،

داده شده است که میزان اکسیداسیون ریزکپسول‌های حاوی اسانس پرتقال و متیل لینولات در شرایط بسیار مرطوب و بسیار خشک کمتر از حالت‌های حد واسط بوده است (Kahl et al., 1988).

Velasco و همکاران (۲۰۰۹) به ارزیابی تاثیر رطوبت نسبی صفر و ۳۲ درصد بر پیشرفت اکسیداسیون روغن کپسوله شده نگهداری شده در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد پرداختند. آن‌ها دریافتند که رطوبت نسبی ۳۲ درصد اثر محافظتی بیشتری در برابر اکسیداسیون در نمونه‌های روغن آزاد داشت. اثر رطوبت‌های نسبی صفر، ۳۲، ۴۳ و ۷۵ درصد بر اکسیداسیون اسید لینولئیک کپسوله شده در پوشش کربوهیدراته توسط Ponginebbi و همکاران (۲۰۰۰) مورد مطالعه قرار گرفت. یافته‌های تحقیق نشان داد نمونه‌ها در رطوبت‌های صفر و ۳۲ درصد اکسیداسیون سریع‌تری نسبت به نمونه‌های با رطوبت نسبی ۴۳ و ۷۵ درصد داشتند. و همانطور که انتظار می‌رفت اکسیداسیون بخش لیپید آزاد در تمامی نمونه‌ها سریع‌تر از بخش کپسوله‌شده بود. بنابراین، با توجه به مطالعات پیشین ضروری است که نقش مقادیر مختلف رطوبت بر فرآورده‌های غذایی ریزپوشانی‌شده ارزیابی شود تا رطوبت مناسب برای نگهداری نانوکپسول‌های روغن ماهی تعیین گردد.

مواد مورد استفاده در دیواره می‌توانند بسته به کاربرد و سیستم هدف از رنج وسیعی از پلی‌مرهای طبیعی و سنتزی انتخاب شوند (Rodríguez et al., 2016). جنس نانوکپسول‌های طبیعی بسته به موارد استفاده در سیستم‌های غذایی متفاوت بوده و به دو دسته بیوپلیمری و لیپیدی تقسیم می‌شوند. در تولید نانوحامل‌های بیوپلیمری از پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها و یا کمپلکس آنها استفاده می‌شود (Zimet and Livney, 2009). تحقیقات نشان داده‌اند که بیوپلیمرها به علت حلالیت بالاتر در آب و حفاظت بیشتر از محموله نسبت به پوشش‌های لیپیدی دارای ارجحیت می‌باشند، و از طرفی ثابت شده است که کمپلکس بین بیوپلیمرهای پروتئینی و پلی‌ساکاریدی، پایداری بیشتری نسبت به بیوپلیمر تنها دارد (بحرانی و همکاران، ۱۳۹۲). مزایای استفاده از نانوکپسول‌های بیوپلیمری برای ترکیبات غذا-دارویی آب‌گریز شامل افزایش حلالیت این ترکیبات در نوشیدنی‌ها، حفاظت از این

$$\% \text{ Separation} = \left(\frac{H1}{H0} \right) \times 100$$

که در اینجا، H0 بیانگر ارتفاع اولیه امولسیون و H1 ارتفاع لایه بالایی (سرم) است.

- ویسکوزیته

ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های امولسیون بلافاصله پس از تهیه با استفاده از ویسکومتر چرخشی بروکفیلد (DV-II+Pro، آمریکا) بر حسب mPa.s اندازه‌گیری شد. ویسکوزیته در دمای ۲۵ °C، در سرعت برشی $40s^{-1}$ تعیین شد. در انجام آزمون از دوک SC4-31 به عنوان پروب سنجش استفاده گردید (Hogan et al., 2003).

- خشک کردن انجمادی

امولسیون‌های تهیه شده ابتدا به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰- °C منجمد شده و پس از آن در خشک‌کن انجمادی در فشار تقلیل یافته خشک گردیدند. فرآیند خشک شدن امولسیون‌های منجمد در خشک‌کن انجمادی ۷۲ ساعت به طول انجامید. توده‌های اسفنجی حاصله با استفاده از یک هاون چینی به پودر یکنواختی تبدیل شدند. این پودرها تا زمان آزمایش‌های فیزیکو-شیمیایی در کیسه‌های پلاستیکی کاملاً درب بسته در فریزر ۲۰- °C نگهداری شدند.

- بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی نانوکپسول‌ها

- اندازه‌گیری رطوبت

میزان رطوبت نمونه‌ها با استفاده از روش ارائه شده توسط استاندارد ملی ایران به شماره ۲-۲۵۹ (۱۳۹۱) تعیین گردید (Iranian National Standardization Organization, 2013). به طور خلاصه، مقدار ۲ g از پودر حاصل در آون با دمای ۱۰۵ °C به مدت یک شبانه-روز قرار داده شد و سپس میزان رطوبت با فرمول زیر محاسبه گردید:

$$H = \frac{(m0 - m1)}{m0} \times 100$$

که در اینجا، m0 = جرم نمونه بر حسب گرم قبل از آون‌گذاری، m1 = جرم نمونه خشک‌شده بر حسب گرم پس از آون‌گذاری و رسیدن به وزن ثابت، و H = درصد رطوبت می‌باشد.

ایزواکتان، کلروفرم، متانول، کلریدفرو، اسیدکلریدریک، پارآئیزیدین، تیوسیانات آمونیوم، هگزان، و ایزوپروپانول دارای درجه آزمایشگاهی بوده و از شرکت مرک آلمان تهیه گردیدند.

- روش‌ها

- تهیه نانوامولسیون

ابتدا محلول‌های دیواره با نسبت‌های مختلف الف-مالتودکسترین ب- مخلوطی از مالتودکسترین و نشاسته اصلاح‌شده (Hi-cap)، و ج- مخلوطی از مالتودکسترین، نشاسته اصلاح‌شده (Hi-cap) و پروتئین آب پنیر (WPC) با نسبت‌های برابر تهیه گردیدند. مواد مذکور، در ۲۴ ساعت قبل از تهیه امولسیون، در آب مقطر به خوبی با مگنت به هم زده شدند. در تمامی نمونه‌ها از ۱ g توئین ۸۰- در هنگام تهیه امولسیون استفاده گردید. روغن ماهی به نسبت ۱ به ۴ به محلول اضافه و به مدت ۵ دقیقه با هموژنایزر اولتراتورکس (T25-basic IKA) با دور rpm ۱۸۰۰ هموژن شده و امولسیونی یکنواخت به دست آمد (Velasco et al., 2009). در ادامه، مخلوط به مخزن فلزی دو جداره دستگاه مولد امواج فراصوت (Misonix-S-4000، آمریکا) منتقل شده، و سونوتروود دستگاه زیر سطح مخلوط غوطه‌ور گردید. از حداکثر شدت امواج فراصوت برای سونیکاسیون و تولید امولسیون به مدت ۵ دقیقه استفاده شد؛ همچنین، دمای محلول در طول مدت صوت‌دهی از طریق چرخش آب در جداره بینابینی مخزن در ۲۰ °C حفظ گردید (نجف نجفی و همکاران، ۲۰۱۰).

- آزمون‌های انجام شده بر امولسیون

- درجه خامه‌ای شدن

مقدار ۲۵ ml از هر امولسیون به درون یک استوانه مدرج انتقال داده شد، و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق (۲۵ °C) نگهداری گردید. بعد از نگهداری، امولسیون‌ها به صورت چشمی به صورت لایه کرمی کدر و غیر شفاف در بالا و لایه سرمی شفاف (یا کدر) در پایین لوله آزمایش تفکیک شدند. پس از ۲۴ ساعت ارتفاع فاز پایینی (سرم) در نمونه‌ها اندازه‌گیری شد و نتایج به صورت درجه خامه‌ای شدن با استفاده از رابطه زیر تعیین گردید (Carneiro et al., 2013).

- توزیع اندازه ذرات

جهت بررسی اندازه و پراکندگی ذرات ریزکپسول‌های تولیدی شده از دستگاه مخصوص اندازه‌گیری ذرات (دستگاه انکسار نور لیزر؛ مدل Zetasizer nano، شرکت Malvern، انگلستان) استفاده شد. به طور خلاصه، مقدار ۱ g از پودر در ۱ میلی‌لیتر ۲-پروپانول حل شده، و سپس چند قطره از محلول حاصل به مخزن اندازه‌گیری دستگاه اضافه گردید. اندازه‌گیری ذرات براساس تفرق نور لیزر و با چندین مرتبه مکش آب مخزن حاوی نمونه‌ها انجام گرفت (حجتی و همکاران، ۱۳۹۲).

- راندمان ریزپوشانی

راندمان ریزپوشانی براساس میزان روغن‌های ریزپوشانی شده در ارتباط با مقدار کل روغن نانو کپسول‌ها تعیین گردید. به این منظور، میزان روغن سطحی و کل نانو کپسول‌ها اندازه‌گیری شده و درصد راندمان ریزپوشانی براساس فرمول زیر محاسبه گردید (Velasco et al., 2009).

$$EE\% = \left(\frac{\text{total oil} - \text{external oil}}{\text{total fish oil}} \right) \times 100$$

که در اینجا، EE% راندمان ریزپوشانی است.

- بررسی ساختار سطحی کپسول‌ها

مورفولوژی سطحی کپسول‌های تولیدی به وسیله میکروسکوب الکترونی روبشی (ولتاژ ۲۶ کیلوولت) انجام گرفت. نمونه‌ها روی استاب‌های آلومینیومی دستگاه ثابت شده و با استفاده از طلا: پالادیوم (۴۰:۶۰) پوشانده شدند. جهت بررسی سطوح خارجی نانو کپسول‌ها و بررسی شکل و ویژگی‌های سطحی (شکستگی، فرورفتگی، چین‌خوردگی و غیره)، تصاویری از سطح آنها تهیه گردید (Porrás-Saavedra et al., 2015).

- ارزیابی ثبات اکسیداتیو

جهت ارزیابی ثبات اکسیداتیو نانو کپسول‌های تهیه شده، نمونه‌ها تحت اکسیداسیون تسریع شده (دمای ۶۰ °C) و رطوبت‌های صفر و ۲۴ درصد به مدت ۲۱ روز قرار داده شد، و آزمون‌های مربوطه در فواصل زمانی هفت روز انجام گرفت (Velasco et al., 2009). در آزمون‌های

بررسی پیشرفت اکسیداسیون روغن ماهی به عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد.

- مقادیر پراکسید (PV)

مقادیر پراکسید براساس روش AOCS (۲۰۰۷) اندازه‌گیری شد. به طور خلاصه، نمونه‌هایی به وزن ۳ g در اسید استیک (۳۰ ml) و کلروفرم (۲۰ ml) (نسبت حجمی ۳ به ۲) حل شدند. سپس، محلول اشباع پتاسیم یدید (۱ ml) به آنها اضافه شد. محلول نهایی به مدت چند دقیقه در تاریکی نگهداری گردید و پس از اضافه کردن ۵۰ ml آب مقطر، توسط تیوسولفات سدیم (۰/۰۱ نرمال) تیتراسیون شد. مقادیر PV (mEq اکسیژن در هر kg نمونه) با فرمول زیر محاسبه گردید:

$$PV = 1000 (S \times N) / W$$

که در اینجا، PV: میزان پراکسید، S: حجم تیوسولفات سدیم مصرفی (ml)، N: نرمالیتی محلول تیوسولفات سدیم، و W: وزن نمونه (g) است (AOCS, 2007).

- شاخص آنیزیدین

ابتدا، پارآنیزیدین (g/۲۵) در اسید استیک (۱۰۰ ml) محلول گردید. مقدار g/۷ - ۰/۵ نمونه روغن را به دقت در یک بالن ۲۵ ml توزین کرده (m)، محلول پارآنیزیدین - اسید استیک به آن اضافه شده، و سپس توسط ایزواکتان به حجم رسانده و کاملاً مخلوط گردید. جذب محلول حاصل (ایزواکتان + روغن) در طول موج ۳۵۰ nm در مقابل ایزواکتان (شاهد) قرائت گردید (A_b). مقدار ۵ ml از محلول روغن در ایزواکتان به یک لوله آزمایش و ۵ ml ایزواکتان، به یک لوله آزمایش دیگر منتقل گردید. یک میلی‌لیتر محلول پارآنیزیدین به هر یک از دو لوله آزمایش اضافه کرده و به خوبی مخلوط شد. پس از ۱۰ دقیقه نگهداری در تاریکی، جذب محلول نمونه (ایزواکتان + روغن + پارا-آنیزیدین) در برابر شاهد (ایزواکتان + پارا آنیزیدین) قرائت گردید (A_s). در انتها، شاخص آنیزیدین براساس فرمول زیر محاسبه گردید (Nasrin and Anal, 2015).

$$AV = \frac{[25 \times (1.2 A_s - A_b)]}{m}$$

که در اینجا، AV بیانگر مقدار آنیزیدین است.

- تجزیه و تحلیل آماری

نرمال بودن داده‌های حاضر با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov تست گردید. پراکندگی تمامی داده‌ها نرمال بود. به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری $\alpha = 5\%$ استفاده شد. از آزمون واریانس چند طرفه (multivariate ANOVA) برای مقایسه داده‌های ثبات اکسیداتیو استفاده شد، که در آن تیمارهای مواد دیواره، درصد رطوبت و زمان نمونه‌برداری به عنوان فاکتورهای مستقل، و مقادیر پراکسید و آنیزیدین به عنوان متغیر وابسته بودند. تمامی تجزیه و تحلیل‌های آماری با نرم‌افزار SPSS انجام گرفت.

یافته‌ها

- آزمون‌های امولسیون

نتایج آزمایش‌های انجام شده بر امولسیون حاکی از وجود اثر معنی‌دار تاثیر ترکیبات مختلف دیواره بر درجه خامه‌ای شدن و ویسکوزیته بود (جدول ۱). بیشترین مقدار خامه‌ای شدن در تیمار با پوشش مالتودکسترین به تنهایی مشاهده شد که اختلاف معناداری با سایر تیمارهای مورد

بررسی نشان داد ($p < 0.05$). مقادیر ویسکوزیته در تیمار M به طور معناداری کمتر از سایر تیمارها اندازه‌گیری گردید ($p < 0.05$). با توجه به نتایج تحقیق حاضر، در نمونه‌های با ویسکوزیته بالاتر، حالت دوفازی کمتر مشاهده گردید.

- بررسی فیزیکوشیمیایی پودر

نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که ترکیبات مختلف دیواره تاثیر معنی‌داری بر شاخص‌های فیزیکوشیمیایی اندازه‌گیری شده داشتند (جدول ۲). با توجه به نتایج آورده شده در جدول ۲ میزان رطوبت در نانوکپسول‌های با پوشش M و Hi-cap بیشتر از سایر تیمارها بود ($p < 0.05$). با توجه به شکل ۱ مشاهده می‌شود اندازه ذرات و توزیع پراکندگی نانوکپسول‌ها با در نظر گرفتن ترکیبات مختلف در پوشش، تفاوت معنی‌داری نشان دادند. به طوریکه بزرگ‌ترین و کوچک‌ترین اندازه ذرات به ترتیب در نانوکپسول با پوشش تماماً مالتودکسترین (۹۷۴ نانومتر) و ترکیبی از مالتودکسترین + نشاسته اصلاح شده + کنستانتره آب پنیر (۶۹۱/۵ نانومتر) مشاهده گردید ($p < 0.05$). همچنین، بیشترین راندمان ریزپوشانی اندازه‌گیری شده مربوط به نانوکپسول‌هایی با پوشش ترکیبی از M + WPC + Hi-cap بود ($p < 0.05$).

جدول ۱- شاخص‌های ثبات امولسیون روغن ماهی پوشش دهی شده با ترکیبات دیواره‌ای متفاوت

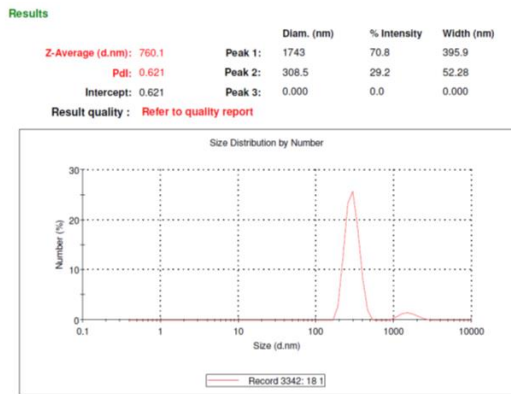
ثبات امولسیون		تیمار/ نوع دیواره
ویسکوزیته ظاهری	درجه خامه‌ای شدن	
$58/16 \pm 1/72^a$	$38 \pm 2/64^c$	مالتودکسترین
$63/53 \pm 0/55^b$	$16 \pm 1/73^b$	مالتودکسترین + نشاسته اصلاح شده
$116/67 \pm 2/95^c$	$5 \pm 5/00^a$	مالتودکسترین + نشاسته اصلاح شده + کنستانتره آب پنیر

داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده‌اند. حروف لاتین غیر مشترک نشان از تفاوت معنادار در سطح 0.05 است.

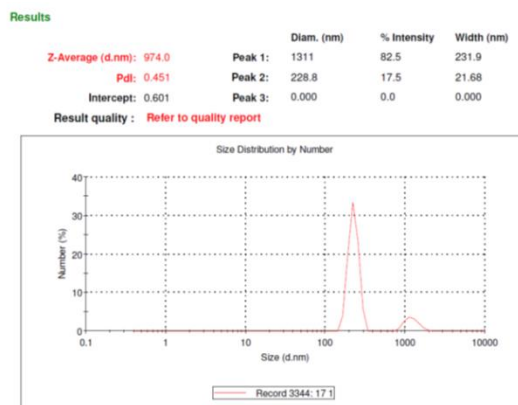
جدول ۲- شاخص‌های فیزیکوشیمیایی روغن ماهی ریزپوشانی شده با ترکیبات دیواره‌ای متفاوت.

شاخص‌های فیزیکوشیمیایی		تیمار/ نوع دیواره
راندمان ریزپوشانی	رطوبت	
$69/1 \pm 0/9^a$	$2/32 \pm 0/16^a$	مالتودکسترین
$83/53 \pm 0/64^b$	$2/77 \pm 0/12^b$	مالتودکسترین + نشاسته اصلاح شده
$89/34 \pm 0/76^c$	$2/41 \pm 0/43^a$	مالتودکسترین + نشاسته اصلاح شده + کنستانتره آب پنیر

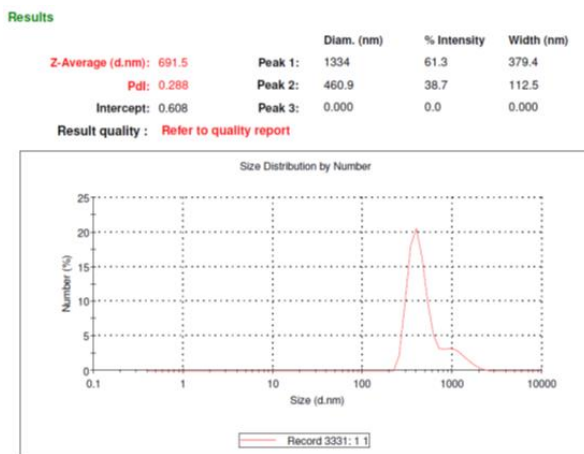
داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده‌اند. حروف لاتین غیر مشترک نشان از تفاوت معنادار در سطح 0.05 است.



(ب)



(الف)



(ج)

شکل ۱- توزیع اندازه ذره‌ای نانوکپسول‌های حامل روغن ماهی (الف: میانگین اندازه ذرات در نانوکپسول‌های با پوشش مالتودکسترین؛ ب: میانگین اندازه ذرات در نانوکپسول‌های با پوشش مالتودکسترین + نشاسته اصلاح شده؛ ج: میانگین اندازه ذرات در نانوکپسول‌های با پوشش مالتودکسترین + نشاسته اصلاح شده + کنستانتره آب پنیر)

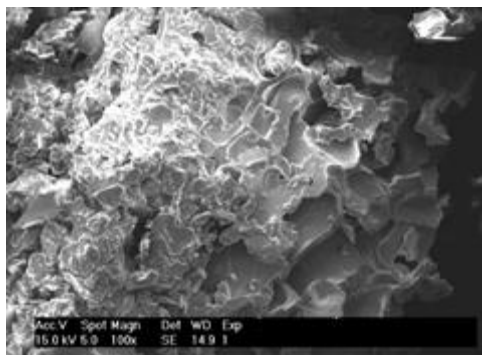
بررسی ساختار سطحی نانوکپسول‌ها

نانو کپسول‌های حاصل از فرآیند خشک کردن انجمادی عموماً حالت لایه‌ای داشتند که در شکل ۲ مشخص شده است. مورفولوژی سطحی در نانوکپسول‌های با پوشش مالتودکسترین به صورت پلت‌های دارای منافذ و شکستگی بده و ذرات به شکل تجمع یافته می‌باشند.

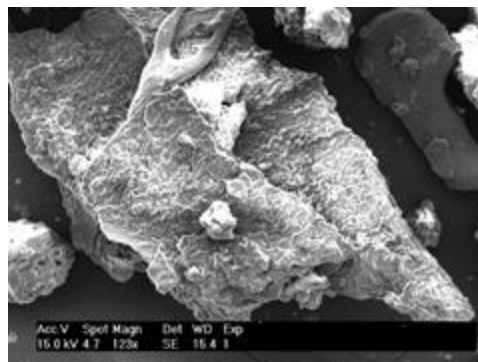
با بررسی ساختار سطحی نانوکپسول‌ها مشاهده می‌گردد نمونه‌های پوشش دهی شده با ترکیبی از مالتودکسترین، نشاسته اصلاح شده و کنستانتره پروتئین آب پنیر در مقایسه با سایر نمونه‌ها به دلیل بالاتر بودن ضریب ریزپوشانی، دارای کمترین خلل و فرج و روغن آزاد سطحی بر سطح نانوکپسول‌ها بودند.

ثبات اکسیداتیو

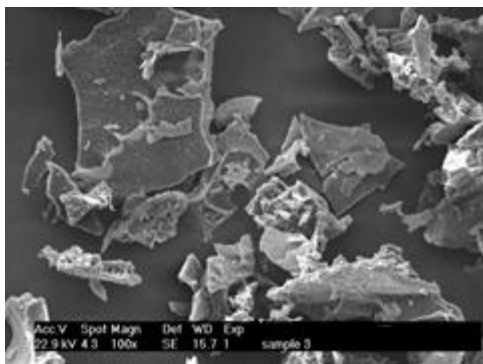
با توجه به نتایج بدست آمده مشخص گردید که ترکیبات متفاوت دیواره، درصد رطوبت و زمان نگهداری در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد تأثیر معناداری بر مقادیر پراکسید داشتند (جدول ۳ و ۴). بطوری‌که بیشترین و کمترین مقادیر پراکسید به ترتیب در تیمارهای شاهد و WPC+Hi-cap+M اندازه‌گیری شد. لازم به ذکر است که مقادیر پراکسید در تمامی تیمارها تا روز چهاردهم نگهداری در رطوبت‌های صفر و ۲۴٪ به صورت تدریجی افزایش یافت؛ اما در انتهای روز ۲۱ نگهداری کاهش معناداری در این مقادیر مشاهده گردید.



(الف)



(ب)



(ج)

شکل ۲- ساختار سطحی نمونه پودرهای حاصله از ریزپوشانی روغن ماهی با (الف) مالتودکسترین، (ب) مالتودکسترین + نشاسته اصلاح شده، و (ج) مالتودکسترین + نشاسته + کنستانتیره پروتئین آب پنیر در خشک کن انجمادی.

جدول ۳- تغییرات مقادیر پراکسید (میلی اکی والان پراکسید بر کیلوگرم روغن) نمونه های روغن ماهی ریزپوشانی شده با پوشش‌های دیواره‌ای متفاوت طی نگهداری در رطوبت صفر درصد (دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد)

۶۶

تیمار/نوع دیواره	مدت زمان نگهداری (روز)			
	۰	۷	۱۴	۲۱
کنترل (روغن ماهی)	۱/۷۳ ± ۱/۱۶ ^{aA}	۹/۸۹ ± ۰/۹ ^{bB}	۲۱/۵۳ ± ۲/۳۷ ^{cD}	۱۶/۹۹ ± ۲/۱۹ ^{cC}
مالتودکسترین	۲/۱۲ ± ۰/۲ ^{aA}	۸/۹۹ ± ۱/۰۹ ^{bB}	۱۶/۸۸ ± ۱/۷۵ ^{bC}	۷/۱۳ ± ۱/۰۸ ^{aB}
مالتودکسترین + نشاسته	۲/۴۹ ± ۰/۵۳ ^{aA}	۴/۵۹ ± ۰/۷ ^{aB}	۱۲/۷۴ ± ۰/۷۹ ^{aC}	۱۲/۶ ± ۰/۷۱ ^{bC}
مالتودکسترین + نشاسته + کنستانتیره آب پنیر	۱/۶ ± ۰/۲۵ ^{aA}	۲/۶۶ ± ۱/۸۹ ^{aA}	۱۱/۵۲ ± ۱/۸۳ ^{aC}	۴/۵۶ ± ۱/۲۸ ^{aB}

مقادیر در جدول نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار می‌باشد. حروف کوچک لاتین غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده معنی‌داری ($p < 0.05$) بین تیمارها و حروف بزرگ لاتین غیر مشابه در هر ردیف جدول نشان دهنده معنی‌داری ($p < 0.05$) در زمان‌های مختلف می‌باشد.

جدول ۴- تغییرات مقادیر پراکسید (میلی اکی والان پراکسید بر کیلوگرم روغن) نمونه های روغن ماهی ریزپوشانی شده با پوشش‌های دیواره‌ای متفاوت طی نگهداری در رطوبت ۲۴ درصد (دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد)

تیمار/نوع دیواره	مدت زمان نگهداری (روز)			
	۰	۷	۱۴	۲۱
کنترل (روغن ماهی)	۱/۹۷ ± ۰/۸۱ ^{aA}	۱۳/۶۴ ± ۱/۵۲ ^{aB}	۲۷/۸۴ ± ۰/۸۶ ^{dD}	۱۹/۷۷ ± ۰/۸۳ ^{bC}
مالتودکسترین	۱/۹۸ ± ۰/۵۹ ^{aA}	۱۷/۷۵ ± ۱/۸۴ ^{bB}	۲۳/۸۹ ± ۲/۰۵ ^{cC}	۱۷/۷۲ ± ۱/۷۲ ^{bB}
مالتودکسترین + نشاسته	۲/۱۴ ± ۰/۴۹ ^{aA}	۱۱/۲۳ ± ۱/۳۱ ^{aB}	۱۴/۹۶ ± ۱/۵۳ ^{bC}	۱۴/۷۲ ± ۱/۴ ^{aC}
مالتودکسترین + نشاسته + کنستانتیره آب پنیر	۲/۱۶ ± ۰/۲ ^{aA}	۱۱/۴۱ ± ۱/۱۵ ^{aB}	۱۲/۱۱ ± ۱/۳۵ ^{aBC}	۱۳/۸۳ ± ۰/۷۸ ^{aC}

مقادیر در جدول نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار می‌باشد. حروف کوچک لاتین غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده معنی‌داری ($p < 0.05$) بین تیمارها و حروف بزرگ لاتین غیر مشابه در هر ردیف جدول نشان دهنده معنی‌داری ($p < 0.05$) در زمان‌های مختلف می‌باشد.

فرآیند خشک کردن و همچنین به هنگام نگهداری مؤثر است. مطالعات نشان دادند که خصوصیات امولسیون از قبیل ثبات، ویسکوزیته، اندازه قطرات، و همچنین ویژگی‌های ذرات همچون روغن سطحی، اندازه ذرات، تراکم، مورفولوژی و ثبات اکسیداتیو از نوع مواد مورد استفاده در پوشش کپسول‌ها طی فرآیند ریزپوشانی تأثیر می‌پذیرند (Jafari et al., 2008). مقادیر پایین‌تر ویسکوزیته در امولسیون‌های تهیه شده با پوشش تماماً مالتودکستروزین و یا ترکیب آن با نشاسته در سایر مطالعات نیز نشان داده شده است (Soottitantawat et al., 2005; Bule et al., 2010; Fernandes et al., 2008; Carneiro et al., 2013). با توجه به نتایج تحقیق حاضر می‌توان دریافت که ظرفیت امولسیون‌کنندگی مالتودکستروزین پایین بوده و ترکیب آن با مواد پروتئینی آب پنیر موجب بهبود خاصیت امولسیون‌کنندگی شده است (Carneiro et al., 2013). طبق نتایج بدست آمده با افزایش ویسکوزیته امولسیون، درجه خامه‌ای شدن کاهش می‌یابد. علت ناپایداری امولسیون در ویسکوزیته پایین را می‌توان به

همانطور که در جداول ۵ و ۶ مشاهده می‌شود شرایط نگهداری در رطوبت‌های نسبی متفاوت، ترکیبات دیواره‌ای، و زمان نگهداری نانوکپسول تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر شاخص آنیزیدین نشان داد ($p < 0.05$) (جدول ۵ و ۶). در تمامی تیمارها مقادیر آنیزیدین طی ۲۱ روز نگهداری در هر دو درصد رطوبتی، به صورت تدریجی افزایش یافت. همچنین، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که با افزایش مقدار رطوبت نسبی در طول دوره نگهداری، مقادیر شاخص آنیزیدین در همه تیمارها روندی افزایشی داشت.

بحث

در مطالعه حاضر از روش خشک کردن انجمادی به منظور ریزپوشانی روغن ماهی کیلکا با استفاده از ترکیبات کربوهیدراته و پروتئینی در پوشش استفاده شد. نتایج به دست آمده نشان دادند که نوع ترکیب دیواره بر درجه خامه‌ای شدن و ویسکوزیته امولسیون تأثیر معنادار داشته است. انتخاب ترکیبات دیواره‌ای مناسب بر هر دو خصوصیات امولسیون و ویژگی‌های نانوکپسول‌ها پس از

جدول ۵- تغییرات شاخص آنیزیدین نمونه‌های روغن ماهی ریزپوشانی شده با پوشش‌های دیواره‌ای متفاوت و نگهداری در رطوبت صفر درصد (دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد)

تیمار/نوع دیواره	مدت زمان نگهداری (روز)			
	۰	۷	۱۴	۲۱
کنترل (روغن ماهی)	۳/۴۷ ± ۰/۶۲ ^{aA}	۴۹/۳۳ ± ۱/۶۶ ^{dB}	۷۵/۸۴ ± ۰/۳۸ ^{dC}	۹۵/۴۸ ± ۱/۳۵ ^{dD}
مالتودکستروزین	۳/۶۷ ± ۰/۷ ^{aA}	۴۴/۶۲ ± ۱/۴۸ ^{cB}	۶۴/۲۸ ± ۴/۵۹ ^{cC}	۷۸/۱۱ ± ۲/۷۱ ^{cD}
مالتودکستروزین + نشاسته	۳/۵۹ ± ۰/۶۷ ^{aA}	۱۳/۲۹ ± ۱/۴۱ ^{bB}	۴۲/۷۸ ± ۱/۷۳ ^{bC}	۵۸/۴۵ ± ۱/۳۲ ^{aD}
مالتودکستروزین + نشاسته + کنستاتره آب پنیر	۳/۲۸ ± ۰/۵۲ ^{aA}	۱۰/۳۷ ± ۱/۲۳ ^{aB}	۳۴/۲۶ ± ۱/۴۳ ^{aC}	۶۵/۸۴ ± ۱/۰۳ ^{bD}

مقادیر در جدول نشان دهنده میانگین \pm انحراف معیار می‌باشد. حروف کوچک لاتین غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده معنی‌داری ($p < 0.05$) بین تیمارها و حروف بزرگ لاتین غیر مشابه در هر ردیف جدول نشان دهنده معنی‌داری ($p < 0.05$) در زمان‌های مختلف می‌باشد.

جدول ۶- تغییرات شاخص آنیزیدین نمونه‌های روغن ماهی ریزپوشانی شده با پوشش‌های دیواره‌ای متفاوت طی نگهداری در رطوبت ۲۴ درصد (دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد)

تیمار/نوع دیواره	مدت زمان نگهداری (روز)			
	۰	۷	۱۴	۲۱
کنترل (روغن ماهی)	۳/۵ ± ۰/۵۷ ^{aA}	۴۸/۴۶ ± ۳/۱ ^{cB}	۱۳۸/۱۶ ± ۲/۰۰ ^{dC}	۱۴۲/۳۳ ± ۶/۶۲ ^{dC}
مالتودکستروزین	۳/۸۵ ± ۰/۸۹ ^{aA}	۵۸/۹۶ ± ۲/۰۰ ^{dB}	۱۰۹/۰۲ ± ۱/۱۴ ^{cC}	۱۳۰/۰۱ ± ۱/۹۳ ^{cD}
مالتودکستروزین + نشاسته	۵/۰۹ ± ۱/۰۷ ^{aA}	۱۷/۵۱ ± ۲/۰۳ ^{aB}	۷۱/۷۱ ± ۰/۹۸ ^{bC}	۱۱۶/۱۰ ± ۱/۹۶ ^{bD}
مالتودکستروزین + نشاسته + کنستاتره آب پنیر	۳/۵۱ ± ۰/۵۹ ^{aA}	۲۳/۵۵ ± ۲/۰۲ ^{bB}	۶۱/۷۹ ± ۲/۱۲ ^{aC}	۷۲/۲۶ ± ۱/۶۶ ^{aD}

مقادیر در جدول نشان دهنده میانگین \pm انحراف معیار می‌باشد. حروف کوچک لاتین غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده معنی‌داری ($p < 0.05$) بین تیمارها و حروف بزرگ لاتین غیر مشابه در هر ردیف جدول نشان دهنده معنی‌داری ($p < 0.05$) در زمان‌های مختلف می‌باشد.

رابطه معکوسی بین میزان ویسکوزیته و اندازه ذرات مشاهده گردید که می‌تواند مرتبط با نوع مواد دیواره‌ای در ترکیب باشد. در واقع، خصوصیات امولسیون‌کنندگی ترکیبات دیواره‌ای مختلف، متفاوت بوده و به فعالیت سطحی آن‌ها، سرعت جذب سطحی در سطح قطره، خصوصیات شکل‌پذیری و برهم‌کنش داخل مولکولی در لایه روغن-آب بستگی دارد (Taherian *et al.*, 2006). بنابراین، پیشنهاد می‌شود که علاوه بر ویسکوزیته، نوع ماده دیواره‌ای و غلظت آن می‌تواند اثر معنی‌داری بر اندازه ذرات پودر حاصله داشته باشد.

راندمان ریزپوشانی به مقدار مواد هسته‌ای کپسوله‌شده در ترکیبات دیواره اشاره دارد (Ghorbanzade *et al.*, 2017). در مطالعه حاضر، میزان ریزپوشانی روغن ماهی در پوششی از WPC+Hi-cap+M حدود $0.076 \pm 0.89/34\%$ برآورد شد. به عبارت دیگر، حدود ۸۹٪ از روغن ماهی اضافه شده به صورت کپسوله درآمده و تنها ۱۱٪ آن غیرکپسوله باقی مانده بود. این مقادیر نشان‌دهنده مقادیر بالاتر راندمان نسبت به تیمارهای با پوشش مالتودکسترین به تنهایی یا در ترکیب با Hi-cap بود، که بیانگر نقش تعیین‌کنندگی WPC در بهبود راندمان ریزپوشانی روغن ماهی در سیستم خشک‌کن انجمادی می‌باشد. Rasti و همکاران (۲۰۱۲) بیان نمودند که راندمان ریزپوشانی متأثر از اندازه ذرات ریزپوشانی شده می‌باشد. این امر به خوبی در نتایج این مطالعه مشاهده گردید، به صورتی که کمترین اندازه ذرات منجر به بهترین راندمان ریزپوشانی گردید.

با توجه به تصاویر SEM مشخص گردید که ریزپوشانی روغن ماهی در سیستم خشک‌کن انجمادی منجر به تولید پوردهایی با ساختار ورقه‌ای شد. این ساختار ورقه‌ای به دنبال اضافه کردن Hi-cap و WPC دارای سطحی صاف و بدون شکستگی شدند. به خوبی مشخص شده است که پوردهای حاصل از فرآیند خشک‌کردن انجمادی تفاوت بسیار اندکی از نظر ساختار ظاهری دارند (Ez hilarasi *et al.*, 2013) که با نتایج این مطالعه تطابق دارد. خلل و فرج زیادی در ریزساختار پوردها مشاهده گردید که به دلیل تشکیل کریستال‌های کوچک یخ در طول فرآیند فریز کردن بوده است (Ez hilarasi *et al.*, 2013). در طول فرآیند خشک‌کردن انجمادی، یخ از ساختار منجمد شده حفاظت می‌کند، که پس از حذف یخ در فرآیند

حرکت آزادانه قطرات روغن در سیستم نسبت داد. به گونه‌ای که نیروهای ضعیف ویسکوز در فاز آبی، برای جلوگیری از برخورد قطرات روغن کافی نبوده و در اثر برخورد با یکدیگر منجر به تجمع قطرات می‌شوند که البته با گذشت زمان در اثر افزایش برخورد قطره-قطره، فلوکه-قطره و فلوکه-فلوکه و حرکات براونی میزان قطرات فلوکه شده افزایش می‌یابد. بنابر این با توجه به افزایش اندازه شعاع قطرات فلوکه شده نسبت به قطرات فلوکه نشده در امولسیون بر اساس قانون استوکس خامه‌ای شدن تسریع می‌شود (یوسفی و همکاران، ۱۳۹۱).

پروتئین‌ها تأثیر به‌سزایی در بهبود خواص امولسیون‌های پیش‌نیاز ریزپوشانی روغن‌ها و چربی‌ها ایفا می‌کنند (Bae and Lee, 2008). بنابراین، با توجه به تأثیر خصوصیات امولسیون بر ویژگی پوردهای تولید شده، پیشنهاد می‌شود که از یک ترکیب پروتئینی همانند کنستانتره آب پنیر WPC به همراه M و Hi-cap در ریزپوشانی روغن ماهی استفاده شود.

در تمامی تیمارها، رطوبت در محدوده ۲ تا ۳ درصد بود که مشابه با نتایج مطالعه Pereira و همکاران (۲۰۰۹) می‌باشد. Bhandari و همکاران (۲۰۰۸)، رطوبت پوردهای ریزپوشانی شده در شرایط مناسب در جهت کاربرد در صنعت غذا و دارو را کمتر از ۵٪ پیشنهاد نمودند. لازم به ذکر است که جذب آب یک فاکتور بحرانی در حفظ پایداری ساختار ذرات نانوکپسوله محسوب می‌شود؛ هنگامی که پودر رطوبت جذب می‌کند، تغییراتی در ساختار فیزیکی کپسول‌ها بروز می‌کند (Bhandari and Howes, 1999) که منجر به کاهش عملکرد آن‌ها خواهد شد.

اندازه ذرات یک عامل مهم و اثرگذار بر میزان پایداری، راندمان ریزپوشانی و رهایش ترکیبات زیست‌فعال می‌باشد. همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود اندازه ذرات کپسول‌های تهیه شده حدود $91.5/5$ تا 97.4 نانومتر و دارای PDI در محدوده 0.288 تا 0.621 متغیر بود که نشان دهنده اندازه ذره‌ای مناسب و یکنواختی توزیع ذرات است و با نتایج Rasti و همکاران (۲۰۱۲) مطابقت دارد. میزان ویسکوزیته امولسیون تأثیر به‌سزایی بر اندازه ذرات در پودر نهایی دارد (Hogan *et al.*, 2001). هرچه ویسکوزیته بیشتر باشد، قطرات امولسیون بزرگ‌تر شده، و در نهایت ذرات پودر بزرگ‌تری حاصل می‌گردد. در مطالعه حاضر،

از طرف دیگر، کمتر بودن مقادیر شاخص آنیزیدین در نانوکپسول‌های با پوشش WPC+Hi-cap+M بیانگر بهبود ثبات اکسیداتیو روغن ماهی ریزپوشانی شده به دنبال استفاده از ماده پروتئینی در ساختار دیواره می‌باشد. این نتایج می‌تواند به دلیل وجود مقادیر کمتر مالتودکستروزین، کاهش تعداد خلل و فرج پودرها و در نتیجه انتشار اکسیژن و به دنبال آن میزان اکسایش کمتر باشد (Nasrin and Anal, 2015). به علاوه، مشخص شده است که حضور همزمان مواد کربوهیدراته و پروتئینه در ساختار دیواره باعث بهبود خواص امولسیون‌کنندگی و ثبات اکسیداتیو روغن‌های غیر اشباع می‌گردد (Shepherd et al., 2000). همچنین، مقادیر آنیزیدین با افزایش شدت رطوبت دوره نگهداری، افزایش یافت. بر این اساس می‌توان بیان نمود که ثبات اکسیداتیو نانوکپسول‌های روغن ماهی به میزان زیادی به فعالیت آبی پودر بستگی داشته و در واقع، نرخ انتشار به طور معناداری از میزان رطوبت نسبی ریزکپسول‌ها تأثیر می‌گیرد (قرآنی و همکاران، ۱۳۹۶).

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر از روش خشک‌کن انجمادی جهت ریزپوشانی روغن ماهی کیلکا با استفاده از ترکیبات دیواره‌ای مختلف استفاده شد. به طور کلی، براساس نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری ویژگی‌های امولسیون، خصوصیات فیزیکوشیمیایی پودرهای حاصل از ریزپوشانی می‌توان بیان نمود که ترکیبی از مالتودکستروزین، نشاسته اصلاح‌شده و کنستانتره آب پنیر در مقادیر یکسان در مقایسه با سایر تیمارها منجر به بهترین حالت ریزپوشانی روغن ماهی کیلکا با استفاده از روش خشک‌کردن انجمادی می‌گردد. نتایج بررسی عامل رطوبت نسبی (صفر و ۲۴٪) بر روند اکسیداسیون نانوکپسول‌های حامل روغن ماهی نشان داد که با افزایش رطوبت به ۲۴٪، میزان اکسیداسیون در روغن ماهی و روغن ماهی نانوکپسوله افزایش یافت و ریزپوشانی روغن ماهی سبب کند نمودن اکسایش روغن در هر دو شرایط رطوبتی در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد طی ۲۱ روز نگهداری گردید.

منابع

بحرانی، س.، قنبر زاده، ب.، همیشه کار، ح. و صوتی

خشک‌کردن، ذرات دیواره‌ای در خلل و فرج باقی می‌مانند (Ezhilarasi et al., 2013). چسبندگی و تجمع ذره‌ای در روغن ماهی ریزپوشانی شده با مالتودکستروزین بیشتر از دو تیمار دیگر بود، که منجر به افزایش ساختار ورقه‌ای این ذرات گردید. این امر احتمالاً به علت وجود مقادیر زیاد دکستروز در مالتودکستروزین بوده که به تدریج موجب چسبندگی می‌گردد (Goula and Adamopoulos, 2008). بنابراین، اضافه کردن Hi-cap و WPC منجر به بهبود ساختار سطحی پودرها شده است.

نتایج این مطالعه نشان داد که درصد رطوبت بر مقادیر پراکسید نمونه‌های حاصل از مواد دیواره‌ای مختلف، متفاوت بود. همچنین، آنالیزها حاکی از افزایش مقادیر پراکسید در طول زمان تا روز ۱۴ نگهداری در شرایط اکسیداسیون تسریع شده در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد بودند، که این افزایش در هر دو شرایط رطوبتی در تیمار کنترل بیشتر از سایر تیمارها اندازه‌گیری شد. این نتایج قابل انتظار بود چرا که پراکسید از مهمترین شاخص‌های اکسیداتیو مواد غذایی است و بیشتر بودن آن در نمونه‌های شاهد نشان از اکسیده شدن بیشتر آن‌ها می‌باشد (Velasco et al., 2009). بهبود مقاومت به شرایط اکسیداسیون روغن ماهی به دنبال ریزپوشانی در مطالعات گذشته نیز گزارش شده است (Ghorbanzade et al., 2017). پراکسیدها در روغن‌های در حال اکسایش ناپایدار بوده و به تدریج به دیگر ترکیبات اکسیده می‌شوند. در ابتدای فرایند اکسایش، مقدار پراکسید افزایش یافته و سپس همانطور که مشاهده می‌شود در روز ۲۱ نگهداری کاهش یافته است که می‌توان به تبدیل پراکسید به سایر ترکیبات مانند آلدهیدها و کتون‌ها نسبت داد (Gotoh and Shun, 2006). در مطالعه حاضر مشخص گردید که ترکیبی از Hi+M+WPC+cap در مقایسه با سایر تیمارها کمترین مقادیر پراکسید را در اغلب روزهای نمونه‌برداری داشت. ذکر شده است که نوع ماده دیواره می‌تواند نقش مهمی در شدت ثبات اکسیداتیو محصول داشته باشد (Yoshii et al., 2001). بنابراین، با توجه به ظرفیت اندک مالتودکستروزین در فرآیند امولسیون‌کنندگی مواد، و نقش مؤثر خصوصیات امولسیون بر ویژگی پودرهای حاصل نتیجه می‌شود که اضافه نمودن Hi-cap و WPC تأثیر به‌سزایی بر کاهش اکسیداسیون پودرها داشته است.

- Bule, M. V., Singhal, R. S. & Kennedy, J. F. (2010). Microencapsulation of ubiquinone-10 in carbohydrate matrices for improved stability. *Carbohydrate Polymers*, 82(4), 1290-1296.
- Carneiro, H. C., Tonon, R. V., Grosso, C. R. & Hubinger, M. D. (2013). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Journal of Food Engineering*, 115(4), 443-451.
- Desai, K. G. H. & Jin Park, H. (2005). "Recent developments in microencapsulation of food ingredients." *Drying Technology* 23(7): 1361-1394.
- Ezhilarasi, P. N., Karthik, P., Chhanwal, N. & Anandharamakrishnan, C. (2013). Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 6(3), 628-647.
- Fernandes, L. P., Turatti, I. C., Lopes, N. P., Ferreira, J. C., Candido, R. C. & Oliveira, W. P. (2008). Volatile retention and antifungal properties of spray-dried microparticles of *Lippia sidoides* essential oil. *Drying Technology*, 26(12), 1534-1542.
- Gallardo, G., Guida, L., Martinez, V., López, M. C., Bernhardt, D., Blasco, R. & Hermida, L. G. (2013). Microencapsulation of linseed oil by spray drying for functional food application. *Food Research International*, 52(2), 473-482.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A. & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40(9), 1107-1121.
- Ghorbanzade, T., Jafari, S. M., Akhavan, S. & Hadavi, R. (2017). Nano-encapsulation of fish oil in nano-liposomes and its application in fortification of yogurt. *Food Chemistry*, 216, 146-152.
- Gotoh, N. & Wada, S. (2006). The importance of peroxide value in assessing food quality and food safety. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 83(5), 473-474.
- Goula, A. M. & Adamopoulos, K. G. (2012). A method for pomegranate seed application in food industries: seed oil encapsulation. *Food and Bioprocess Technology*, 90(4), 639-652.
- خیابانی، م. (۱۳۹۲). نانوانکپسولاسیون اسیدهای چرب امگا-۳ توسط حامل‌های پکتین-کارژینات: بررسی تشکیل کمپلکس، اندازه ذرات و کارایی انکپسولاسیون. *مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران*. ۸(۳)، ۱-۱۵.
- قرآنی، ب.، کدخدایی، ر. و آل‌حسینی، ع. (۱۳۹۶). تأثیر نوع پلیمر، دما و رطوبت نسبی بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و پایداری ترکیبات زیست فعال زعفران ریزپوشانی‌شده. *علوم و صنایع غذایی*، ۱۴(۶)، ۱۲۷-۱۴۲.
- یوسفی، ف.، عباسی، س. و عزت‌پناه، ح. (۱۳۹۱). تأثیر میزان صمغ فارسی، روغن، پروتئین و پ هاش بر پایداری امولسیون تهیه شده با فرا صوت. *نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی*، ۱(۳)، ۱۹۹-۲۱۸.
- AOCS (2007). Official methods and recommended practices of the American oil chemist's society (6th ed.). Champaign, IL: AOCS Press.
- Bae, E. K. & Lee, S. J. (2008). Microencapsulation of avocado oil by spray drying using whey protein and maltodextrin. *Journal of Microencapsulation*, 25(8), 549-560.
- Baik, M. Y., Suhendro, E. L., Nawar, W. W., McClements, D. J., Decker, E. A. & Chinachoti, P. (2004). Effects of antioxidants and humidity on the oxidative stability of microencapsulated fish oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81(4), 355-360.
- Bakry, A. M., Abbas, S., Ali, B., Majeed, H., Abouelwafa, M. Y., Mousa, A. & Liang, L. (2016). Microencapsulation of oils: a comprehensive review of benefits, techniques, and applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 143-182.
- Bhandari, B. R. & Howes, T. (1999). Implication of glass transition for the drying and stability of dried foods. *Journal of Food Engineering*, 40(1), 71-79.
- Bhandari, B. R., Patel, K. C. & Chen, X. D. (2008). Spray drying of food materials—Process and product characteristics. *Drying technologies in food processing*, 4, 113-157.
- Binsi, P. K., Nayak, N., Sarkar, P. C., Jeyakumari, A., Ashraf, P. M., Ninan, G. & Ravishankar, C. N. (2017). Structural and oxidative stabilization of spray dried fish oil microencapsulates with gum arabic and sage polyphenols: Characterization and release kinetics. *Food Chemistry*, 219, 158-168.

Gruenfelder, C. A. (2014). Sensory evaluation of heart-healthy foods enriched with omega-3 fats from fish oil, College of Saint Elizabeth.

Hogan, S. A., O'riordan, E. D. & O'sullivan, M. (2003). Microencapsulation and oxidative stability of spray-dried fish oil emulsions. *Journal of Microencapsulation*, 20(5), 675-688.

Iranian National Standardization Organization (2013). Saffron - Test methods Iranian National Standardization, No.259-2, 5th.

Jafari, S. M., Assadpoor, E., Bhandari, B. & He, Y. (2008). Nano-particle encapsulation of fish oil by spray drying. *Food Research International*, 41(2), 172-183.

Jordan, R. G. (2010). Prenatal omega-3 fatty acids: review and recommendations. *Journal of Midwifery & Women's Health*, 55(6), 520-528.

Kahl, J. L., Artz, W. E. & Schanus, E. G. (1988). Effects of relative humidity on lipid autoxidation in a model system. *Lipids*, 23(4), 275-279.

Komaiko, J., Sastrosubroto, A. & McClements, D. J. (2016). Encapsulation of ω -3 fatty acids in nanoemulsion-based delivery systems fabricated from natural emulsifiers: Sunflower phospholipids. *Food chemistry*, 203, pp.331-339.

Kumar, M. N. V. R. (2000). Nano and microparticles as controlled drug delivery devices. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(2), 234-258.

Lauterbach, R. & Pawlik, D. (2014). Chapter 23-Fish-oil fat emulsion and retinopathy in very low birth weight infants. *Handbook of nutrition, diet and the eye*. San Diego: Academic Press. p, 233-40.

Maloney, J. F., Labuza, T. P., Wallace, D. H. & Karel, M. (1966). Autoxidation of Methyl Linoleate in Freeze-Dried Model Systems. I. Effect of Water on the Autocatalyzed Oxidation. *Journal of Food Science*, 31(6), 878-884.

Nasrin, T. A. A. & Anal, A. K. (2015). Enhanced oxidative stability of fish oil by encapsulating in culled banana resistant starch-soy protein isolate based microcapsules in functional bakery products. *Journal of food science and technology*, 52(8), 5120-5128.

Nussinovitch, A. (1997). Hydrocolloid applications: gum technology in the food and other industries. (pp. 134-137). London:

Blackie Academic & Professional.

Pereira, H. V. R., Saraiva, K. P., Carvalho, L. M. J., Andrade, L. R., Pedrosa, C. & Pierucci, A. P. T. R. (2009). Legumes seeds protein isolates in the production of ascorbic acid microparticles. *Food Research International*, 42(1), 115-121.

Phillips, G. O. & Williams, P. A. (Eds.). 2009. *Handbook of hydrocolloids*. Elsevier.

Ponginebbi, L., Nawar, W. W. & Chinachoti, P. (2000). Effect of relative humidity on lipid oxidation in freeze-dried emulsions. *Grasas y Aceites*, 51, 348-354.

Porras-Saavedra, J., Palacios-González, E., Lartundo-Rojas, L., Garibay-Febles, V., Yáñez-Fernández, J., Hernandez-Sanchez, H. & Alamilla-Beltran, L. (2015). Microstructural properties and distribution of components in microparticles obtained by spray-drying. *Journal of Food Engineering*, 152, 105-112.

Rasti, B., Jinap, S., Mozafari, M. R. & Yazid, A. M. (2012). Comparative study of the oxidative and physical stability of liposomal and nanoliposomal polyunsaturated fatty acids prepared with conventional and Mozafari methods. *Food Chemistry*, 135(4), 2761-2770.

Rodríguez, J., Martín, M. J., Ruiz, M. A. & Clares, B. (2016). Current encapsulation strategies for bioactive oils: From alimentary to pharmaceutical perspectives. *Food Research International*, 83, 41-59.

Shepherd, R., Robertson, A. & Ofman, D. (2000). Dairy glycoconjugate emulsifiers: casein-maltodextrins. *Food Hydrocolloids*, 14(4), 281-286.

Singh, M., Chakrapani, A. & O'Hagan, D. (2007). Nanoparticles and microparticles as vaccine-delivery systems. *Expert review of vaccines*, 6(5), 797-808.

Sootitawat, A., Bigeard, F., Yoshii, H., Furuta, T., Ohkawara, M. & Linko, P. (2005). Influence of emulsion and powder size on the stability of encapsulated D-limonene by spray drying. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(1), 107-114.

Taherian, A. R., Fustier, P. & Ramaswamy, H. S. (2006). Effect of added oil and modified starch on rheological properties, droplet size distribution, opacity and stability of beverage cloud emulsions. *Journal of Food Engineering*, 77(3), 687-696.

Tehrany, E., Jacquot, M., Gaiani, C., Imran, M., Desobry, S. & Linder, M. (2012). Beneficial effects and oxidative stability of

omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids. *Trends in Food Science & Technology*, 25(1), 24-33.

Velasco, J., Dobarganes, C., Holgado, F. & Márquez-Ruiz, G. (2009). A follow-up oxidation study in dried microencapsulated oils under the accelerated conditions of the Rancimat test. *Food Research International*, 42(1), 56-62.

Walker, R. M., Decker, E. A. & McClements, D. J. (2015). Physical and oxidative stability of fish oil nanoemulsions produced by spontaneous emulsification: effect of surfactant concentration and particle size. *Journal of Food Engineering*, 164, pp.10-20.

Wang, Y., Liu, W., Chen, X. D. & Selomulya, C. (2016). Micro-encapsulation

and stabilization of DHA containing fish oil in protein-based emulsion through mono-disperse droplet spray dryer. *Journal of Food Engineering*, 175, 74-84.

Yoshii, H., Soottitantawat, A., Liu, X. D., Atarashi, T., Furuta, T., Aishima, S. & Linko, P. (2001). Flavor release from spray-dried maltodextrin/gum arabic or soy matrices as a function of storage relative humidity. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2(1), 55-61.

Zimet, P. & Livney, Y. D. (2009). Beta-lactoglobulin and its nanocomplexes with pectin as vehicles for ω -3 polyunsaturated fatty acids. *Food Hydrocolloids*, 23(4), 1120-1126.

Evaluation of Physicochemical Properties and Oxidative Stability of Nano-Capsules in Different Storage Conditions

S. Ahmadi ^a, S. M. Ojagh ^{b*}, Sh. Hasani ^c

^a M. Sc. Student of the Department of Seafood Processing, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

^b Associate Professor of the Department of Seafood Processing, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

^c Ph. D. of the Department of Seafood Processing, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

Received: 18 September 2017

Accepted: 27 March 2018

Abstract

10

Introduction: the health benefits of omega-3 fatty acids, as well as the high sensitivity of unsaturated fatty acids to oxidation of fish oil, caused the use of encapsulation of fish oil for enriching food products and drugs.

Materials and Methods: this study aims to evaluate the physicochemical properties of nano-encapsulated fish oil, and their oxidative stability during storage at 0 and 24% relative humidity conditions. Emulsion was prepared after sonication with wall materials of maltodextrin (M), modified starch (Hi-cap) and whey protein concentrate (WPC) at the ratio of 1:4 (oil:wall). Emulsion and nano-encapsulated powder properties including emulsion stability, apparent viscosity, powder moisture, encapsulated coefficient, particle size and morphology of nano-capsules were determined.

Results: The lowest amounts of creaming and viscosity were observed in M+Hi-cap+WPC and M, respectively. Moisture content in M+Hi-cap showed the highest value. The lowest and highest particle sizes were measured in M+Hi-cap+WPC and M, respectively. Also, the best encapsulation efficiency was obtained for M+Hi-cap+WPC. SEM photographs showed glass-like sheets of encapsulated materials with the freeze-dryer. During 21 days storage at 0 and 24% relative humidity, the results showed an increase in peroxide and anisidine values. The values were higher at 24% than the 0% humidity, and the best results of oxidative stability were observed in M+Hi-cap+WPC treatment.

Conclusion: Based on the findings, relative humidity is an effective factor in the oxidation of fish oil nano-capsules. The use of nano-encapsulation is a practical and effective method for increasing the stability of fish oil for enriching the food and promoting human health.

Keywords: Encapsulation, Fish Oil, Freeze-dryer, Moisture, Oxidation Stability.

* Corresponding Author: mahdi_ojagh@yahoo.com