مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال سوم، شماره۴، زمستان ۱۳۸۷ ، صفحات ۶۹-۵۷

تعیین کارایی دو روش تولید ریزکپسول‌های آهن و ارزیابی اثرات افزودن آنها روی برخی ویژگی‌های شیر پاستوریزه

سارا آذری[۱]، سلیمان عباسی[۲]، محمدحسین عزیزی[۳]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس
۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس پست الکترونیکی: sabbasifood@modares.ac.ir
۳- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ دریافت: ۸۷/۵/۱ تاریخ پذیرش: ۸۷/۱۱/۱۴

چکیده

سابقه و هدف: کم‌خونی فقر آهن، یکی از شایع‌ترین کمبودهای تغذیه‌ای در جهان و ایران است که یکی از راه‌های مقابله با آن تقویت کردن مواد غذایی با آهن و بهبود جذب آهن آنهاست. در این پژوهش، امکان تقویت کردن شیر با آهن ریزکپسوله شده مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، دو نوع نمک آهن با استفاده از دو روش جدید، ریزکپسوله شدند و میزان کارایی و شرایط بهینه آنها ارزیابی شد. سپس شیرهای تقویت شده از نظر میزان اکسایش چربی شیر، شاخص‌های رنگ و ویژگی‌های حسی طی ۳ روز نگهداری در $4^{\circ}C$ مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: در روش لیپوزومی، بالاترین کارایی (۸۵/۵ درصد) با کاهش نسبت یون آهن به چربی (۰/۰۴) و درصد مولی Tween 80 (۵٪) در دیواره ریزکپسول‌ها و در روش استرهای اسید چرب، بالاترین کارایی (۸۱/۸ درصد) با نسبت ۱۵ به ۱ پلی‌گلیسرول‌منواستئارات به نمک آهن به‌دست آمد. کمترین و بیشترین میزان اکسایش چربی شیر در طول نگهداری، به‌ترتیب مربوط به شیرهای تقویت شده با ریزکپسول‌های به دست آمده از روش استرهای اسید چرب و شیرهای تقویت شده با آهن کپسوله نشده بود. از نظر ویژگی‌های حسی، شیرهای تقویت شده با ریزکپسول‌های به‌دست آمده از روش استرهای اسید چرب در غلظت ۷mg/L با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشتند.

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌های بررسی حاضر به نظر می‌رسد که ریزکپسوله کردن با روش استرهای اسید چرب به‌دلیل سادگی، کم‌هزینه بودن، عملی بودن، سرعت بالای فرایند و همچنین پایداری بالای ریزکپسول‌های به دست آمده، روش بسیار مناسبی برای تولید ریزکپسول‌های آهن و تقویت کردن شیر پاستوریزه با آهن است.

واژگان کلیدی: تقویت کردن، ریزکپسوله کردن، شیر، آهن

• مقدمه

آهن یکی از ریزمغذی‌های حیاتی در تغذیه انسان می‌باشد که کمبود آن باعث بروز کم‌خونی فقرآهن می‌شود (۱). اصلی‌ترین دلایل بروز این نوع کم‌خونی را به دریافت ناکافی، جذب ناکافی یا ترکیبی از هر دو مورد نسبت می‌دهند (۲). در جهان، حدود ۲ میلیارد نفر از این بیماری رنج می‌برند (۳). نتایج پژوهش‌های داخلی نیز حاکی از آن است که کم‌خونی فقر آهن پس از سوء تغذیه انرژی ـ پروتئین و اختلالات ناشی از کمبود ید، مهم‌ترین کمبود تغذیه‌ای در کشور است. با توجه به آمارهای منتشره، در حدود ۲۰ تا ۵۰ درصد از مادران باردار و ۵۰ درصد کل زنان کشور به کم‌خونی فقر آهن مبتلا هستند (۴).

تاکنون برای برطرف کردن فقر آهن سه راه حل، ارائه شده: اصلاح و تنوع رژیم غذایی، استفاده از مکمل و

Archive of SID
www.SID.ir

تقویت کردن مواد غذایی (افزودن ریزمغذی‌ها به غذاهای فرایند شده) که مورد اخیر بهترین و عملی‌ترین روش درازمدت برای جبران کمبودهای مواد مغذی است (۶، ۵). در میان مواد غذایی، شیر و فراورده‌های آن بیشتر از بقیه مواد مورد توجه قرار گرفته‌اند؛ زیرا به‌صورت گسترده توسط کودکان و گروه‌های در معرض خطر کم‌خونی، مصرف می‌شوند و ارزش تغذیه‌ای بالایی هم دارند (۸، ۷) ولی چون شیر آهن نسبتاً کمی (۰/۲ mg/kg) دارند (۹). بنابراین، منبع مناسبی برای تامین نیازهای تغذیه‌ای آهن نیست، ولی می‌توان آهن را به طریقی به آنها اضافه کرد و شیر را به یک غذای ایده‌آل تبدیل کرد که یکی از این راه‌ها تقویت کردن شیر با آهن است (۱۰).

در میان ترکیبات آهنِ مورد استفاده برای تقویت مواد غذایی، ترکیبات محلول در آب از جمله فروس سولفات، علاوه بر ارزان بودن، بیشترین زیست‌دسترسی را نیز دارند(۱۱). اما تقویت شیر به‌دلیل ایجاد طعم نامطلوب، تغییرات رنگ، ته‌نشینی و طعم فلزی که احتمالا مربوط به اکسایش چربی است کار چندان آسانی نیست (۱۲). بنابراین، شاید بتوان با ریزکپسوله کردن نمک‌های آهن، شیر تقویت شده‌ای با ویژگی‌های حسی مناسب و قابلیت جذب بالا تولید کرد.

ریزکپسوله کردن، فرایندی است که در آن به منظور ایجاد کپسول‌های کوچک با ویژگی‌های مفید، ذرات یا قطرات کوچک با ماده پوشش‌دهنده‌ای احاطه می‌شود (۱۳). بیش از ۶۰ سال است که از فرایند ریزکپسوله کردن در صنعت غذا استفاده می‌شود (۱۴). ریزکپسوله کردن با روش لیپوزومی و استرهای اسید چرب در مقایسه با روش‌های دیگر که در صنعت غذا مورد استفاده قرار می‌گیرند، مناسب‌تر است؛ زیرا اطلاعات خوبی از لیپوزوم‌ها موجود است، به راحتی قابل تهیه هستند، ویژگی‌های عملکردی یا انتقالی چندمنظوره بالایی دارند و از اجزای غذایی قابل قبول تهیه می‌شوند (۹، ۲). روش دیگر، ریزکپسوله کردن توسط استرهای اسید چرب است که کارایی و پایداری ریزکپسول‌های حاصله بیشتر از لیپوزم‌ها است.

تاکنون، پژوهش‌های زیادی در زمینه ریزکپسوله کردن نمک‌های آهن (۱۵، ۹، ۲) و همچنین زیست دسترسی آنها (۱۸- ۱۶، ۷) انجام شده است. از آنجا که شیوع کم‌خونی فقر آهن در کشورهای در حال توسعه، از جمله ایران بالاست و تاکنون در داخل کشور، کار مستندی برای تقویت شیر با آهن پوشش‌دار صورت نگرفته یا گزارش نشده است، در این پژوهش سعی شد نخست، ریزکپسول‌های فروس سولفات و فریک آمونیوم سولفات با دو روش لیپوزومی و استرهای اسید چرب تولید شوند؛ دوم کارایی آنها و عوامل موثر بر کارایی از جمله نسبت یون آهن به چربی و درصد Tween 80 در دیواره و نسبت پلی‌گلیسرول منو استئارات (PGMS) به نمک‌های آهن، مقایسه و بررسی شود و سوم شیر پاستوریزه با ریزکپسول‌های به دست آمده تقویت و میزان اکسایش چربی شیر، تغییر رنگ و ویژگی‌های حسی آن طی نگهداری، مورد مطالعه قرار گیرد.

• مواد و روش‌ها

مواد: شیر پاستوریزه کم‌چرب از شرکت لبنیات پاک، اسید آسکوربیک، تیوباربیتوریک اسید، اسید سیتریک، سیکلوهگزانون، Tween 60، Tween 80، اسید کلریدریک، هیدروکسید سدیم و دی اتیل اتر همگی از شرکت مواد شیمیایی مرک (Merck, Germany)، فروس سولفات ۷ آبه، سدیم فسفات دو آبه و فسفاتیدیل‌کولین از شرکت فلوکا (Fluka, Germany) ، فریک آمونیوم سولفات ۱۲ آبه و کلسترول از سیگما–آلدریچ (Sigma–Aldrich, Germany) ، سدیم استات از شرکت سیگما (Sigma, Germany) ، پلی گلیسرول منواستئارات (PGMS) از شرکت اولئون (Oleon, Belgium) تهیه شدند. آهن ریزکپسوله شده با روش لیپوزومی توسط Dr Paul Lohman به شکل اهدا در اختیار پژوهشگران قرار گرفت.

تولید ریزکپسول آهن با روش لیپوزومی: برای تهیه ریزکپسول آهن نخست ۱/۱۴g لسیتین و ۰/۰۶g کلسترول در ۳۰ml دی اتیل اتر حل شد. سپس ۱۰ml محلول بافر سیترات– فسفات حاوی نمک آهن و اسید آسکوربیک (نسبت وزنی نمک آهن به اسید آسکوربیک ۱:۱۵) به فاز آلی افزوده شد. محلول بافر، مخلوط ۴۰/۹ml از محلول سدیم دی فسفات

Archive of SID
www.SID.ir

دی بازیک ۰/۲ مولار، ۹/۱ml از محلول اسید سیتریک ۰/۱ مولار که با آب مقطر تا ۱۰۰ml رقیق شد و pH آن معادل ۶/۸ بود (۱۹). البته در این مرحله به منظور بررسی تاثیر نسبت یون آهن به فاز چربی، یون آهن در دو سطح ۰/۰۴ و ۰/۱ درصد وزنی نسبت به فاز چربی به مخلوط بالا اضافه شد و با استفاده از سونیکیتور میله‌ای (Dr.Hielscher مدل UP 400S با توان 300 W و بسامد 50–60 kHz ، ساخت آلمان) مخلوط به مدت ۷ دقیقه در شدت ۹۰٪ در حمام یخ همگن شد. سپس حلال آلی با استفاده از تبخیرکننده چرخشی (Heidolph مدل LR4001–Efficient ، ساخت آلمان) در فشار مطلق ۳۰۰ میلی‌بار و دمای ۷۰°C خارج و ژل تشکیل شده با ادامه تبخیر شکسته شد. به منظور بررسی تاثیر میزان Tween 80 دیواره لیپوزوم‌ها روی کارایی ریزکپسوله کردن، مقدار ۲۰ml محلول بافر سیترات– فسفات که حاوی مقادیر متفاوتی Tween 80 بود، افزوده شد. باقی‌مانده دی اتیل اتر تحت خلأ خارج شد. به این ترتیب، ریزکپسول‌های لیپوزومی حاوی مقادیر و انواع متفاوتی از آهن و غلظت‌های متفاوت Tween 80 تهیه شد که تا زمان افزوده شدن به شیر در شرایط یخچالی نگهداری شد (۲).

تولید ریزکپسول آهن با روش استرهای اسید چرب: ابتدا 5g پلی‌گلیسرول‌منواستئارات به ۵۰ml آب ۵۵°C اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه در آن دما حرارت داده شد. مخلوط حاصله به مدت ۲ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰ دور در دقیقه هم‌زده شد. آن‌گاه 1g نمک آهن و 0/06g اسید آسکوربیک (نسبت وزنی نمک آهن به اسید آسکوربیک ۱:۱۵) به آن افزوده شد. مخلوط حاصله به مدت ۱ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰ دور در دقیقه مخلوط شد. سپس دمای مخلوط به ۴۵°C رسانده شد و در پایان با استفاده از پیستوله برقی (W180P, Wagner Spray Tech., Markdorf، ساخت آلمان) مجهز به نازلی به قطر 0/4mm مخلوط داخل محلول Tween 60 ۰/۰۵٪ که دمای آن حدود ۵°C بود پاشیده شد. مخلوط نهایی به مدت ۲۰ دقیقه با شتاب g ۳۵۰۰ در دمای ۱۰°C سانتریفوژ شد(Kubota مدل ۶۹۰۰ ساخت ژاپن) و فاز چربی با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۴۰ از فاز آبی جدا شد. این فاز در واقع همان آهن ریزکپسوله شده بود که تا زمان استفاده در دمای یخچال نگهداری شد. در ضمن، نسبت‌های ۱:۳، ۱:۵، ۱:۱۰، ۱:۱۵، ۱:۲۰ و ۱:۲۵ به‌عنوان نسبت ماده پوشش‌دهنده به هسته، مورد بررسی قرار گرفتند. (۱۲، ۹).

محاسبه کارایی روش لیپوزومی: برای محاسبه آهن تام موجود در لیپوزوم‌های تهیه شده با روش لیپوزومی، مقدار مشخصی از لیپوزوم‌های به دست آمده، داخل بوته چینی ریخته شد و خاکستر آن در دمای ۵۵۰°C طی ۴ ساعت توسط کوره الکتریکی (Heraeus مدل M ۱۱۰ ساخت آلمان) تهیه شد. بعد از سفید شدن خاکستر، ۳ml اسید کلریدریک ۳ مولار به آن اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۰°C حرارت داده شد. سپس با آب دیونیزه، رقیق شد و میزان آهن تام لیپوزوم‌ها با استفاده از دستگاه جذب اتمی (Shimadzu مدل AA–670 ، ساخت ژاپن) در طول موج ۲۴۸/۳ نانومتر اندازه‌گیری شد.

برای محاسبه آهن ریزکپسوله شده با روش لیپوزومی هم نخست به منظور خارج کردن آهن‌های ریزکپسوله نشده، لیپوزوم‌های به دست آمده، به کیسه دیالیز (D0405,Sigma) منتقل شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴°C داخل آب دیونیزه نگهداری شد. مشخصات کیسه دیالیز مورد استفاده به این شرح بود: عرض 23mm، اندازه منافذ ۱۲۴۰۰ و درصد نگهداری ۹۹/۹۹٪. طی این مدت هر ۸ ساعت آب دیونیزه تعویض شد. سپس لیپوزوم‌های دیالیز شده به بوته چینی منتقل و میزان آهن آن پس از تهیه خاکستر طبق روش بالا تعیین شد. آن‌گاه با تقسیم میزان آهن کپسوله شده به آهن تام و ضرب عدد حاصل در ۱۰۰، درصد کارایی روش لیپوزومی در ریزکپسوله کردن آهن محاسبه شد.

محاسبه کارایی روش استرهای اسید چرب: برای محاسبه کارایی این روش، فاز آبی به دست آمده از مرحله قبل یک بار دیگر با شتاب g ۳۵۰۰ سانتریفوژ شد تا دو فاز، کاملاً از یکدیگر جدا شوند. سپس فاز چربی باقی‌ماندهٔ روی کاغذ صافی به فاز چربی قبلی اضافه شد. فاز آبی جداسازی شده، با آب مقطر رقیق شد و میزان آهن آن با استفاده از دستگاه جذب اتمی در طول موج ۲۴۸/۳ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای اطمینان بیشتر، مقدار آهن موجود

Archive of SID
www.SID.ir

در فاز چربی نیز به طور جداگانه طبق روش توضیح داده شده تعیین شد. سپس با محاسبه تفاضل مقدار آهن اولیه مورد استفاده با مقدار آهن اندازه‌گیری شده در فاز آبی، میزان آهن کپسوله شده در فاز چربی به دست آمد که با تقسیم این عدد به میزان آهن اولیه و ضرب کردن عدد حاصل در ۱۰۰، درصد کارایی ریزکپسوله کردن این روش محاسبه شد.

تهیه شیر تقویت شده با انواع آهن‌های ریزکپسوله شده: آهن‌های ریزکپسوله به دست آمده با روش‌های اشاره شده، به همراه آهن ریزکپسوله اهدایی دکتر *لومان* در ۴ سطح به طورجداگانه به شیر پاستوریزه اضافه شد تا غلظت نهایی یون آهن اضافه شده در آنها معادل ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ میلی‌گرم در لیتر باشد. شیرها بعد از افزودن ریزکپسول‌ها، با استفاده از مخلوط‌کن به آرامی هم‌زده شدند. برای افزودن آهن کپسوله نشده، هم ابتدا نمک‌های آهن و اسید آسکوربیک در آب حل شده و سپس مقادیر مشخصی از این محلول به نمونه‌های شیر افزوده شد. به طوری که غلظت نهایی یون آهن اضافه شده در آنها نیز معادل صفر، ۷، ۱۴ و ۲۱ میلی‌گرم در لیتر باشد. بدیهی است که نمونه تهیه شده در غلظت صفر میلی‌گرم در لیتر، همان نمونه شاهد یا شیر پاستوریزه معمولی است. سپس شیرهای تقویت شده با انواع آهن در یخچال (۴ ^{o}C) به مدت ۳ روز نگهداری شدند. در ضمن، شاخص‌هایی نظیر میزان پایداری ریزکپسول‌ها طی نگهداری، میزان شاخص‌های رنگ و ویژگی‌های حسی مطابق روش‌های زیر تعیین شدند.

پایداری ریزکپسول‌ها: پایداری ریزکپسول‌ها در روز اول (همان روز تهیه نمونه‌ها) و چهارم نگهداری در یخچال با استفاده از آزمون تیوباربیتوریک اسید (TBA) مورد بررسی قرار گرفت (۲۱، ۲۰، ۹). معرف TBA بلافاصله قبل از آزمایش تهیه شد (با مخلوط کردن حجم‌های مساوی از TBA ۰/۰۲۵ مولار تازه و خنثی شده با سود و اسید سیتریک ۲ مولار). سپس ۵ml شیر تقویت شده به فالکون ۵۰ میلی‌لیتری منتقل شد، به آن ۲/۵ml معرف TBA افزوده و کاملاً مخلوط شد. بلافاصله به‌مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش قرار داده شد و سپس در مخلوط آب و یخ خنک شد. در پایان، مقدار ۱۰ml سیکلوهگزانون و ۱ml سولفات آمونیوم ۴ مولار به آن اضافه شد و به مدت ۵ دقیقه با شتاب ۲۵۰۰ g سانتریفوژ شد. سپس فاز قرمز بالایی جدا شد و جذب آن در طول موج ۵۳۲ نانومتر با استفاده از طیف‌نورسنج (Scino مدل UVS–2100 ، ساخت کره) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری رنگ: رنگ نمونه‌ها با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج (Hunter Lab Colorflex ، ساخت آمریکا) ارزیابی شد. نمونه‌ها در بشقابک دستگاه ریخته شد تا ته ظرف کاملا پوشانده شود و سه شاخص L^*، a^* و b^* از روی صفحه نمایشگر دستگاه خوانده شد. در این روش، شاخص L^* عددی بین ۰ تا ۱۰۰ (نشان‌گر سیاهی تا سفیدی نمونه)، شاخص a^* عددی بین ۱۰۰ - تا ۱۰۰ + (+ : قرمز، - : سبز) و شاخص b^* عددی بین ۱۰۰- تا ۱۰۰+ (+: زرد، - : آبی) بود.

ارزیابی حسی: به منظور ارزیابی ویژگی‌های حسی نمونه‌های تقویت شده با انواع نمک‌های آهن ریزکپسوله شده و ریزکپسوله نشده از ۷ ارزیاب آموزش دیده کمک گرفته شد. از ارزیاب‌ها خواسته شد نمونه‌های شیر تقویت شده با انواع مختلف آهن را که کدگذاری شده بودند از نظر شدت طعم فلزی، گسی، تلخی، رنگ ظاهری و بو در ۴ سطح (هیچ، کم، متوسط، زیاد) مورد آزمون چشایی قرار دهند و نظرات خود را در برگه نظرخواهی مربوطه ثبت کنند. در ضمن، از آنها خواسته شد تا در حد فاصل بین نمونه‌ها از آب معدنی خنک جهت شست‌وشوی دهان استفاده نمایند (۲۲).

تجزیه و تحلیل آماری: طرح آماری مورد استفاده، طرح فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی بود. داده‌های به دست آمده با استفاده از آزمون تجزیه واریانس (ANOVA) با برنامه $SPSS_{13}$ تجزیه و تحلیل شد. برای تعیین اختلاف میان مقادیر میانگین‌ها و مقایسه آنها، آزمون چند دامنه‌ای دانکن به کار رفت. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده شد. همه آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند.

Archive of SID

www.SID.ir

• یافته‌ها

کارایی فرایندهای ریزکپسوله کردن: اثر افزایش یا کاهش نسبت وزنی یون آهن به چربی و میزان ماده فعال سطحی (Tween 80) در دیواره لیپوزوم‌ها روی کارایی ریزکپسوله کردن در جدول ۱ نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، با کاهش درصد Tween 80 دیواره لیپوزوم‌ها و نسبت وزنی یون آهن به چربی، کارایی افزایش یافت. و بیشترین میزان کارایی (۸۵ درصد) با نسبت وزنی ۰/۰۴ و غلظت ۵ درصد مولی Tween 80 به دست آمد.

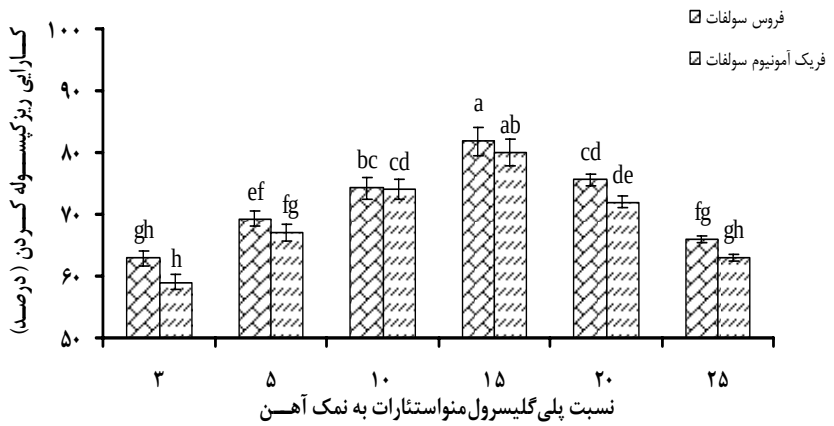
در زمینه کارایی روش استرهای اسید چرب نیز (شکل ۱) با افزایش نسبت پلی‌گلیسرول‌منواستئارات به نمک آهن، میزان کارایی ریزکپسوله کردن تا حدود مشخص (۱:۱۵) به‌صورت خطی افزایش یافت. بعد از این نتیجه افزایش نسبت پلی‌گلیسرول‌منواستئارات به نمک آهن، سبب کاهش کارایی ریزکپسوله کردن شد. در ضمن، بالاترین درصد کارایی ریزکپسوله کردن (۸۱/۸ درصد) در نسبت ۱:۱۵ پلی‌گلیسرول‌منواستئارات به نمک آهن حاصل شد.

براساس یافته‌های این بررسی، نوع نمک آهن مورد استفاده (فروس سولفات، فریک آمونیوم سولفات) و روش ریزکپسوله کردن تاثیر قابل توجهی بر کارایی نداشتند ($p>0/05$). بنابراین، به‌منظور انتخاب روش مناسب ریزکپسوله کردن، باید سایر ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی، پایداری ریزکپسول‌ها طی نگهداری و ویژگی‌های حسی شیرهای تقویت شده با ریزکپسول‌های به دست آمده از دو روش نیز بررسی می‌شوند که نتایج آنها در بخش‌های بعدی آورده شده است.

جدول ۱- نمایش تأثیر تغییر نسبت وزنی آهن و غلظت مولی Tween 80 دیواره لیپوزوم روی کارایی ریزکپسوله کردن لیپوزومی

غلظت مولی Tween 80 در دیواره (درصد)	نسبت یون آهن به چربی (وزنی / وزنی)	کارایی ریزکپسوله کردن (درصد)	
		فروس سولفات	فریک آمونیوم سولفات
۱۰	۰/۱۰	۶۹/۲^{e}	۶۶/۰^{e}
۱۰	۰/۰۴	۷۷/۳^{cd}	۷۴/۲^{d}
۵	۰/۱۰	۸۰/۴^{bc}	۷۷/۱^{cd}
۵	۰/۰۴	۸۵/۵^{a}	۸۲/۱^{ab}

حروف مختلف، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵٪ است ($p<0/05$)



شکل ۱- مقایسه تاثیر نسبت‌های مختلف پلی‌گلیسرول‌منواستئارات به نمک آهن بر کارایی ریزکپسوله کردن با روش استرهای اسید چرب

(حروف مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵٪ است ($p<0/05$))

Archive of SID

www.SID.ir

پایداری ریزکپسول‌ها: برای بررسی میزان پایداری و توانایی ریزکپسول‌ها در حفظ و نگهداری آهن کپسوله شده طی نگهداری فراوردهٔ تقویت شده از شاخص TBA به‌عنوان شاخص اکسایش شیمیایی چربی شیر استفاده شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل سه‌گانه غلظت یون آهن، روش تقویت کردن و زمان نگهداری در سطح ۹۹٪ معنی‌دار است. بنابراین، مقایسه میانگین اثر متقابل سه متغیر توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. نتایج نشان داد (جدول ۲) که در روز اول نگهداری، در شیرهای تقویت شده با آهن کپسوله نشده، با افزایش غلظت یون آهن افزوده شده از ۷ تا ۲۱ میلی‌گرم در لیتر، شاخص TBA به‌صورت معنی‌دار افزایش یافت ($p<۰/۰۱$). درحالی‌که این روند در نمونه‌های تقویت شده با آهن ریزکپسوله شده با روش‌های مختلف مشاهده نشد. ولی در روز چهارم نگهداری، در همه نمونه‌ها با افزایش غلظت یون آهن افزوده شده، میزان جذب، افزایش معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۱$). در ضمن، با افزایش غلظت، میزان افزایش جذب در نمونه‌های تقویت شده با آهن کپسوله نشده بسیار بیشتر از نمونه‌های تقویت شده با آهن کپسوله شده بود. این تفاوت توانایی استفاده از آهن ریزکپسوله شده در غلظت‌های بالا را نشان می‌دهد. همچنین، در روز اول، در هر سه غلظت، میزان جذب در نمونه‌های حاوی انواع آهن ریزکپسوله شده با یکدیگر و با شاهد، اختلاف معنی‌داری نداشت و فقط شیرهای تقویت شده با آهن کپسوله نشده با سایر نمونه‌ها و شاهد، اختلاف معنی‌دار داشتند ($p<۰/۰۱$). ولی در روز چهارم، همه نمونه‌های تقویت شده با یک‌دیگر و با شاهد، اختلاف معنی‌دار داشتند و فقط نمونه‌های تقویت شده با ریزکپسول‌های به دست آمده با روش استرهای اسید چرب و لیپوزوم صنعتی در غلظت ۷mg/L با هم اختلاف معنی‌دار نداشتند. بیشترین و کمترین میزان جذب نیز در روزهای اول و چهارم نگهداری به ترتیب مربوط به نمونه تقویت شده با آهن کپسوله نشده در غلظت ۲۱mg/L و نمونه‌های تقویت شده با لیپوزوم صنعتی و ریزکپسول‌های به دست آمده از روش استرهای اسید چرب در غلظت ۷ mg/L بود که نزدیک‌ترین نمونه‌ها از نظر شاخص TBA به نمونه شاهد بودند (جدول ۲). در همه شیرهای تیمار شده با انواع آهن کپسوله شده، میزان جذب در روز چهارم نسبت به روز اول در غلظت‌های مختلف به طور متوسط ۲ تا ۲/۵ برابر بیشتر شده بود در حالی‌که در نمونه‌های تقویت شده، با آهن کپسوله نشده ۳ تا ۴/۵ برابر بود. به‌طور خلاصه می‌توان میزان اکسایش شیمیایی چربی شیر را در شیرهای تقویت شده به صورت زیر خلاصه کرد:

تقویت شده با آهن کپسوله نشده > تقویت شده با ریزکپسول‌های لیپوزومی > تقویت شده با ریزکپسول‌های استرهای اسید چرب > تقویت شده با لیپوزوم صنعتی > شاهد.

درضمن، طی مدت نگهداری، میزان جذب کلیه نمونه‌های تقویت شده با انواع نمک‌های آهن کپسوله نشده و کپسوله شده با روش‌های مختلف، در همه غلظت‌ها، به‌صورت معنی‌دار افزایش یافت ($p<۰/۰۱$).

جدول ۲- مقایسه تأثیر افزودن انواع مختلف نمک‌های آهن کپسوله شده و کپسوله نشده روی شاخص تیوباربیتوریک اسید (میزان جذب در ۵۳۲ نانومتر) شیر پاستوریزه کم‌چرب نگهداری شده در دمای ۴°C

نمک آهن	غلظت یون آهن(ppm)	زمان نگهداری (روز)							
		روز اول				روز چهارم			
		کپسوله نشده	لیپوزوم	استرهای اسید چرب	صنعتی	کپسوله نشده	لیپوزوم	استرهای اسید چرب	صنعتی
شاهد	۰	۰/۰۱۶۳ ^{p}	۰/۰۱۶۳ ^{p}	۰/۰۱۶۳ ^{p}	۰/۰۱۶۳ ^{p}	۰/۰۲۳۵ ^{l}	۰/۰۲۳۵ ^{l}	۰/۰۲۳۵ ^{l}	۰/۰۲۳۵ ^{l}
فروس سولفات	۷	۰/۰۱۷۴ ^{o}	۰/۰۱۶۵ ^{p}	۰/۰۱۶۴ ^{p}	۰/۰۱۶۴ ^{p}	۰/۰۵۱۴ ^{c}	۰/۰۳۸۸ ^{h}	۰/۰۳۱۲ ^{k}	۰/۰۳۰۶ ^{k}
	۱۴	۰/۰۲۰۳ ^{n}	۰/۰۱۶۷ ^{p}	۰/۰۱۶۷ ^{p}	۰/۰۱۶۶ ^{p}	۰/۰۷۱۵ ^{b}	۰/۰۴۱۴ ^{e}	۰۴/۰۳۵ ^{i}	۰/۰۳۳۷ ^{j}
	۲۱	۰/۰۲۱۳ ^{m}	۰/۰۱۶۹ ^{p}	۰/۰۱۶۶ ^{p}	۰/۰۱۶۷ ^{p}	۰/۰۹ ^{a}	۰/۰۴۴۳ ^{d}	۰/۰۴۰۳ ^{f}	۰/۰۳۹۲ ^{g}
فریک آمونیوم سولفات	۰	۰/۰۱۶۳ ^{p}	۰/۰۱۶۳ ^{p}	۰/۰۱۶۳ ^{p}		۰/۰۲۳۵ ^{l}	۰/۰۲۳۵ ^{l}	۰/۰۲۳۵ ^{l}	
	۷	۰/۰۱۷۷ ^{p}	۰/۰۱۶۵ ^{p}	۰/۰۱۶۴ ^{p}		۰/۰۵۱۴ ^{c}	۰/۰۳۸۸ ^{h}	۰/۰۳۱۲ ^{k}	
	۱۴	۰/۰۲۰۳ ^{n}	۰/۰۱۶۷ ^{p}	۰/۰۱۶۴ ^{p}		۰/۰۷۱۵ ^{b}	۰/۰۴۱۴ ^{e}	۰/۰۳۵۴ ^{i}	
	۲۱	۰/۰۲۱۰ ^{m}	۰/۰۱۶۹ ^{p}	۰/۰۱۶۷ ^{p}		۰/۰۹ ^{a}	۰/۰۴۴۳ ^{d}	۰/۰۴۰۳ ^{f}	

حروف مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح۹۹٪ است ($p<۰/۰۱$)

Archive of SID
www.SID.ir

ارزیابی برخی ویژگی‌های حسی: ویژگی‌های حسی شیرهای پاستوریزهٔ تقویت شده با آهن کپسوله شده و کپسوله نشده طی ۳ روز نگهداری در دمای ۴ °C ارزیابی شد (جدول ۳). نتایج به دست آمده نشان داد که نمونه‌ها از نظر برخی ویژگی‌ها نظیر تلخی، گسی و رنگ ظاهری با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند ($p>۰/۰۵$). ولی از نظر بو و طعم فلزی، اختلاف آنها با یکدیگر معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$) به طوری‌که شیرهای حاوی آهن کپسوله نشده در روزهای اول و چهارم، از نظر طعم فلزی در هر سه غلظت، نسبت به هم و شاهد، اختلاف معنی‌دار داشتند ($p<۰/۰۵$). در صورتی که از نظر بو در غلظت‌های ۷ و ۱۴ میلی‌گرم در لیتر با هم و با شاهد، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین، طی دوره نگهداری، تغییرات ایجاد شده در طعم فلزی در هر ۳ غلظت دارای اختلاف معنی‌داری بود، ولی از نظر بو، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. شیرهای حاوی ریزکپسول‌های تهیه شده با روش لیپوزومی در روزهای اول و چهارم نگهداری، از نظر بو و طعم فلزی در هر سه غلظت، با هم و با شاهد، اختلاف معنی‌دار داشتند ($p<۰/۰۵$) و تغییرات ایجاد شده در طعم در هر سه غلظت و در بو در غلظت‌های ۱۴ و ۲۱ میلی‌گرم در لیتر معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$).

جدول ۳- نتایج تأثیر نوع نمک، روش تهیه و غلظت یون آهن و مدت زمان نگهداری در دمای ۴°C بر ویژگی‌های حسی شیرهای پاستوریزه تقویت شده

روش تهیه آهن	نوع نمک آهن	غلظت یون آهن(ppm)	ویژگی‌های حسی									
			روز اول					روز چهارم				
			طعم فلزی	تلخی	گسی	بو	رنگ ظاهری	طعم فلزی	تلخی	گسی	بو	رنگ ظاهری
	شاهد	۰	۱^{p}	۱^{a}	۱^{a}	۱^{i}	۱^{a}	۱^{p}	۱^{a}	۱^{a}	۱^{i}	۱^{a}
		۷	$۱/۵^{n}$	۱^{a}	۱^{a}	$۱/۲^{ef}$	۱^{a}	$۱/۶^{m}$	۱^{a}	۱^{a}	$۱/۲^{efg}$	۱^{a}
	سولفات آهن	۱۴	$۲/۳^{h}$	۱^{a}	۱^{a}	$۱/۴^{d}$	۱^{a}	$۲/۵^{g}$	۱^{a}	۱^{a}	$۱/۵^{c}$	۱^{a}
		۲۱	$۲/۷^{ef}$	۱^{a}	۱^{a}	$۱/۵^{bc}$	۱^{a}	$۲/۹^{d}$	۱^{a}	۱^{a}	$۱/۷^{a}$	۱^{a}
لیپوزومی		۷	$۱/۴^{n}$	۱^{a}	۱^{a}	$۱/۲^{efg}$	۱^{a}	$۱/۶^{m}$	۱^{a}	۱^{a}	$۱/۳^{ef}$	۱^{a}
	فریک آمونیوم	۱۴	$۲/۲^{h}$	۱^{a}	۱^{a}	$۱/۳^{de}$	۱^{a}	$۲/۴^{g}$	۱^{a}	۱^{a}	$۱/۵^{c}$	۱^{a}
	سولفات	۲۱	$۲/۶^{f}$	۱^{a}	۱^{a}	$۱/۶^{b}$	۱^{a}	$۲/۸^{de}$	۱^{a}	۱^{a}	$۱/۷^{a}$	۱^{a}
		۷	$۱/۹^{k}$	۱^{a}	۱^{a}	۱^{hi}	۱^{a}	$۲/۲^{h}$	۱^{a}	۱^{a}	۱^{i}	۱^{a}
	سولفات آهن	۱۴	$۲/۹^{d}$	۱^{a}	۱^{a}	۱^{hi}	۱^{a}	$۳/۴^{c}$	۱^{a}	۱^{a}	۱^{hi}	۱^{a}
کپسوله نشده		۲۱	$۳/۹^{b}$	۱^{a}	۱^{a}	$۱/۲^{efg}$	۱^{a}	۴^{a}	۱^{a}	۱^{a}	$۱/۲^{fg}$	۱^{a}
		۷	۲^{k}	۱^{a}	۱^{a}	۱^{i}	۱^{a}	$۲/۳^{h}$	۱^{a}	۱^{a}	۱^{i}	۱^{a}
	فریک آمونیوم	۱۴	۳^{d}	۱^{a}	۱^{a}	$۱/۱^{hi}$	۱^{a}	$۳/۵^{c}$	۱^{a}	۱^{a}	$۱/۱^{hi}$	۱^{a}
	سولفات	۲۱	$۳/۸^{b}$	۱^{a}	۱^{a}	$۱/۲^{efg}$	۱^{a}	$۴/۱^{a}$	۱^{a}	۱^{a}	$۱/۲^{efg}$	۱^{a}
		۷	۱^{p}	۱^{a}	۱^{a}	۱^{i}	۱^{a}	۱^{p}	۱^{a}	۱^{a}	۱^{i}	۱^{a}
	سولفات آهن	۱۴	$۱/۱^{op}$	۱^{a}	۱^{a}	۱^{i}	۱^{a}	$۱/۵^{n}$	۱^{a}	۱^{a}	۱^{i}	۱^{a}
استرهای اسید چرب		۲۱	$۱/۸^{kl}$	۱^{a}	۱^{a}	$۱/۱^{hi}$	۱^{a}	$۲/۳^{h}$	۱^{a}	۱^{a}	$۱/۱^{hi}$	۱^{a}
		۷	۱^{p}	۱^{a}	۱^{a}	۱^{i}	۱^{a}	۱^{p}	۱^{a}	۱^{a}	۱^{i}	۱^{a}
	فریک آمونیوم	۱۴	$۱/۲^{op}$	۱^{a}	۱^{a}	۱^{i}	۱^{a}	$۱/۵^{n}$	۱^{a}	۱^{a}	۱^{i}	۱^{a}
	سولفات	۲۱	$۱/۹^{k}$	۱^{a}	۱^{a}	۱^{hi}	۱^{a}	$۲/۲^{h}$	۱^{a}	۱^{a}	$۱/۱^{hi}$	۱^{a}
		۷	۱^{p}	۱^{a}	۱^{a}	۱^{i}	۱^{a}	۱^{p}	۱^{a}	۱^{a}	۱^{i}	۱^{a}
صنعتی	سولفات آهن	۱۴	۱^{p}	۱^{a}	۱^{a}	۱^{i}	۱^{a}	$۱/۲^{o}$	۱^{a}	۱^{a}	۱^{i}	۱^{a}
		۲۱	$۱/۵^{n}$	۱^{a}	۱^{a}	۱^{i}	۱^{a}	$۱/۷^{lm}$	۱^{a}	۱^{a}	۱^{i}	۱^{a}

حروف مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵٪ است ($p<۰/۰۵$)

Archive of SID

www.SID.ir

شیرهای حاوی ریزکپسول‌های به دست آمده از روش استرهای اسید چرب در روزهای اول و چهارم در هر سه غلظت، از نظر بو، با هم و با شاهد، اختلاف معنی‌داری نداشتند (p<۰/۰۵). در ضمن، در روز اول از نظر طعم فلزی در غلظت‌های ۷ و ۱۴ میلی‌گرم در لیتر و در روز چهارم در غلظت ۷ mg/L با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشتند، ولی تغییرات ایجاد شده در طعم طی نگهداری در غلظت‌های ۱۴ و ۲۱ میلی‌گرم در لیتر معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). شیرهای تقویت شده با لیپوزوم صنعتی نیز در روزهای اول و چهارم در ۴ °C در هر سه غلظت از نظر بو، با یکدیگر و با شاهد، اختلاف معنی‌داری نشان ندادند. از نظر طعم فلزی، در روز اول در غلظت ۲۱ mg/L و در روز چهارم در غلظت‌های ۱۴ و ۲۱ میلی‌گرم در لیتر با شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند (p<۰/۰۵).

به‌علاوه، نوع نمک آهن استفاده شده برای کپسوله کردن، تأثیری روی طعم فلزی و بو نداشت. بهترین نمونه‌ها از نظر ویژگی‌های حسی، شیرهای تقویت شده با ریزکپسول‌های به دست آمده از روش استرهای اسید چرب و لیپوزوم صنعتی به‌خصوص در غلظت ۷ mg/L بودند که اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشتند و بدترین نمونه‌ها از نظر طعم فلزی، شیرهای تقویت شده با آهن کپسوله نشده و از نظر بو، شیرهای تقویت شده با ریزکپسول‌های تهیه شده با روش لیپوزومی بود.

ارزیابی شاخص شدت روشنایی-تاریکی (L^*): با توجه به نتایج تجزیه واریانس مشخص شد که اثر متقابل چهار متغیر در سطح ۹۹٪ معنی‌دار بود. برای بررسی آن از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. با توجه به نتایج ارائه شده در جدول ۴ مشاهده می‌شود که در روزهای اول و چهارم نگهداری با افزایش غلظت یون آهن در تمام نمونه‌های تقویت شده با نمک‌های آهن کپسوله شده و کپسوله نشده، شاخص روشنی و تاریکی (L^*) به‌صورت معنی‌دار (p<۰/۰۱) کاهش یافت. همچنین، طی چهار روز نگهداری، شاخص روشنی و تاریکی (L^*) در هر سه غلظت و در تمام نمونه‌های تقویت شده و نمونه شاهد در مقایسه با روز اول به‌صورت معنی‌دار (p<۰/۰۱) افزایش و روشنایی نمونه‌ها نیز افزایش یافت. در ضمن، اکثر نمونه‌های تقویت شده با آهن کپسوله شده و کپسوله نشده، با شاهد و با یکدیگر، اختلاف معنی‌داری داشتند (p<۰/۰۱). تفاوت قابل ملاحظه‌ای در میزان شاخص روشنی و تاریکی (L^*) نمونه‌های حاوی نمک‌های آهن ریزکپسوله شده با روش‌های استرهای اسید چرب و لیپوزوم صنعتی در مقایسه با نمونه‌های حاوی نمک‌های آهن ریزکپسوله شده با روش لیپوزومی و کپسوله نشده مشاهده شد. نمونه‌های تقویت شده با نمک‌های آهن ریزکپسوله شده با روش لیپوزومی و آهن کپسوله نشده، اختلاف معنی‌داری نداشتند (p<۰/۰۱).

جدول ۴- اثر متقابل روش تهیه آهن، زمان نگهداری، نوع نمک آهن و غلظت یون آهن روی شاخص L^* شیرهای پاستوریزه تقویت شده

نمک آهن	غلظت یون آهن (ppm)	شاخص شدت روشنایی- تاریکی (L^*)							
		روز اول				روز چهارم			
		کپسوله نشده	لیپوزوم	استرهای اسید چرب	صنعتی	کپسوله نشده	لیپوزوم	استرهای اسید چرب	صنعتی
سولفات فروس	۰	^{hi}۹۳/۳۶	^{hi}۹۳/۳۶	^{hi}۹۳/۳۶	^{hi}۹۳/۳۶	^{efg}۹۳/۵	^{efg}۹۳/۵	^{efg}۹۳/۵	^{efg}۹۳/۵
	۷	^{lm}۹۳/۲۲	^{lm}۹۳/۱۹	^{kl}۹۳/۲۴	^{jk}۹۳/۲۷	^{b}۹۳/۶۱	^{bcd}۹۳/۵۶	^{a}۹۳/۶۸	^{a}۹۳/۷
	۱۴	^{opq}۹۲/۹۶	^{o}۹۲/۹۹	^{n}۹۳/۱۲	^{m}۹۳/۱۸	^{gh}۹۳/۴۱	^{fg} ۹۳/۴۶	^{cde}۹۳/۵۴	^{bc}۹۳/۵۸
	۲۱	st۹۲/۸۵	st۹۲/۸۵	^{opq}۹۲/۹۶	^{o}۹۳/۰۱	^{ij}۹۳/۲۲	^{jk}۹۳/۲۹	^{hi}۹۳/۳۷	^{hi}۹۳/۳۷
فریک آمونیوم سولفات	۰	^{hi}۹۳/۳۶	^{hi}۹۳/۳۶	^{hi}۹۳/۳۶		^{efg}۹۳/۵	^{efg}۹۳/۵	^{efg}۹۳/۵	
	۷	^{op}۹۲/۹۸	^{n}۹۳/۱	^{h}۹۳/۳۹		^{cde}۹۳/۵۵	^{def}۹۳/۵۲	^{a}۹۳/۷	
	۱۴	^{rs}۹۲/۸۸	^{qr}۹۲/۹۱	^{n}۹۳/۰۸		^{ij}۹۳/۳۱	^{gh}۹۳/۴	^{bc}۹۳/۵۹	
	۲۱	^{t}۹۲/۷۹	^{t}۹۲/۸۲	^{pqr}۹۲/۹۳		^{lm}۹۳/۱۹	^{lm}۹۳/۲	^{gh}۹۳/۴۱	

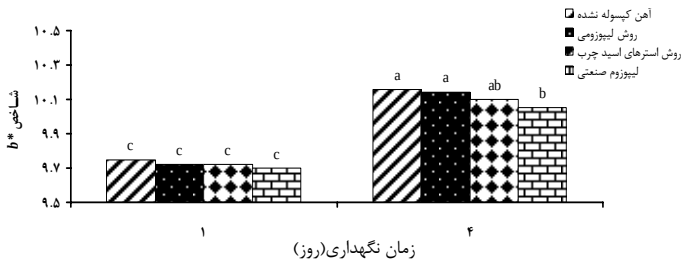
حروف مختلف، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۹٪ است (p<۰/۰۱)

Archive of SID

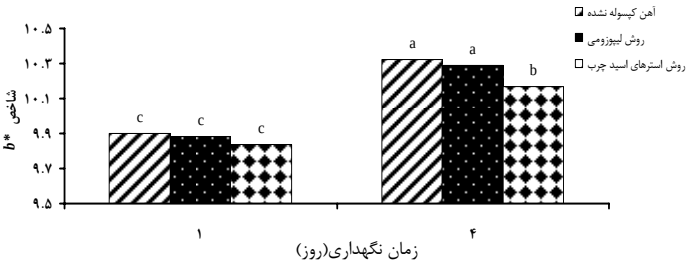
www.SID.ir

ارزیابی شاخص شدت زردی-آبی (*b):** بر اساس نتایج تجزیه اثرات متقابل دوگانه غلظت یون آهن و زمان نگهداری، زمان نگهداری و روش تهیه آهن، نوع نمک و روش تهیه آهن در سطح ۹۹٪ معنی‌دار شدند.

اثر متقابل روش تهیه آهن و زمان نگهداری: مطابق داده‌های شکل ۲ در روز اول نگهداری اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌های تقویت شده با سولفات آهن و فریک آمونیوم سولفات کپسوله شده و کپسوله نشده مشاهده نشد، درحالی‌که در روز چهارم نگهداری، هرچند نمونه‌های تقویت شده با سولفات آهن و فریک آمونیوم سولفات کپسوله نشده و ریزکپسول‌های به دست آمده از روش لیپوزومی با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند (شکل‌های ۲- الف و ب) ولی اختلاف بین نمونه‌های تقویت شده با لیپوزوم صنعتی و نمونه‌های تقویت شده با آهن کپسوله نشده و ریزکپسول‌های به دست آمده از روش لیپوزومی معنی‌دار بود ($p<0/01$). با توجه به نتایج ارائه شده مشاهده می‌شود که شاخص *b** در تمام نمونه‌های تقویت شده طی ۳ روز نگهداری به صورت معنی‌دار افزایش یافت ($p<0/01$).



الف)



ب)

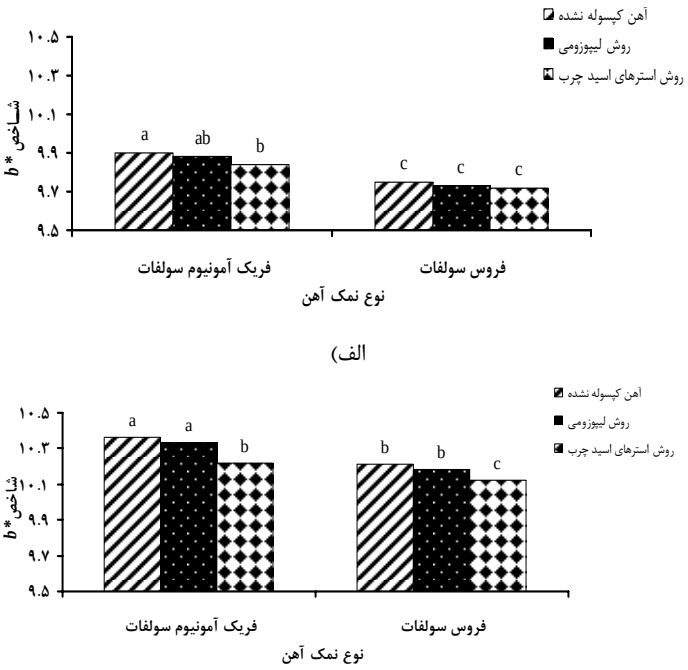
شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل روش تهیه آهن در سطوح زمان نگهداری در ۴°C بر شاخص b^* در نمونه‌های تقویت شده با الف) سولفات آهن، ب) فریک آمونیوم سولفات ($p<0/01$)

اثر متقابل روش تهیه آهن و نوع نمک آهن: مطابق یافته‌های این بررسی در روز اول نگهداری بین نمونه‌های تقویت شده با فروس سولفات کپسوله نشده و کپسوله شده با روش‌های مختلف، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۳ -الف). در حالی که در نمونه‌های تقویت شده با فریک آمونیوم سولفات، بین نمونه‌های تقویت شده با فریک آمونیوم سولفات کپسوله نشده و کپسوله شده با روش استرهای اسید چرب، اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p<0/01$). در ضمن، شاخص *b** نمونه‌های تقویت‌شده با فریک آمونیوم سولفات کپسوله نشده و کپسوله شده نسبت به نمونه‌های تقویت‌شده با فروس سولفات کپسوله نشده و کپسوله شده، به طور معنی‌داری بیشتر بود ($p<0/01$). احتمالا یکی از علل بروز این تغییر، رنگ متمایل به زرد نمک فریک آمونیوم سولفات است. با توجه به نتایج ارائه شده در شکل ۳- ب مشاهده می‌شود که در روز چهارم نگهداری نمونه‌های تقویت شده با سولفات آهن، نمونه‌های تقویت شده با آهن کپسوله نشده با نمونه‌های تقویت شده با ریزکپسول‌های به دست آمده از روش استرهای اسید چرب اختلاف معنی‌دار داشتند ($p<0/01$). در نمونه‌های تقویت شده با فریک آمونیوم سولفات نیز نمونه‌های تقویت شده با آهن کپسوله نشده و کپسوله شده با روش لیپوزومی اختلافی مشاهده نشد، درحالی‌که هر دوی آنها با نمونه‌های تقویت شده با ریزکپسول‌های به دست آمده از روش استرهای اسید چرب اختلاف معنی‌دار داشتند ($p<0/01$). همچنین، در روز چهارم نگهداری نیز شاخص *b** نمونه‌های تقویت‌شده با فریک آمونیوم سولفات کپسوله نشده و کپسوله شده نسبت به نمونه‌های تقویت‌شده با فروس سولفات کپسوله نشده و کپسوله شده به طور معنی‌داری بیشتر بود ($p<0/01$).

ارزیابی شاخص شدت قرمزی- سبزی (a^*): با توجه به نتایج حاصل از تجزیه واریانس مشاهده شد که اثرات متقابل دوگانه روش تهیه آهن و غلظت یون آهن در سطح ۹۹٪ و روش تهیه آهن و زمان نگهداری در سطح ۹۵٪ معنی‌دار است. به منظور بررسی اثرات متقابل از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

Archive of SID

www.SID.ir

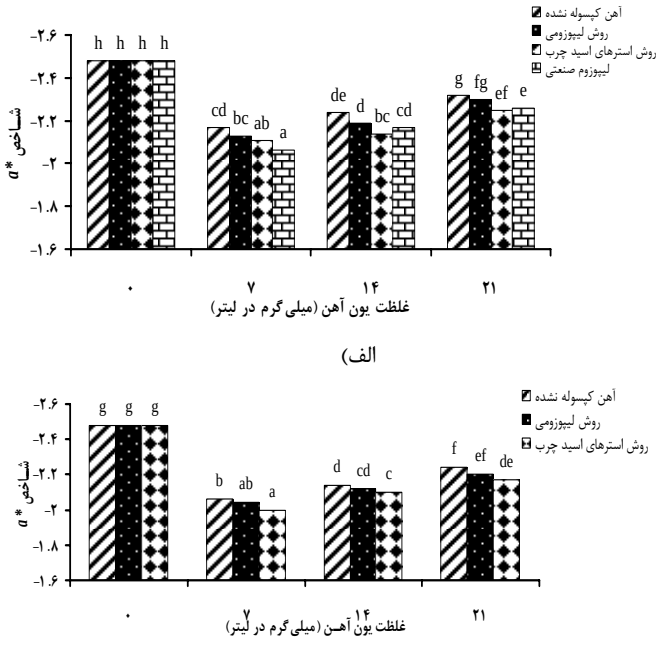


شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل روش تهیه آهن و نوع نمک آهن بر شاخص b^* در نمونه‌های تقویت شده در روز الف) اول ،ب) چهارم نگهداری در دمای ۴°C ($p<۰/۰۱$).

اثر متقابل روش تهیه آهن و غلظت نمک: همان‌گونه که در شکل‌های ۴- الف و ب مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت نمک آهن شاخص a^* به صورت معنی‌دار کاهش یافت ($p<۰/۰۱$). در ضمن، شاخص a^* تمام نمونه‌های تقویت شده با نمونه شاهد، اختلاف معنی‌داری داشتند ($p<۰/۰۱$).

اثر متقابل روش تهیه آهن و زمان نگهداری: در روز اول نگهداری، اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌های تقویت شده با فروس سولفات کپسوله نشده با سایر نمونه‌ها وجود داشت. در روز چهارم نگهداری، اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌های تقویت شده با ریزکپسول‌های آهن دیده نشد، ولی اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌های تقویت شده با فروس سولفات کپسوله نشده و کپسوله شده با روش استرهای اسید چرب و لیپوزوم صنعتی مشاهده شد ($p<۰/۰۵$).

در روز اول نگهداری، بین نمونه‌های تقویت شده با فریک آمونیوم سولفات ریزکپسوله نشده و ریزکپسوله شده اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، درحالی‌که در روز چهارم نگهداری، اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌های تقویت شده با فریک آمونیوم سولفات کپسوله نشده و کپسوله شده با روش استرهای اسید چرب مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). در ضمن، طی نگهداری، شاخص a^* در تمام نمونه‌های تقویت شده با فروس سولفات و فریک آمونیوم سولفات و نمونه شاهد افزایش معنی‌دار داشت ($p<۰/۰۵$).



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل روش تهیه آهن و غلظت یون آهن بر شاخص a^* در نمونه‌های تقویت شده با الف) فروس سولفات، ب) فریک آمونیوم سولفات ($p<۰/۰۱$).

• بحث

کارایی ریزکپسوله کردن: همان گونه که قبلا گفته شد، در روش لیپوزومی کارایی با کاهش درصد Tween 80 و نسبت وزنی یون آهن به چربی افزایش یافت. احتمالا دلیل وجود ارتباط معکوس بین نسبت یون آهن به چربی با میزان کارایی ریزکپسوله کردن را می‌توان به ظرفیت محدود و مشخص مجموعه فاز چربی و بافر سیترات– فسفات برای ایجاد برهم‌کنش و کیلیت کردن chelate مقدار معینی از یون‌های آهن نسبت داد. البته *Xia* و *XU* هم علت این امر را به تاثیر قدرت یونی بالای نمک آهن روی ویژگی‌های بار الکتریکی لیپوزوم‌ها ربط داده‌اند (۲). در ضمن، بیشترین کارایی به دست آمده در بررسی آنها حدود ۶۷٪ در نسبت وزنی ۰/۰۴ و Tween 80 حدود ۱۰٪ گزارش شد در حالی

Archive of SID
www.SID.ir

که در بررسی حاضر، میزان کارایی در شرایط نسبت یونی ۰/۰۴ درصد و غلظت مولی حدود ۵ درصد بود که به مراتب بیشتر از تنها گزارش موجود در این زمینه است.

دلیل احتمالی دیگر برای وجود این ارتباط معکوس می‌تواند به کلسترول مربوط باشد. زیرا کلسترول موجب بهبود پایداری غشای لیپوزوم می‌شود و روانی و نفوذپذیری ساختار دولایه (bilayer) لیپوزوم را کاهش می‌دهد (۲). در زمینه رابطه معکوس بین درصد Tween 80 دیواره لیپوزوم‌ها با میزان کارایی ریزکپسوله کردن می‌توان گفت که بیشتر مواد پاک‌کننده و مواد فعال سطحی دیگر مانند Tween 80 می‌توانند در شرایط خاصی، لیپوزوم‌ها را بی‌ثبات کنند (۲۳) به طوری‌که در غلظت‌های بالا به دلیل رسیدن به غلظت بحرانی میسلی شدن، سبب انحلال لیپوزوم‌ها و در نتیجه، کاهش میزان کارایی می‌شوند (۲، ۲۳).

درباره افزایش کارایی روش استرهای اسید چرب با افزایش نسبت پلی‌گلیسرول منواستئارات به نمک آهن تا نسبت ۱:۱۵ می‌توان گفت که پلی‌گلیسرول‌منواستئارات، حاوی مقادیر متنابهی منو، دی، تری و ...گلیسرول در ساختار خود است و میزان این ترکیبات، با تعداد جایگاه‌های شیمیایی با بار منفی برای ایجاد پیوند الکترواستاتیک با یون‌های مثبت آهن بستگی مستقیم دارد. به همین دلیل، وزن مشخصی از این ترکیب قادر به جذب مقدار معینی از یون‌ها است و با افزایش یون‌ها از حد معین، کارایی کپسوله کردن به دلیل عدم ورود یون‌ها در ساختار پلی‌گلیسرول‌منواستئارات کاهش می‌یابد. بنابراین، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که برای دستیابی به کارایی بهینه باید از مقدار بهینه یون آهن نسبت به پلی‌گلیسرول‌منواستئارات استفاده کرد. در تحقیق صورت گرفته روی ریزکپسوله کردن آهن با این روش، بالاترین میزان کارایی (۷۵ درصد) در نسبت ۵ به ۱ پلی‌گلیسرول‌منواستئارات به نمک آهن به دست آمد و با افزایش نسبت پلی‌گلیسرول‌منواستئارات به نمک آهن، میزان کارایی، روند نزولی نشان داد (۲۴، ۹). ولی با توجه به یافته‌های این بررسی می‌توان گفت که احتمالا علت تفاوتِ دیده شده در نسبت بهینه پلی‌گلیسرول‌منواستئارات به نمک آهن و کارایی بالاتر در بررسی حاضر در مقایسه با بررسی *Kwak* (۲۰۰۳) و *Kim* (۲۰۰۳) مربوط به تفاوت در نوع و ترکیب شیمیایی پلی‌گلیسرول‌منواستئارات مصرفی بوده است. اگر چنین فرضیه‌ای را بپذیریم، باید گفت که با بررسی دقیق ساختار شیمیایی و یافتن نسبت اجزای دی، تری، ترا، پنتا و شاید هگزا گلیسرول موجود در ترکیب پلی‌گلیسرول‌منواستئارات تجارتی شاید بتوان ارتباط مستقیمی بین این اجزا با ظرفیت پذیرش یون آهن و متعاقب آن، کارایی ریزکپسوله کردن پیدا کرد.

پایداری ریزکپسول‌ها: همان‌طور که قبلاً گفته شد، برای بررسی پایداری ریزکپسول‌ها از شاخص TBA استفاده شد. درباره افزایش شاخص TBA همراه با افزایش غلظت یون آهن افزوده شده می‌توان گفت که بخشی از افزایش جذب در ۵۳۲ نانومتر به آن مقدار آهن کپسوله نشده‌ای مربوط است که در حین فرایند کپسوله کردن، خارج از کپسول‌ها باقی‌مانده و به عنوان آهن آزاد در شیر طی نگهداری حل شده و سبب افزایش اکسایش چربی و افزایش شاخص TBA شده است. در ضمن، با افزایش غلظت یون آهن افزوده شده، مقدار آهن کپسوله نشده نیز افزایش می‌یابد. سایر پژوهشگران نیز به نتیجه مشابهی رسیدند و چنین اظهار کردند که با افزایش غلظت یون آهن افزوده شده، شاخص TBA به‌صورت معنی‌دار افزایش می‌یابد (۲۴، ۹). همچنین، شاخص تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های تقویت شده با آهن کپسوله نشده بیشتر از نمونه‌های تقویت شده با آهن کپسوله شده بود که این موضوع، نشان‌دهنده تسریع اکسایش شیمیایی چربی شیر با افزودن آهن کپسوله نشده در مقایسه با آهن کپسوله شده، بدون توجه به میزان آهن افزوده شده است و مؤثر بودن ریزکپسوله کردن در کاهش اکسایش چربی شیر و جلوگیری از واکنش یون آهن با چربی شیر را تأیید می‌کند. نتایج مشابهی توسط پژوهشگران دیگر به دست آمده است. آنها چنین اظهار کردند که ریزکپسوله کردن از اکسایش چربی شیر جلوگیری می‌کند و در نتیجه، شاخص تیوباربیتوریک اسید تا حد قابل توجهی کاهش می‌یابد (۲۴، ۲۰، ۹).

بنابراین، با توجه به یافته‌های این بررسی می‌توان گفت که روش‌های مختلف ریزکپسوله کردن می‌توانند به طور

Archive of SID

www.SID.ir

بسیار قابل قبولی از برهم‌کنش آهن با مواد موجود در محیط شیر، به ویژه چربی‌ها و اکسایش آنها جلوگیری کنند. البته میزان این تأثیر در روش‌های مورد استفاده، یکسان نیست و همان‌گونه که قبلا نیز گفته شد، روش استرهای اسید چرب به مراتب بهتر از روش لیپوزومی است و شباهت بیشتری به لیپوزوم صنعتی داشت.

درباره افزایش شاخص تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های تقویت شده طی نگهداری نیز می‌توان به این نکته اشاره کرد که احتمالا بخشی از این افزایش، به عدم توانایی ریزکپسول‌ها در نگهداری آهن مربوط است که به تدریج، یون آهن از محمل خود، جدا می‌شود، آهن آزاد شده با عبور و انتشار از دیواره ریزکپسول در شیر پخش می‌شود و با ورود به شیر سبب افزایش تیوباربیتوریک اسید می‌شود. این امکان نیز وجود دارد که افزایش میزان رادیکال‌های آزاد ایجاد شده در نتیجهٔ اکسایش چربی شیر سبب تسریع اکسیداسیون شده باشد. در نتایج به دست آمده از سایر پژوهش‌ها نیز به این نکته اشاره شده است که در طول نگهداری میزان این شاخص به صورت معنی‌داری افزایش یافت (۲۴، ۲۰، ۹).

شاخص شدت زردی-آبی (*b)**: افزایش شاخص *b** با افزایش غلظت یون آهن افزوده شده و همچنین طی ۳ روز نگهداری را می‌توان به افزایش اکسایش بتاکاروتن نسبت داد. همان‌طور که می‌دانیم، یکی از عوامل موثر در رنگ شیر، بتاکاروتن است که رنگ آن ناشی از حضور پیوندهای دوگانه مزدوج است. هرچه تعداد پیوندهای دوگانه کمتر شود، جذب اصلی بیشتر به ناحیه طول موج کوتاه تغییر مکان می‌دهد و در نتیجه، رنگ زردتر خواهد شد. کاروتن‌ها در سامانه‌های چرب با درجات بالای اشباع ناپایدار هستند و از آن جا که شیر نشخوارکنندگان پستاندار (مانند گاو) نسبت به حیوانات تک‌معده‌ای، اسیدهای چرب اشباع بیشتری دارد، اکسایش آنها تسریع شده و در نتیجه تعداد پیوندهای دوگانه آنها کاهش می‌یابد. همچنین، وجود رادیکال‌های تشکیل شده در اثر اکسایش چربی‌ها این نابودی را تسریع می‌کند. همان‌طور که قبلا هم اشاره شد، طی نگهداری آهن موجود در خارج ریزکپسول‌ها و آهن آزاد شده از ریزکپسول‌ها موجب تسریع اکسایش چربی‌ها و افزایش تعداد رادیکال‌های آزاد می‌شود در اثر این فرایندها، اکسایش بتاکاروتن نیز بیشتر شده و در نهایت، شاخص *b** افزایش یافته است (۲۷، ۲۶). یکی دیگر از عوامل موثر در رنگ زرد شیر، چربی آن است که با افزایش اندازه گویچه‌های چربی، رنگ شیر زردتر می‌شود. این امکان وجود دارد که طی نگهداری به دلیل تجمع گویچه‌های چربی و افزایش اندازه آنها رنگ شیر، زردتر شود (۲۸).

شاخص شدت قرمزی-سبزی (a^*): شاخص a^* با افزایش غلظت آهن کاهش یافت. علت این موضوع می‌تواند به افزایش واکنش‌های اکسایشی چربی شیر به خاطر افزایش غلظت آهن موجود در محیط مربوط باشد. محصولات اصلی اکسایش چربی‌های شیر هیدروپراکسیدها هستند که ناپایدار بوده و به ترکیبات کربونیلی غیراشباع ۶ تا ۱۱ کربنی از جمله آلدئیدها و کتون‌ها و همچنین بعضی الکل‌ها و اسیدها تجزیه می‌شوند (۲۹). همچنین، افزایش معنی‌دار شاخص a^* طی نگهداری را می‌توان به رنگ ترکیبات حاصل از اکسایش چربی‌ها نسبت داد، ولی تاکنون، تحقیقات کمی در زمینهٔ رنگ ترکیبات حاصل از اکسایش چربی شیر صورت گرفته است.

طبق یافته‌های این بررسی می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که میزان کارایی در روش لیپوزومی با کاهش نسبت وزنی یون آهن به چربی و میزان ماده فعال سطحی، افزایش یافت و در روش استرهای اسید چرب با فرض ثابت بودن سایر متغیرها میزان کارایی به نسبت ماده پوشش‌دهنده به هسته بستگی داشت. از نظر پایداری و ویژگی‌های حسی، نزدیک‌ترین نمونه‌ها به نمونه شاهد، شیرهای تقویت شده با ریزکپسول‌های به دست آمده با روش استرهای اسید چرب و لیپوزوم صنعتی در غلظت ۷mg/L بود. در نهایت با توجه به یافته‌های بررسی حاضر به نظر می‌رسد که ریزکپسوله کردن با روش استرهای اسید چرب به‌دلیل سادگی، کم‌هزینه بودن، عملی بودن و سرعت فرایند، همچنین پایداری بالای ریزکپسول‌های به دست آمده، برای تولید ریزکپسول‌های آهن و تقویت کردن شیر پاستوریزه با آهن بسیار مناسب است.

Archive of SID
www.SID.ir

• References

1. Gaucheron F. Iron fortification in dairy industry. Trends Food Sci Technol 2000; 11: 403–409.
2. Xia SH, XU SH. Ferrous sulfate liposomes: preparation, stability and application in fluid milk. Food Res Intl 2005; 38: 289–296.
3. Oritz-Monasterio JI, Palacios-Rojas N, Meng E, Pixley K, Trethowan R, Pena RJ. Enhancing the mineral and vitamin content of wheat and maize through plant breeding. J Cereal Sci 2007; 46: 293–307.
4. Mohammadi NasrAbaadi F. Investigation of the effects of weekly and daily iron supplementation on iron deficiency as well as knowledge, and attitude of pregnant and breast-feeding women regarding iron supplementation. [MSc dissertation] Tabriz: Tabriz Medical Sciences University, Faculty of Health and Nutrition, 1998. [in Persian]
5. Zimmermann MB, Hurrell R. Nutritional iron deficiency. Lancet 2007; 370: 511–520.
6. Lynch SR. The impact of iron fortification on nutritional anemia. Best Pract Res Clin Haematol 2005; 18: 333–346.
7. Lysionek AE, Zubillaga MB, Salgueiro MJ, Pineiro A, Caro RA, Weill R, et al. Bioavailability of microencapsulated ferrous sulfate in powdered milk produced from fortified fluid milk: a prophylactic study in rats. Nutr 2002; 18: 279–281.
8. De S. Market milk: outlines of dairy iechnolog. New Dehli: Oxford University Press; 1991: 1–89.
9. Kwak HS, Yang KM, Ahn J. Microencapsulated iron for milk fortification. J Agric Food Chem 2003; 51: 7770–7774.
10. Hekmat SH, McMahon DJ. Distribution of iron between caseins and whey proteins in acidified milk. Lebensm. Wiss. Technol 1998; 31: 632–638.
11. Dary O, Freire W, and Kim S. Iron compounds for food fortification: Guidelines for Latin America and the Caribbean. Nutr. Rev 2002; 60: S50–S61.
12. Lee JB, Ahn J, Kwak HS. Microencapsulated ascorbic acid for milk fortification. Arch Pharm Res 2003; 26: 575–580.
13. Gharsallaoui A, Roudaut G, Chambin O, Voilley A, Saurel R. Application of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: an overview. Food Res Intl 2007; 40: 1107–1121.
14. Desai KGH, Park HJ. Recent development in microencapsulation of food ingredients. Drying Technol 2005; 23: 1349–1361.
15. Jackson LS, Lee K. Microencapsulated iron for food fortification. J Food Sci 1991; 56: 1047–1050.
16. Boccio JR, Zubillaga MB, Caro RA, Gotelli CA, Gotelli MJ, Weill R. A new procedure to fortify fluid milk and dairy products with high-bioavailable ferrouse sulfate. Nutr Rev 1997; 55: 240–246.
17. Uicich R, Pizarro F, Almeida C, Diaz M, Boccio J, Zubillaga M, et al. Bioavailability of microencapsulated ferrous sulfate in fluid cow's milk: studies in human beings. Nutr Res 1999; 19: 893–897.
18. Zubillaga MB, Caro RA, Boccio JR, Gotelli CA, Gotelli MJ, Weill R. New procedure to fortify fluid milk with iron: Metabolic and biochemical study in rats. Nutr Res 1996; 16:131–137.
19. MahinPour R. Essential Concepts on Buffer Solutions. 1st ed. Tehran: Nashr e Seda Center, 2001.[in Persian]
20. Lee JB, Ahn J, Lee J, Kwak HS. L-ascorbic acid microencapsulated with polyacylglycerol monostearate for milk fortification. Biosci Biotechnol Biochem 2004; 68:459–500.
21. Hegenauer J, Saltman P, Ludwig D, Ripley L, Bajo P. Effects of supplemental iron and copper on lipid oxidation in milk. comparision of metal complexes in emulsified and homogenized milk. J Agric Food Chem 1979; 27: 860–867.
22. Meilgaard M, Civille GV, Carr BT. Sensory Evaluation Techniques. Florida: CRC Press; 1999.
23. Keller BC. Liposomes in nutrition. Trends Food Sci Technol 2001; 12: 25–31.
24. Kim SJ, Ahn J, Seok JS, Kwak HS. Microencapsulated iron for drink yogurt fortification. Asian Australasian J Animal Sci 2003; 16: 581–587.
25. Wang CF, King, RL. Chemical and sensory evaluation of iron-fortified milk. J Food Sci 1973; 38: 938–940.
26. Sahari MA. Chemistry of Colorants in Foods. Tehran: Andishmand Press. 2001. [in Persian].
27. Fatemi H. Food Chemistry. Tehran: Sahami e Enteshar Press; 2001. [in Persian]
28. Desai KGH, Park HJ. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. Drying Technol 2005; 23: 1349–1361.
29. Walstra P, Jenness R. Lipids, In: Dairy Chemistry and Physics, New York: A Willy-Interscience Publication; 1984.

Archive of SID

www.SID.ir