

ریزپوشانی توأم روغن ماهی و ویتامین E به روش کوآسرواسیون ترکیبی و بهینه‌یابی کارایی آن با روش سطح پاسخ (RSM)

فاطمه میرزایی کلایی^۱، سیدعلی جعفرپور^{۲*}

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد شیلات، گرایش فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
۲- دانشیار، گروه شیلات، گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
* نویسندهٔ مسئول (a.jafarpour@sanru.ac.ir)

چکیده

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۳/۲۷

واژه‌های کلیدی

روغن ماهی
ریزپوشانی
ژلاتین
کوآسرواسیون ترکیبی
ویتامین E

در این پژوهش روغن ماهی و ویتامین E با استفاده از مواد پلیمری ژلاتین و صمغ عربی به‌عنوان مواد دیواره و با کمک روش کوآسرواسیون ترکیبی با روش سطح پاسخ (RSM) در قالب طرح مرکب مرکزی (CCD) ریزپوشانی و بهینه‌سازی شدند. اثر سه متغیر مستقل میزان روغن ماهی (۱، ۳ و ۵ درصد)، میزان بیوپلیمر کل (۱، ۳ و ۵ درصد) و سرعت هموژنایزر (۱۱۰۰۰، ۹۰۰۰ و ۷۰۰۰ دور در دقیقه) بر متغیرهای وابسته از قبیل روغن سطحی، روغن پوشینه‌شده، کارایی ریزپوشانی و اندازه ذرات بررسی شد. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد سرعت هموژنایزر ۷۰۰۰ دور در دقیقه برای تولید نانوذرات با ابعاد کمتر از ۱۰۰ نانومتر مناسب نمی‌باشد. به‌علاوه، پارامترهای درصد روغن ماهی و سرعت هموژنایزر بر اندازه نانوپوشینه‌های تولیدی مؤثر می‌باشند. همچنین نانوپوشینه‌های تولیدی در تیمارهایی که در آنها از درصد بیشتری روغن استفاده شد در مقایسه با تیمارهای با درصد روغن کمتر از روغن سطحی بیشتری برخوردار بودند. میزان کارایی ریزپوشانی بین ۵۶/۲۹ تا ۹۸/۷۶ درصد اندازه‌گیری شد. در این پژوهش تیمار بهینه با مقادیر ۱ درصد روغن ماهی، ۱ درصد بیوپلیمر کل و سرعت هموژنایزر ۷۰۰۰ دور در دقیقه معرفی گردید که میزان کارایی ریزپوشانی آن ۹۷/۹۷ درصد ثبت گردید.

مقدمه

(Arab-Tehrany *et al.*, 2012). این اسیدهای چرب امگا-۳ به‌صورت فزاینده‌ای به‌عنوان بخش مهمی از رژیم غذایی جهت سلامت و پیشگیری از بیماری به‌کارگرفته می‌شوند. این اسیدهای چرب به‌صورت طبیعی در ماهی‌های چرب مانند ماهی آزاد، ماهی تن و مکمل‌های روغن ماهی به‌وفور وجود دارند. ازجمله اثرات مهم سلامت‌بخش EPA و DHA کاهش خطر بروز بیماری‌های قلبی - عروقی است و همچنین DHA در رشد و تکامل مغز و بافت عصبی نوزادان نقش مهمی را ایفا می‌کند (قربانی حسن‌سرای و همکاران، ۱۳۹۱). اسیدهای چرب امگا-۳ می‌توانند برای

اسیدهای چرب امگا-۳ از قبیل آلفا لینولنیک اسید^۱ (ALA) ایکوزاپنتانویک اسید^۲ (EPA) و دکوزاهگزانویک اسید^۳ (DHA) جزء اسیدهای چرب ضروری هستند و باید از طریق رژیم غذایی به‌دست آیند، باین‌حال مصرف این اسیدهای چرب بیش‌ازحد پایین است که اثرات سلامتی نامطلوب بسیاری را برای افراد به همراه دارد؛ بنابراین افزایش مصرف اسیدهای چرب امگا-۳ توصیه می‌شود

¹ Alpha-Linolenic acid

² Eicosapentaenoic

³ Docosahexaenoic

(2015). مزیت اصلی کوآسرواسیون ترکیبی تولید میکروپوشینه‌هایی با اندازه ۱ تا ۱۰۰۰ میکرومتر می‌باشد. علاوه بر این، در مقایسه با دیگر فرایندهای ریزپوشانی، در کوآسرواسیون ترکیبی ظرفیت انتقال هسته به درون مواد دیواره برای ذرات تک‌هسته‌ای ۹۰ درصد و برای ذرات چندهسته‌ای ۶۰ درصد می‌باشد. این روش به‌طور موفقیت‌آمیزی از مهاجرت روغن به سطح ذره جلوگیری می‌کند و غلظت روغن سطحی در مقایسه با دیگر روش‌ها به‌طور معمول کمتر است (Zhang et al., 2012). ژلاتین رایج‌ترین پروتئین مورد استفاده در فرایند ریزپوشانی است زیرا ویژگی‌های آمینواسیدی و چگالی بار مناسبی جهت کوآسرواسیون دارد ساختار کلوئیدی ژلاتین بار کافی را روی زنجیره‌ها به‌منظور جلوگیری از رسوب آنها نگهداری می‌کند. صمغ عربی پلی‌ساکاریدی با آرایش حلقه‌ای است که به‌طور مشابه بارها را روی زنجیره حفظ می‌کند و نیز اجازه می‌دهد مقدار قابل‌توجهی آب بین زنجیره‌ها برای جلوگیری از رسوب آنها مسدود شود. آرایش تصادفی حلقه‌ای دو پلیمر برای تشکیل کوآسروای مطلوب است زیرا این آرایش از بارها بهتر نگهداری می‌کند و تعامل بین پلیمرها را افزایش می‌دهد (Kaushik et al., 2015). براساس مطالعه‌های انجام‌شده Aziz و همکاران (۲۰۱۴) روغن کریل را با استفاده از کمپلکس ژلاتین و صمغ عربی ریزپوشانی و با استفاده از روش سطح پاسخ^۳ (RSM) بهینه‌سازی کردند. نتایج نشان دادند که pH بیشترین اثر خطی معنی‌دار بر کارایی ریزپوشانی دارد و ارتباط مستقیمی بین pH و نسبت هسته و دیواره وجود دارد درحالی‌که سرعت هم‌زدن اثر معنی‌داری نداشت. شرایط بهینه کارایی ریزپوشانی شامل نسبت هسته به دیوار ۱/۷۵:۳/۸، pH و سرعت هم‌زدن ۳ (از مقیاس ۱۰) می‌باشد. میزان کارایی ریزپوشانی بین ۴۵/۱۶ تا ۹۶/۹۲ درصد قرار داشت. در مطالعه Choi و همکاران (۲۰۱۰) بتا-سیکلودکسترین و پلی‌کاپرولاکتون^۴ به‌عنوان مواد دیواره به‌منظور ریزپوشانی روغن ماهی مورد استفاده قرار گرفت. براساس مطالعه‌های قبلی، کپسوله‌کردن روغن

غنی‌سازی مواد غذایی کم‌چرب و یا تولید مواد غذایی فراسودمند مورد استفاده قرار گیرند. از آنجا که این ترکیبات آب‌گریز بوده و عملاً در آب نامحلول هستند غنی‌سازی فراورده‌های غذایی و نوشیدنی‌های آبی با آن بسیار مشکل است. از طرف دیگر به دلیل داشتن پیوندهای غیراشباع به شدت به تخریب اکسیداتیو حساس می‌باشند به طوری که در اثر اکسیداسیون علاوه بر تولید عطر و طعم نامناسب اثرات سلامت‌بخشی آن نیز کاهش می‌یابد (بحرانی و همکاران، ۱۳۹۲). همچنین ویتامین E یکی از مهم‌ترین ترکیبات مغذی طبیعی ضروری می‌باشد که می‌تواند از غشای زیستی به‌عنوان جاذب رادیکال در برابر پراکسیداسیون چربی محافظت کند و از بروز بسیاری از بیماری‌های خطرناک مانند سرطان و بیماری‌های قلبی - عروقی جلوگیری می‌کند. ویتامین E در بسیاری از مواد غذایی به‌عنوان افزودنی کاربردی مورد استفاده قرار می‌گیرد اما زمانی که در معرض اکسیژن و پرتو فرابنفش قرار می‌گیرد به راحتی تخریب می‌شود. ریزپوشانی می‌تواند با تولید نانوپوشینه‌ها^۱ در صنعت غذا از طریق محافظت مواد هسته در برابر محیط آنها امتیازهایی فراهم آورد (Chang et al., 2005). ریزپوشانی فرایندی است که در آن عناصر حساس یا مواد هسته در پلیمرهای محافظ یا مواد دیواره به‌عنوان عوامل پوشینه‌ساز به‌دام می‌افتند (Hogan et al., 2001). مواد پوسته میکروپوشینه از هسته در برابر اثرات محیطی (اکسیژن، نور، رطوبت و غیره) محافظت می‌کند (Garg et al., 2006). طیف گسترده‌ای از فرایندهای مهندسی جهت ریزپوشانی مورد استفاده قرار می‌گیرند. نوع فرایند به کاررفته برای ریزپوشانی بستگی به ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی هسته و پوشش و نوع کاربرد آن در مواد غذایی دارد (Zuidam & Shimoni, 2010). کوآسرواسیون ترکیبی^۲ یکی از روش‌های فیزیکوشیمیایی ریزپوشانی ذرات است، در کوآسرواسیون ترکیبی از پلیمرها با بار مخالف استفاده می‌شود این فناوری بهترین روش برای پایداری روغن‌های حاوی امگا-۳ در فرایند ریزپوشانی است (Kaushik et al.,

³ Response Surface Methodology

⁴ Polycaprolactone

¹ Nanocapsule

² Complex Coaservation

تیتراکم، تهران)، صمغ عربی (جرم مولکولی ۲۶۶/۳۸ کیلودالتون و فرمول مولکولی $C_{16}H_{26}O_3$) از شرکت دای جونگ کره جنوبی، پودر لاتین پوست ماهیان سردآبی (جرم مولکولی ۶۰ کیلودالتون، دمای نگهداری ۸-۲ درجه سانتی‌گراد و غلظت ۴۰-۵۰ درصد در آب) از شرکت سیگمای آمریکا تهیه شدند. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده با درجه آزمایشگاهی از فروشگاه‌های مواد شیمیایی و آزمایشگاهی معتبر تهیه شدند.

تهیهٔ امولسیون‌ها و پودر نانوپوشینه

محلول‌های ژلاتین و صمغ عربی با غلظت ۶ درصد وزنی-حجمی به‌طور جداگانه تهیه شدند. به‌منظور آب‌گیری کامل مواد دیواره عمل هم‌زدن ترکیب ژلاتین و صمغ عربی به‌ترتیب در دمای ۲۵ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲-۱۸ ساعت در بن‌ماری انجام گرفت. روغن ماهی در سطوح ۱، ۳ و ۵ درصد، بیوپلیمر کل با نسبت (۱:۱) در سطوح ۱، ۳ و ۵ درصد با سرعت‌های متفاوت هم‌زن‌نایزر (مکانیکی) (Ultra-Turrax، Wise-15D، ساخت کره جنوبی) (۱۱۰۰۰، ۹۰۰۰ و ۷۰۰۰ دور در دقیقه) به‌عنوان متغیرهای مستقل برای تهیهٔ امولسیون در نظر گرفته شد. در ابتدا ویتامین E در غلظت ۳۰۰۰ پی.پی.ام به روغن ماهی اضافه شد. سپس محلول ژلاتین به روغن ماهی دارای ویتامین E اضافه و به‌طور کامل هم‌وزن شد. بعد از آن آب‌مقطر در مقدار معین باتوجه‌به نوع تیمار اضافه و به مدت ۸ دقیقه با هم‌زن‌نایزر در سرعت‌های متفاوت (۱۱۰۰۰، ۹۰۰۰ و ۷۰۰۰ دور در دقیقه) هم‌وزن شد، سپس محلول صمغ عربی به آن اضافه و دوباره ۸ دقیقه هم‌وزن شد. به‌این‌ترتیب امولسیون چندگانهٔ روغن در آب آماده شد. امولسیون‌های تهیه‌شده به‌منظور بررسی اندازهٔ ذرات به دانشگاه تربیت مدرس تهران منتقل شدند. pH امولسیون با استفاده از HCl ۰/۱ مولار به ۳/۸ رسید و به‌منظور ایجاد پیوندهای عرضی بین مواد پلیمری ۱ درصد آنزیم ترانس‌گلوتامیناز نیز اضافه شد، سپس ۴ درصد مالتودکسترین به‌منظور خشک‌شدن بهتر دیواره‌ها به محلول‌ها اضافه گردید و ۲ دقیقه با سرعت ۷۰۰۰ دور در دقیقه هم‌وزن شدند سپس امولسیون‌ها به‌منظور خشک‌شدن به دستگاه خشک‌کن

ماهی در مواد دیواره بتا-سیکلودکسترین با نسبت ۲۰:۱۰ (روغن ماهی: بتا-سیکلودکسترین) بهترین ترکیب از لحاظ کارایی ریزپوشانی (۸۴/۱ درصد)، بازگیری روغن ماهی (۶۲/۷ درصد)، نشت روغن ماهی پس از خشک‌کردن انجمادی (۰/۱۱ درصد) را نشان داد. در مطالعهٔ جعفرپور و همکاران (۱۳۹۵) اسیدهای چرب امگا-۳ با استفاده از ژلاتین ماهی و صمغ عربی ریزپوشانی و با روش سطح پاسخ (RSM) بهینه‌سازی شد. در این مطالعه تأثیر سه متغیر مستقل غلظت ژلاتین ماهی (۳۳ تا ۶۶ درصد)، غلظت اسید چرب امگا-۳ (۱۰ تا ۳۰ درصد) و سرعت هم‌زن‌نایزر (۲۰۰۰۰، ۱۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه) بر سطوح پاسخ مختلف مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعه حاضر از ویتامین E به‌منظور پایداری اکسایشی نانوذرات استفاده شد. پورعاشوری (۱۳۹۱) در مطالعهٔ خود تأثیر مواد دیواره روی ریزپوشانی و پایداری روغن کبد ماهی کاد^۱ و روغن امگا-۳ را بررسی کردند. مطالعه روی روغن سطحی نشان داد که کمترین میزان روغن سطحی در تیمارهای حاوی مواد دیوارهٔ ژلاتین و بیشترین روغن سطحی در تیمارهای حاوی مواد دیوارهٔ کیتوزان وجود داشت. پودرهای روغن ماهی ریزپوشانی‌شده با کیتوزان درصد کارایی ریزپوشانی کمتری (۶۷/۳۵ درصد) در مقایسه با پودرهای ژلاتین - ترانس‌گلوتامیناز (۸۸/۰۱ درصد) نشان دادند. از روش‌های افزایش ماندگاری اسیدهای چرب غیراشباع می‌توان به افزودن آنتی‌اکسیدان (طبیعی و مصنوعی) و فرایند ریزپوشانی اشاره کرد. هدف از مطالعه حاضر بهینه‌یابی ریزپوشانی هم‌زمان روغن ماهی حاوی امگا-۳ و ویتامین E (به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی) با استفاده از ژلاتین و صمغ عربی به‌عنوان مواد دیواره با استفاده از تکنیک کوآسرواسیون ترکیبی بود.

مواد و روش‌ها

روغن ماهی از گوشت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان^۲ به روش خیساندن (نسبت هگزان به ایزوپروپانول برابر ۱ به ۳) استخراج شد (Lin & Lin, 2015)، ویتامین E (شرکت

^۱ Code fish

^۲ *Oncorhynchus mykiss*

میلی لیتر هگزان به ۲/۵ گرم پودر نانوپوشینه اضافه شد و به مدت ۲ دقیقه ورتکس شد، سپس به مدت ۲۰ دقیقه در ۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (Universal Centrifuge، BH:1200، ساخت ایران) شد. محلول رویی از کاغذ صافی عبور داده شد و ۲ بار با هگزان شسته شد. هگزان توسط روتاری با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد تبخیر شد و روغن باقی مانده در ۱۰۵ درجه سانتی گراد خشک شده و روغن آزاد محاسبه گردید (Klinkesorn et al., 2006).

اندازه گیری روغن پوشینه شده^۴

به منظور اندازه گیری روغن پوشینه شده، پودر عاری از چربی سطحی (پودر حاصل از مرحله قبل) با ۲ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد و به مدت ۱ دقیقه ورتکس شد. محلول حاصل با ۲۵ میلی لیتر از هگزان ۳/۱ ایزوپروپانول ۱ استخراج شده و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. فاز آلی شفاف جمع آوری شده و دوباره فاز آبی با مخلوط حلال استخراج شد. در نهایت این محلول حاوی روغن پوشینه شده در آن با دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد تبخیر شد و وزن روغن باقی مانده محاسبه گردید (Klinkesorn et al., 2006).

اندازه گیری روغن کل^۵

روغن کل به مجموع روغن های سطحی و پوشینه شده گفته می شود. بدین منظور ۲ میلی لیتر آب مقطر به ۰/۵ گرم پودر نانوپوشینه اضافه شد و به مدت ۱ دقیقه ورتکس شد سپس روغن کل با استفاده از روش گفته شده برای روغن پوشینه شده استخراج شد (Klinkesorn et al., 2006).

اندازه گیری کارایی ریزپوشانی (EE)^۶

کارایی ریزپوشانی با استفاده از رابطه (۴) محاسبه شد (Klinkesorn et al., 2006):

انجمادی (Alpha, Freeze Dryer Vacume concentrators 2-4 LDplus، ساخت آلمان) منتقل و نانوپوشینه ها تولید شدند (Liu et al., 2010).

اندازه ذرات امولسیون

اندازه ذرات امولسیون و پتانسیل زتا با استفاده از دستگاه پراکندگی نور دینامیک^۱ (DLS) (مدل Zetasizer Nano Series، شرکت Malvern، ساخت آمریکا) تعیین گردید (García-Moreno et al., 2016). میانگین قطر حجمی (میانگین حجم معادل) از رابطه (۱) محاسبه شد:

$$D_{43} = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3}$$

در رابطه (۱)، $\sum n_i d_i^4$: مجموع تعداد قطرات با قطر d_i و D_{43} : میانگین قطر برحسب حجم - وزن است. توزیع اندازه ذرات با استفاده از رابطه (۲) محاسبه شد:

$$Span = \frac{D(90\%) - D(10\%)}{D(50\%)}$$

در رابطه (۲)، $D(10\%)$ ، $D(50\%)$ و $D(90\%)$: قطری که حجم ذرات کوچکتر از آن به ترتیب ۱۰، ۵۰ و ۹۰ درصد حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می دهد. سطح ویژه ذرات^۲ (SSA) نیز برحسب میلی متر مربع بر میلی لیتر از روی قطر متوسط در رابطه (۳) محاسبه شد:

$$SSA = \frac{6}{D_{43}}$$

در رابطه (۳)، SSA: سطح ویژه ذرات می باشد. در رابطه های (۱)، (۲) و (۳) داده ها به صورت دستی وارد شده اند.

اندازه گیری روغن سطحی^۳ نانوپوشینه

به منظور اندازه گیری روغن سطحی روی ذرات، ۱۵

^۴ Encapsulated Oil

^۵ Total Oil

^۶ Encapsulation Efficiency

^۱ Dynamic Light Scattering

^۲ Specific surface area

^۳ Surface Oil

جدول ۱- سطوح متغیرهای آزمایشی جهت ریزپوشانی روغن ماهی

نوع متغیر	نماد	سطوح کدبندی شده		
		-۱	۰	+۱
روغن ماهی (درصد)	A	۵	۳	۱
بیوپلیمر کل (درصد)	B	۵	۳	۱
سرعت هموژنایزر (دور در دقیقه)	C	۱۱۰۰۰	۹۰۰۰	۷۰۰۰

جدول ۲- طراحی آزمایش ریزپوشانی روغن ماهی به همراه ویتامین E با مواد پلیمری ژلاتین و صمغ عربی با استفاده از روش کوآسرواسیون ترکیبی

تیمار	روغن ماهی (درصد)	بیوپلیمر کل (درصد)	سرعت هموژنایزر (دور در دقیقه)
۱	۳	۳	۹۰۰۰
۲	۱	۱	۱۱۰۰۰
۳	۳	۵	۹۰۰۰
۴	۵	۵	۱۱۰۰۰
۵	۵	۳	۹۰۰۰
۶	۳	۳	۹۰۰۰
۷	۳	۳	۷۰۰۰
۸	۳	۳	۹۰۰۰
۹	۵	۵	۷۰۰۰
۱۰	۵	۱	۱۱۰۰۰
۱۱	۱	۱	۷۰۰۰
۱۲	۱	۵	۱۱۰۰۰
۱۳	۳	۳	۹۰۰۰
۱۴	۱	۳	۹۰۰۰
۱۵	۳	۱	۹۰۰۰
۱۶	۳	۳	۹۰۰۰
۱۷	۳	۳	۱۱۰۰۰
۱۸	۵	۱	۷۰۰۰
۱۹	۳	۳	۹۰۰۰
۲۰	۱	۵	۷۰۰۰

نتایج

اندازه ذرات امولسیون و توزیع آنها

نتایج بررسی اندازه ذرات امولسیون در جدول (۳) آورده شده است. به منظور بررسی اندازه و پتانسیل زتا ذرات امولسیون ۳ تیمار ۱۱، ۶ و ۱۰ انتخاب شدند. معیار انتخاب این نمونه‌ها براساس بهینه‌سازی کارایی ریزپوشانی با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM) می‌باشد. نتایج نشان دادند محدوده میانگین اندازه ذرات بین ۵۹/۲ تا ۵۱۴ نانومتر می‌باشد. براساس نتایج تیمار ۱۱ (تیمار

رابطه (۴)

$$\text{درصد ریزپوشانی} = \frac{\left(\frac{\text{روغن کپسوله شده}}{100 \text{ گرم}}\right)}{\text{روغن کل}} = 100$$

تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش به منظور بهینه‌سازی تیمارهای آزمایشی از طرح آماری روش سطح پاسخ (RSM) استفاده شد، همچنین به منظور بهینه‌سازی فرایند تولید نانو پوشینه‌ها از طرح مرکب مرکزی^۱ (CCD) استفاده شد (جدول ۲). این طرح دارای ۲۰ آزمایش که خود شامل ۸ نقطه فاکتوریل، ۶ نقطه محوری و ۶ نقطه مرکزی به منظور تخمین خطای آزمایش بود. در جدول (۱) اثر متغیرهای مستقل شامل میزان روغن ماهی، میزان بیوپلیمر کل و سرعت هموژنایزر در ۳ سطح آورده شده است. بهینه‌سازی براساس میزان کارایی ریزپوشانی به عنوان شاخص در نظر گرفته شد. آزمون آماری مدل به دست آمده برای هر پاسخ براساس آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) صورت گرفت. جهت طراحی آزمایش، آنالیز نتایج، رسم نمودارها و بهینه‌سازی از نرم افزار دیزاین اکسپرت^۲ (نسخه ۷) استفاده شد. شاخص‌های اندازه‌گیری شده طبق رابطه (۵) مدل‌سازی شدند.

رابطه (۵)

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i \neq j} \beta_{ij} X_i X_j$$

رابطه (۵) شامل اثرات خطی^۳ عوامل، اثر مربع^۴ یا درجه دوی^۵ عوامل و اثر برهم‌کنش، متقابل یا تداخلی^۶ متغیرهای مستقل می‌باشد. Y عبارت است از متغیر وابسته $\beta_0, \beta_i, \beta_{ii}, \beta_{ij}$ ثابت‌های برآورد شده توسط مدل X_i و X_j سطح متغیرهای مستقل بوده و آنها به ترتیب نمایانگر اثرات خطی، درجه دوم و اثرات متقابل متغیرهای X_1, X_2 و X_3 که با نماد A، B و C در جدول (۱) نشان داده شده‌اند، روی پاسخ می‌باشند.

^۱ Central composite rotatable design^۲ Design Expert 7^۳ Linear^۴ Square^۵ Quadratic^۶ Interaction

بیوپلیمر کل و سرعت هموژنایزر ۹۰۰۰ دور در دقیقه می‌باشد. شاخص اسپان دامنه نمودار توزیع اندازه ذرات را نشان می‌دهد. کوچک‌تر بودن شاخص اسپان در تیمار ۶ (مرکزی) نشان داد ذرات از پراکنش یکنواخت‌تری در این امولسیون برخوردارند. در این مطالعه سطح ویژه در محدوده ۰/۱ - ۰/۰۱ میلی‌متر مربع بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. طبق نتایج تیمار ۶ دارای بیشترین میزان سطح ویژه (۰/۱ میلی‌متر مربع بر میلی‌لیتر) نسبت به ۲ تیمار دیگر است.

بهینه) بهترین درصد کارایی ریزپوشانی را داشت اما اندازه پوشینه‌های تولیدشده در سرعت هموژنایزر ۷۰۰۰ دور در دقیقه معادل ۵۱۴ نانومتر بود. در مقایسه دو تیمار ۶ (مرکزی) و ۱۰ (غیربهینه یا پایین‌ترین درصد کارایی ریزپوشانی) اندازه پوشینه‌های تولیدی به ترتیب معادل ۵۹/۲ و ۱۱۲/۱ نانومتر بود، نتیجه اینکه افزایش درصد روغن ماهی و سرعت هموژنایزر باعث افزایش اندازه ذرات شده است. کوچک‌ترین اندازه ذرات ۳۷/۶۸ و ۸۰/۷۲ نانومتر اندازه‌گیری شده است که مربوط به تیمار ۶ یا مرکزی بوده که شامل ۳ درصد روغن ماهی، ۳ درصد

جدول ۳- داده‌های مربوط به میانگین اندازه ذرات، سطح مخصوص، عدد اسپان و پتانسیل زتا امولسیون

تیمار	روغن ماهی (درصد)	بیوپلیمر کل (درصد)	سرعت هموژنایزر (دور در دقیقه)	میانگین اندازه ذرات (نانومتر)	سطح مخصوص ذرات (میلی‌متر مربع/میلی‌لیتر)	عدد اسپان	پتانسیل زتا (میلی‌ولت)
۱۱ (بهینه)	۱	۱	۷۰۰۰	۵۱۴±۰/۴۰	۰/۰۱	۰/۸۱	-۳۷/۸۰±۰/۰۷
۶ (مرکزی)	۳	۳	۹۰۰۰	۵۹/۲±۳۰/۴۰	۰/۱۰	۰/۴۱	-۳۶/۲۰±۱/۵۰
۱۰ (غیربهینه)	۵	۱	۱۱۰۰۰	۱۱۲/۱±۹/۳۰	۰/۰۵	۰/۴۷	-۴۹/۱۰±۳/۹۰

میانگین ± انحراف معیار

اندازه‌گیری پتانسیل زتا

مقادیر پتانسیل زتا در ۳ تیمار در محدوده ۳۶/۲- تا ۴۹/۱- اندازه‌گیری شد. بیشترین میزان پتانسیل زتا مربوط به تیمار ۱۰ است، بنابراین این تیمار از لحاظ بار سطحی امولسیون و دافعه الکترواستاتیک بین ذرات شرایط خوبی دارد که از بهم‌چسبیدن و کلوخه‌شدن ذرات در امولسیون جلوگیری می‌کند.

اندازه‌گیری روغن سطحی

نتایج اندازه‌گیری روغن سطحی در جدول (۴) آورده شده است. نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس (جدول ۵)

پاسخ روغن سطحی نانوپوشینه‌های تولیدی نشان دادند تغییرات درصد روغن ماهی بیشترین تأثیر را بر میزان روغن سطحی نانوذرات داشته است ($P < 0/01$). پارامتر خطی درصد روغن ماهی و درصد بیوپلیمر کل در سطح احتمال ۹۹ درصد معنی‌دار شده است ($P < 0/01$). در این سطح پاسخ روغن ماهی و بیوپلیمر کل به یکدیگر وابسته‌اند زیرا اثرات متقابل آنها در سطح احتمال ۹۵ درصد معنی‌دار شد ($P < 0/05$). اثر روغن ماهی بر سطح پاسخ دارای بالاترین مقدار F-value بوده است. اثر متقابل سرعت هموژنایزر و درصد بیوپلیمر کل در سطح احتمال ۹۵ درصد نیز معنی‌دار می‌باشد ($P < 0/05$).

جدول ۴- نتایج اندازه‌گیری روغن سطحی و روغن پوشینه‌شده و کارایی ریزپوشانی نانوپوشینه‌های تولیدی

تیمار	روغن ماهی (درصد)	بیوپلیمر کل (درصد)	سرعت هموژنایزر (دور در دقیقه)	روغن سطحی (گرم/۱۰۰ گرم)	روغن پوشینه‌شده (گرم/۱۰۰ گرم)	کارایی ریزپوشانی (درصد)
۱	۳	۳	۹۰۰۰	۱/۳۲±۰/۰۴	۲۹/۱۰±۰/۱۰	۹۵/۶۵±۰/۱۰
۲	۱	۱	۱۱۰۰۰	۰/۵۵±۰/۰۵۵	۷/۷۲±۰/۶۰	۹۸/۷۶±۰/۱۰
۳	۳	۵	۹۰۰۰	۱/۲۸±۱/۶۰	۳۲/۵۷±۱/۲۰	۹۴/۴۰±۱/۳۵
۴	۵	۵	۱۱۰۰۰	۳/۰۸±۰/۱۰	۲۰/۱۲±۰/۲۰	۸۵/۸۱±۱/۴۰
۵	۵	۳	۹۰۰۰	۶/۴۲±۰/۲۰	۳۵/۳۸±۰/۷۰	۸۴/۳۶±۰/۲۰

ادامه جدول ۴- نتایج اندازه‌گیری روغن سطحی و روغن پوشینه‌شده و کارایی ریزپوشانی نانوپوشینه‌های تولیدی

کارایی ریزپوشانی (درصد)	روغن پوشینه‌شده (گرم/۱۰۰ گرم)	روغن سطحی (گرم/۱۰۰ گرم)	سرعت هموزنایزر (دور در دقیقه)	بیوپلیمر کل (درصد)	روغن ماهی (درصد)	تیمار
۹۶/۱۳±۰/۱۰	۲۸/۹۴±۰/۴۰	۱/۳۶±۰/۲۰	۹۰۰۰	۳	۳	۶
۹۴/۵۸±۰/۰۶	۱۶/۱۷±۰/۰۶	۰/۹۲±۰/۰۴	۷۰۰۰	۳	۳	۷
۸۹/۵۳±۰/۰۶	۲۸/۲۹±۰/۸۰	۳/۱۸±۰/۱۰	۹۰۰۰	۳	۳	۸
۸۷/۷۶±۰/۰۴	۳۸/۰۳±۰/۷۰	۵/۳۰±۰/۱۰	۷۰۰۰	۵	۵	۹
۵۶/۲۹±۱/۲۰	۱۷/۶۰±۰/۱۵۰	۱۳/۸۸±۰/۰۷	۱۱۰۰۰	۱	۵	۱۰
۹۷/۹۷±۰/۰۶	۱۴/۷۷±۰/۰۹۰	۰/۳۰±۰/۰۱	۷۰۰۰	۱	۱	۱۱
۹۶/۰۹±۰/۵۰	۰۸/۴۴±۰/۲۰	۰/۲۵±۰/۰۵	۱۱۰۰۰	۵	۱	۱۲
۸۶/۹۹±۰/۵۰	۱۹/۱۱±۰/۷۰	۲/۸۵±۰/۰۳	۹۰۰۰	۳	۳	۱۳
۸۲/۲۶±۱/۳۷	۱۱/۵۲±۰/۰۴۰	۲/۴۸±۰/۱۰	۹۰۰۰	۳	۱	۱۴
۸۰/۷۶±۰/۲۰	۲۰/۵۲±۰/۲۰	۴/۸۸±۰/۰۳	۹۰۰۰	۱	۳	۱۵
۹۴/۲۵±۰/۰۹۰	۲۷/۶۸±۰/۳۰	۱/۶۸±۰/۲۰	۹۰۰۰	۳	۳	۱۶
۹۵/۲۵±۰/۰۶	۲۸/۰۸±۰/۲۰	۱/۴۰±۰/۰۱	۱۱۰۰۰	۳	۳	۱۷
۷۲/۴۹±۰/۲۰	۲۵/۴۰±۰/۸۰	۹/۶۳±۰/۴۰	۷۰۰۰	۱	۵	۱۸
۹۲/۶۲±۱/۰۱	۳۰/۷۴±۰/۷۰	۲/۴۵±۰/۴۰	۹۰۰۰	۳	۳	۱۹
۹۳/۵۸±۰/۸۰	۱۴/۴۷±۰/۰۲	۰/۹۰±۰/۱۰	۷۰۰۰	۵	۱	۲۰

جدول ۵- آنالیز واریانس پارامترهای اندازه‌گیری‌شده نانوپوشینه‌های تولیدی

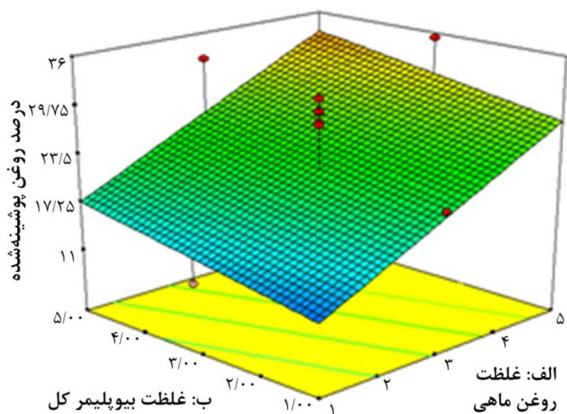
کارایی ریزپوشانی		روغن پوشینه‌شده		روغن سطحی		مدل‌ها
سطح احتمال	مجموع مربعات	سطح احتمال	مجموع مربعات	سطح احتمال	مجموع مربعات	(منبع)
۰/۰۰۶۵	۱۶۶۰/۹۷	۰/۰۰۶۸	۷۸۲/۲۷	۰/۰۰۰۱	۱۱۴/۴۷	مدل
۰/۰۰۱۰	۶۹۷/۸۱	۰/۰۰۱۷	۶۳۳/۵۸	۰/۰۰۰۱	۳۴/۰۳	A
۰/۰۱۶۱	۲۷۶/۵۲	۰/۲۰۹۲	۷۶/۳۹	۰/۰۰۰۳	۳۴/۰۳	B
۰/۴۶۶۸	۱۸/۹۵	۰/۲۲۱۲	۷۲/۳۰	۰/۵۵۷۱	۰/۴۴	C
۰/۰۱۱۵	۳۱۵/۹۵	-	-	۰/۰۰۰۶	۲۹/۷۴	AB
۰/۲۰۸۸	۵۹/۷۶	-	-	۰/۴۵۳۱	۰/۷۴	AC
۰/۳۳۷۵	۳۳/۶۰	-	-	۰/۰۳۹۱	۵/۹۹	BC
-	-	-	-	۰/۰۰۶۹	۱۳/۸۵	A ²
-	-	-	-	۰/۲۱۳۰	۲/۱۳	B ²
-	-	-	-	۰/۱۴۵۷	۳/۰۰	C ²
-	۳۳۱/۱۲	-	۷۱۳/۸۱	-	۱۲/۰۶	باقی‌مانده
۰/۰۷۴۹	۲۶۵/۷۷	۰/۰۹۵۳	۶۲۸/۹۴	۰/۱۴۲۷	۸/۸۸	عدم برازش
-	۶۵/۳۵	-	۸۴/۸۷	-	۳/۱۹	خطای خالص
-	۱۹۹۲/۱۰	-	۱۴۹۶/۰۸	-	۲۲۵/۰۶	مجموع مربعات کل

کمترین میزان روغن سطحی نانوپوشینه تولیدی زمانی مشاهده می‌شود که روغن ماهی در حداقل درصد خود به کار رود. با افزایش درصد روغن ماهی و کاهش درصد بیوپلیمر کل میزان روغن سطحی نانوذرات افزایش یافته است.

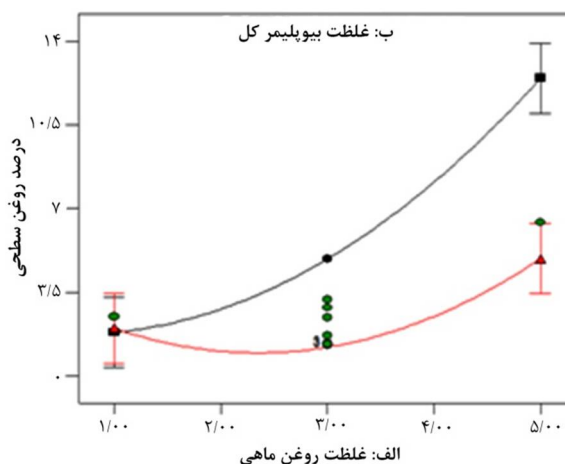
معنی‌دار بودن اثرات خطی، متقابل و درجه‌دو متغیرها بر پاسخ روغن سطحی به‌خوبی در مدل به‌دست‌آمده جدول (۶) مشهود است. شکل (۱) نمودار اثر متقابل متغیرهای روغن ماهی و بیوپلیمر کل بر تغییرات روغن سطحی نانوپوشینه تولیدی را نشان داده است. طبق نمودار

جدول ۶- مدل‌های برازش داده‌شده برای پارامترهای مورد اندازه‌گیری نانوپوشینه‌های تولیدی

ردیف	متغیر اندازه‌گیری شده	مدل به‌دست‌آمده	R ²	R ² -adj
۱	روغن سطحی	$Y=2/17+3/38A-1/84B-1/93AB-0/92BC+2/24A^2$	۰/۹۵	۰/۹۰
۲	روغن پوشینه‌شده	$Y=22/69+7/96A$	۰/۵۲	۰/۴۳
	کارایی ریزپوشانی	$Y=91/70-8/35A+5/26B+6/28AB$	۰/۸۳	۰/۶۸



شکل ۲- نمودار سه‌بُعدی اثر روغن ماهی و بیوپلیمر کل بر مقدار روغن پوشینه‌شده نانوپوشینه‌های تولیدی



شکل ۱- نمودار اثر متقابل متغیرهای روغن ماهی و بیوپلیمر کل بر تغییرات روغن سطحی نانوپوشینه‌های تولیدی

کارایی ریزپوشانی

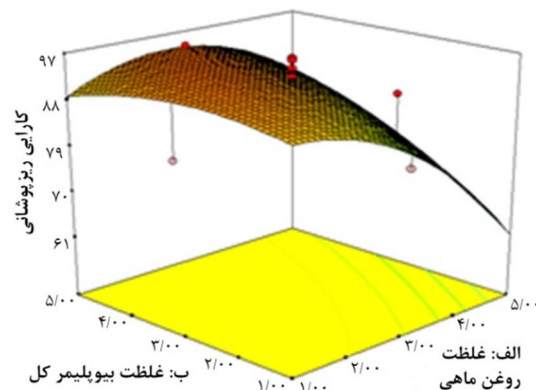
مقادیر کارایی ریزپوشانی در جدول (۴) آورده شده است. نتایج حاصل از آنالیز واریانس (جدول ۵) پاسخ کارایی نشان داده است، دو پارامتر درصد روغن ماهی ($P < 0/01$) و درصد بیوپلیمر کل ($P < 0/05$) بر میزان تغییرات کارایی ریزپوشانی به صورت خطی مؤثر می‌باشند، نتایج آماری نشان داد که پارامتر خطی درصد روغن ماهی بیشترین تأثیر را بر کارایی ریزپوشانی داشت. همچنین روغن ماهی و بیوپلیمر کل در این سطح پاسخ دارای اثر متقابل هستند ($P < 0/05$). شکل (۳) نمودار سه‌بُعدی اثر درصد روغن ماهی و درصد بیوپلیمر کل را بر میزان تغییرات پاسخ کارایی ریزپوشانی نشان می‌دهد. با افزایش درصد روغن ماهی نسبت به بیوپلیمر کل میزان کارایی ریزپوشانی به‌طور چشمگیری کاهش یافته است.

اندازه‌گیری روغن پوشینه‌شده

نتایج اندازه‌گیری روغن پوشینه‌شده در جدول (۴) آورده شده است. نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس (جدول ۵) پاسخ روغن پوشینه‌شده نشان می‌دهد پارامتر خطی درصد روغن ماهی بر میزان تغییرات روغن پوشینه‌شده در سطح احتمال ۹۹ درصد معنی‌دار شده است ($P < 0/01$). در شکل (۲) نمودار سه‌بُعدی اثر روغن ماهی و بیوپلیمر کل بر مقدار روغن پوشینه‌شده نانوپوشینه‌های تولیدی نمایش داده شدند. در شکل (۲) خط انحناى غلظت روغن ماهی دارای شیب تند است که نشان می‌دهد بسیار بر سطح پاسخ (روغن پوشینه‌شده) اثرگذار است و سطح پاسخ به این متغیر بسیار حساس می‌باشد ($P < 0/01$)، به‌طوری‌که با افزایش درصد روغن ماهی و درصد بیوپلیمر کل میزان روغنی که توسط دیواره‌های پلیمری احاطه می‌شوند نیز افزایش یافته است. همان‌طور که در جدول (۵) مشاهده شد اثرات متقابل و درجه‌دو متغیرها بر پاسخ روغن پوشینه‌شده تأثیر معنی‌داری نداشتند به‌همین علت از مدل موردبررسی که در جدول (۶) آورده شد، حذف گردیدند.

ضریب تبیین (R^2) به عنوان درجه‌ای از تناسب برآزش برای تمامی مدل‌های ارائه‌شده در توصیف تغییرات پاسخ به عنوان تابعی از متغیرهای مستقل، قدرت توضیح‌دهندگی تغییرات کل داده‌ها را بیان نمود. مشاهده‌های حاصل از انجام آزمایش‌ها، بیانگر همبستگی خوب بین نتایج به‌دست‌آمده با روش تجربی و مقادیر پیش‌بینی‌شده با روش آماری است (جدول ۶ و ۷).

جدول (۷) پارامترهای بهینه را برای متغیرهای مستقل و پاسخ‌های وابسته نشان داده است. نرم‌افزار دیزاین اکسپرت بهترین مقادیر استفاده از متغیرهای مستقل به‌منظور تولید نانوپوشینه‌های تولیدی، ۱ درصد روغن ماهی، ۱ درصد بیوپلیمرکل و سرعت هموژنایزر ۷۰۰۰ دور در دقیقه در نظر گرفته است. باتوجه به مقادیر ذکرشده در جدول (۷)، نتایج به‌دست‌آمده در شرایط آزمایشگاهی برای هر پاسخ نزدیک به مقادیر پیش‌بینی‌شده توسط نرم‌افزار می‌باشد.



شکل ۳- نمودار سه‌بعدی اثر روغن ماهی و بیوپلیمرکل بر میزان کارایی ریزپوشانی

باتوجه به اطلاعات موجود در جدول (۶)، جدای از فاکتور روغن پوشینه‌شده، مدل‌های به‌دست‌آمده و برآزش‌داده‌شده در تمامی سطح پاسخ‌های موردبررسی در آزمایش (متغیرهای وابسته)، صحت مدل از ضریب تبیین (R^2) و ضریب تبیین اصلاح‌شده بالا برخوردار بود. مقادیر

جدول ۷- مقادیر بهینه پیش‌بینی‌شده و واقعی برای متغیرهای مستقل و سطح پاسخ‌ها

کارایی ریزپوشانی	روغن پوشینه‌شده	روغن سطحی	مقادیر
۹۶/۶۹	۱۸/۰۱	۰/۲۵	پیش‌بینی‌شده
۹۷/۹۷	۱۴/۷۷	۰/۳۰	واقعی

و توزیع آنها، نقش مهمی در ویژگی‌های فیزیکی سیستم‌های کلوئیدی مانند پایداری در طی نگهداری، کدورت و ویژگی‌های رئولوژیکی دارد (عزیزانباری و همکاران، ۱۳۹۲). اندازه میکروپوشینه‌ها به‌منظور کاربردهای غذایی برای جلوگیری از حساسیت دهان به مواد غذایی باید کمتر از ۱۰۰ میکرومتر باشد همچنین به‌منظور حفظ یکپارچگی محصول، توزیع اندازه ذرات نیز باید محدود باشد (Kaushik et al., 2015). جعفرپور و همکاران (۱۳۹۵) در مطالعه خود توسط مواد پلیمری ژلاتین و صمغ عربی و با استفاده از روش کوآسرواسیون ترکیبی نانوذرات حاوی امگا-۳ را تولید و با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM) بهینه‌سازی کردند. نتایج نشان دادند، در تیمارهایی که غلظت ژلاتین ثابت بود با افزایش غلظت اسیدهای چرب امگا-۳ و هم‌زمان افزایش سرعت هموژنایزر سایز ذرات افزایش یافت که با مطالعه حاضر مطابقت داشت. Xiao و همکاران (۲۰۱۴) ویژگی‌های میکروپوشینه‌های چندهسته‌ای روغن اسطوخودوس با

بحث و نتایج

تهیه یک امولسیون پایدار با ویژگی‌های مناسب مهم‌ترین مرحله پیش از فرایند ریزپوشانی است (Hosseini et al., 2017). در بعضی از مطالعه‌های گزارش‌شده که نوع ماده دیواره بر اندازه ذرات تأثیرگذار است (Jafari et al., 2008; Choi et al., 2010)، در پژوهش حاضر غلظت مواد دیواره تأثیری در اندازه ذرات نداشتند، اما درصد روغن ماهی و سرعت هموژنایزر بر تغییرات اندازه ذرات مؤثر بودند، به‌طوری‌که افزایش درصد روغن ماهی و سرعت هموژنایزر در دو تیمار ۶ (مرکزی) و ۱۱ (غیربهینه) سبب افزایش اندازه ذرات شده است. بزرگ‌تر شدن اندازه ذرات در سرعت بالای هموژنایزر احتمالاً به‌دلیل به‌وجود آمدن پدیده پیوند مجدد ذرات امولسیون^۱ می‌باشد. هنگامی که ذرات درون امولسیون تحت تلاطم با شدت بالا قرار می‌گیرند، در اثر برخورد بین ذرات تمایل به پیوند مجدد بین آنها به‌وجود می‌آید (Jafari et al., 2008). اندازه ذرات

¹ Re-coalescence

زتا نامیده می‌شود. پتانسیل زتا بهترین شاخص برای تعیین وضعیت الکتریکی سطح ذرات است چراکه نشان‌دهنده میزان تجمع بار در لایه غیرمتحرک و شدت جذب یون‌های مخالف روی سطح ذره است و بنابراین بار ذرات برحسب پتانسیل زتا گزارش می‌شود. بالابودن پتانسیل زتای ذرات کلئیدی موجب بالارفتن نیروی دافعه الکترواستاتیک و در نتیجه افزایش پایداری فیزیکی سیستم می‌شود. عوامل مختلفی از جمله قدرت یونی، نوع و غلظت بیوپلیمرهای پلی‌ساکاریدی و پروتئینی مورد استفاده و نسبت بین آنها روی میزان بار سطحی و پتانسیل زتا کمپلکس حاصل مؤثر است. طبق نتایج به دست آمده در هر سه تیمار انتخابی، میزان پتانسیل زتا در خارج از محدوده ± 30 میلی‌ولت بود بنابراین امولسیون‌ها از لحاظ بار سطحی میکروپوشینه‌ها در محیط آبی شرایط مناسبی را نشان داده‌اند (García-Moreno *et al.*, 2016). همکاران (۲۰۱۳) اثر مخلوط پروتئین آب‌پنیر و صمغ دانه مرو را بررسی کردند. نتایج نشان داد در حضور ۰/۱ درصد صمغ بار منفی ذرات امولسیون افزایش یافته که دلیل آن تجمع بار منفی بیشتر در امولسیون است.

در مطالعه حاضر میزان روغن سطحی در مقادیر ۰/۳ تا ۱۳/۸۸ (گرم در ۱۰۰ گرم نانوپوشینه) در تیمارهای مختلف به دست آمد باتوجه به آنالیزهای آماری صورت گرفته درصد روغن ماهی بیشتری تأثیر را بر تغییرات پاسخ روغن سطحی نشان داده است، در این پژوهش تیمارهایی که در آنها از روغن بیشتری جهت تهیه امولسیون استفاده شده بود در مقایسه با تیمارهای با درصد کمتر روغن، میزان بیشتری روغن در سطح ذرات حضور داشت. نتایج حاصل از بررسی روغن سطحی و کارایی ریزپوشانی در این مطالعه با نتایج حاصل از مطالعه شریفی (۱۳۹۵) مطابقت داشت. در مطالعه آنها روغن ماهی و اسانس میخک در کوآسروای حاصل از برهم‌کنش بین ژلاتین ماهی و صمغ عربی درون‌پوشانی شد، مطابق با نتایج، روغن سطحی با افزایش درصد روغن در سطح نانوپوشینه‌ها افزایش و کارایی ریزپوشانی کاهش یافت. در این مطالعه میزان کارایی ریزپوشانی بین ۶۵ تا ۹۸ درصد اندازه‌گیری شد. همچنین Liu و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعه خود ریزپوشانی روغن بذر کتان را با استفاده از ژلاتین و صمغ عربی بررسی کردند، طبق مشاهده مقدار روغن پوشینه‌نشده با افزایش غلظت بیوپلیمرها از ۱ به ۲

استفاده از کوآسرواسیون ترکیبی مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه با افزایش نسبت هسته به مواد دیواره و افزایش سرعت هم‌وزن‌ایز میانگین اندازه ذرات افزایش یافت. حسینی و همکاران (۲۰۱۳) در پژوهش خود با روش دومرحله‌ای ریزپوشانی نانوذرات اسانس پونه‌کوهی در کیتوزان را در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان دادند میانگین اندازه نانوذرات کیتوزان و نانوذرات اسانس پونه‌کوهی بارگیری شده در کیتوزان در محدوده بین ۴۰ تا ۸۰ نانومتر قرار دارند. اندازه نانوذرات کیتوزان کوچک‌تر از نانوذرات اسانس پونه‌کوهی می‌باشد که ناشی از بارگیری اسانس پونه‌کوهی در نانوذرات کیتوزان بود.

محاسبه شاخص اسپان یکی از روش‌های رایج برای بیان دامنه توزیع اندازه ذرات است. پایین بودن این شاخص نشان‌دهنده توزیع یکنواخت و بالابودن آن بیان‌گر عدم یکنواختی در توزیع اندازه ذرات است (علی‌پور و همکاران، ۱۳۹۴). در مطالعه حاضر کمترین شاخص اسپان مربوط به تیمار ۶ (مرکزی) می‌باشد، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت توزیع اندازه ذرات در تیمار ۶ نسبت به تیمار ۱۱ (بهینه) و ۱۰ (غیربهینه) از یکنواختی بیشتری برخوردار است. به منظور بررسی پایداری امولسیون سطح ویژه اندازه ذرات مورد بررسی قرار گرفت. افزایش سطح ویژه ذرات نشان‌دهنده افزایش ثبات امولسیون است که هرچه این عدد بزرگ‌تر باشد، پایداری امولسیون بیشتر است (علی‌پور و همکاران، ۱۳۹۴). نتایج نشان داد تیمار ۶ (مرکزی) با داشتن بیشترین میزان سطح ویژه (۰/۱ میلی‌متر مربع بر میلی‌لیتر) نسبت به ۲ تیمار دیگر، از پایداری بیشتری برخوردار می‌باشد. Zhang و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه خود روغن‌زیتون را از طریق مواد دیواره‌ای ژلاتین و صمغ عربی با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM) مورد بررسی قرار دادند. در مطالعه آنها عدد اسپان در محدوده ۱/۵۶ تا ۲/۵۹ اندازه‌گیری شد. باتوجه به اندیس P عدد اسپان تحت تأثیر غلظت روغن‌زیتون و بیوپلیمر کل قرار داشت. نتایج نشان دادند در حضور میزان بالای بیوپلیمر یا میزان کمتری روغن‌زیتون به دلیل توانایی امولسیفایری بیشتر، قطره‌های امولسیونی پایدار و یکنواخت تشکیل شده است. در یک سیستم کلئیدی، اختلاف پتانسیل بین لایه‌های یونی غیرمتحرک (لایه استرن) و لایه متحرک (لایه انتشار) در اتمسفر یونی اطراف ذرات باردار، پتانسیل

در مطالعه Wang و همکاران (۲۰۱۴) بالاترین عملکرد کوآسرواسیون ترکیبی در $\text{pH}=4/7$ و در یک ژلاتین با نسبت ۱:۱۵ به هگزامتافسفات سدیم به دست آمد که تحت این شرایط بهینه، میزان کارایی ریزپوشانی ۹۸/۵۶ درصد اندازه گیری شد.

نتیجه گیری

هدف از این پژوهش ریزپوشانی همزمان روغن ماهی و ویتامین E به منظور غنی سازی نانوپوشینه ها در ماتریس پلیمری ژلاتین و صمغ عربی با استفاده از روش کوآسرواسیون ترکیبی بود. بررسی نتایج نشان دادند سرعت هموزنایزر و درصد روغن ماهی در میانگین اندازه ذرات مؤثرند. ریزپوشانی روغن ماهی و ویتامین E با استفاده از روش کوآسرواسیون ترکیبی در ماتریس پلیمری ژلاتین و صمغ عربی قادر است ذراتی در اندازه نانو تولید کند. همچنین آنالیز آماری نتایج نشان داده است که با استفاده از مقادیر بهینه متغیرهای آزمایشی، ۱ درصد روغن ماهی، ۱ درصد بیوپلیمر کل و سرعت هموزنایزر ۷۰۰۰ دور در دقیقه می توان نانوذراتی مطلوب با کمترین روغن سطحی و بیشترین میزان کارایی ریزپوشانی تولید کرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله بر خود لازم می دانند از تلاش و همکاری صمیمانه سرکار خانم مهندس مهرابی و سرکار خانم مهندس شریفی در راهنمایی انجام فعالیت های آزمایشگاهی و آقای مهندس امیرحسین یادگاری نائینی در آموزش نرم افزار آماری این پژوهش تشکر و قدردانی به عمل آورند.

درصد افزایش یافته است. در این مطالعه میکروپوشینه های ژلاتین - صمغ عربی با نسبت ۱:۱ هسته به دیواره تولید شدند و کارایی ریزپوشانی در این پودرها ۸۴ درصد گزارش شد. فاکتور اصلی اثرگذار بر کارایی ریزپوشانی میکروپوشینه سازی روغن ها و طعم ها، نوع مواد دیواره، ویژگی مواد هسته (غلظت و فراریت)، ویژگی امولسیون (مواد جامد کل، ویسکوزیته و اندازه ذرات) و شرایط خشک شدن می باشد؛ بنابراین بهینه سازی فرایند خشک کردن دارای اهمیت است (Jafari et al., 2008). در سال های اخیر به مطالعه هایی که با هدف بهبود کارایی ریزپوشانی در جهت خشک کردن طعم ها و روغن های غذایی انجام شده، توجه ویژه ای شده است. این بهبود از طریق به حداقل رساندن مقدار روغن پوشینه نشده ای که در سطح ذرات حضور دارد صورت می گیرد که در نتیجه از اکسیداسیون چربی و ازدست رفتن فراریت جلوگیری کرده و سبب افزایش عمر مفید محصول می شود (Mehrad et al., 2015). در مطالعه حاضر میزان کارایی ریزپوشانی در تیمارهای مختلف بین ۵۶/۲۹ تا ۹۸/۷۶ درصد اندازه گیری شد که مطابق با آنالیزهای آماری انجام شده درصد روغن ماهی بیشترین تأثیر را بر تغییرات این سطح پاسخ نشان داده است، به طوری که با افزایش درصد روغن ماهی و کاهش درصد بیوپلیمر کل میزان کارایی ریزپوشانی کاهش یافت. در مطالعه Karaca و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی ویژگی های فیزیکیوشیمیایی روغن بذر کتان ریزپوشانی شده با استفاده از مواد پروتئینی و مالتودکسترین مشاهده شد، با افزایش درصد روغن بذر کتان در امولسیون از ۵/۳ تا ۲۱ درصد میزان کارایی ریزپوشانی از ۸۹ تا ۵۳ درصد کاهش یافت. در این مطالعه میزان کارایی ریزپوشانی از ۴۶/۲ تا ۹۲/۱ درصد قرار داشت.

منابع

- بحرانی، س.، محمدحسینی، ز.، قنبرزاده، ب. و همیشه کار، ح. ۱۳۹۲. بررسی اثر pH بر اندازه ذرات، پایداری و کارایی کپسولاسیون نانو کمپلکس بیوپلیمری کازئین-پکتین حاوی امگا-۳. بیست و یکمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی، ۷-۹ آبان ماه، شیراز.
- پورعاشوری، پ. ۱۳۹۱. بررسی خصوصیات فیزیکیوشیمیایی و پایداری اکسایش میکروکپسول های حاوی روغن ماهی و امگا-۳. پایان نامه دکتری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.
- جعفرپور، س.ع.، اصفهانی، ر. و جعفری، س.م. ۱۳۹۵. بررسی نانو ریزپوشانی اسیدچرب امگا-۳ به وسیله ژلاتین ماهی و صمغ عربی با استفاده از روش کوآسرواسیون. مجله علمی شیلات ایران، ۲۵(۲): ۴۲-۲۹.

- حسینی، ش.، صادقی ماهونک، ع.، جعفری س.م.، قربانی، م. و سلیمی، آ. ۱۳۹۵. بهینه‌سازی تولید امولسیون روغن پست پرتقال-موسیلاژ دانه به با استفاده از RSM و بررسی پایداری پودر ریزپوشانی‌شده حاصل. علوم و صنایع غذایی ایران، ۱۳(۵۹):۱۸۰-۱۷۱.
- شریفی، ا. ۱۳۹۵. میکروکپسول کردن روغن ماهی و اسانس میخک از طریق روش کواسرواسیون با استفاده از ژلاتین ماهی و صمغ عربی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.
- عزیزانباری، چ.، قنبرزاده، ب.، همیشه کار، ح. و حسینی، م.ی. ۱۳۹۲. نانوکمپلکس‌های ژلان - کازئینات به‌عنوان حامل اسیدهای چرب امگا-۳: بررسی اندازه ذرات، رئولوژی و کارایی انکپسولاسیون. نشریه فرآوری و نگهداری مواد غذایی، ۵(۲):۴۲-۱۹.
- علی‌پور، آ.، کوچکی، آ.، کدخدایی، ر. و وریدی، م. ۱۳۹۴. بررسی اثر صمغ قدومه شیرازی-پروتئین آب‌پنیر تغلیظ شده بر پایداری امولسیون روغن ذرت در آب. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۱۲(۴۸):۱۷۱-۱۶۳.
- قربانی حسن‌سرای، آ.، شهیدی، ف.، بهادر قدوسی، ح.، معتمدزادگان، ع. و وریدی، ع. ۱۳۹۱. قابلیت‌های منابع مختلف اسیدهای چرب امگا-۳ در غنی‌سازی مواد غذایی. دومین سمینار ملی امنیت غذایی، ۲۶ و ۲۷ مهرماه، ساری.
- Arab-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*, 25:24-33.
- Aziz, S., Gill, J., Dutilleul, P., Neufeld, R., & Kermasha, S. 2014. Microencapsulation of krill oil using complex coacervation. *Journal of Microencapsulation*, 31:774-784.
- Chang, P.-S., Lee, J., Lee, & J.L.J. 2005. Development of a new colorimetric method determining the yield of microencapsulation of α -tocopherol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:7385-7389.
- Choi, M.-J., Ruktanonchai, U., Min, S.-G., Chun, J.-Y., & Soottitantawat, A. 2010. Physical characteristics of fish oil encapsulated by β -cyclodextrin using an aggregation method or polycaprolactone using an emulsion-diffusion method. *Food Chemistry*, 119:1694-1703.
- García-Moreno, P.J., Guadix, A., Guadix, E.M., & Jacobsen, C. 2016. Physical and oxidative stability of fish oil-in-water emulsions stabilized with fish protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 203:124-135.
- Garg, M., Wood, L., Singh, H., & Moughan, P. 2006. Means of delivering recommended levels of long chain n-3 polyunsaturated fatty acids in human diets. *Journal of Food Science*, 71(5):R66-71.
- Hogan, S.A., McNamee, B.F., O'Riordan, E.D., & O'Sullivan, M. 2001. Emulsification and microencapsulation properties of sodium caseinate/carbohydrate blends. *International Dairy Journal*, 11(3):137-144.
- Hosseini, S.F., Zandi, M., Rezaei, M., & Farahmandghavi, F. 2013. Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: preparation, characterization and in vitro release study. *Carbohydrate Polymers*, 95:50-56.
- Jafari, S.M., Assadpoor, E., Bhandari, B., & He, Y. 2008. Nano-particle encapsulation of fish oil by spray drying. *Food Research International*, 41:172-183.
- Karaca, A.C., Nickerson, M., & Low, N.H. 2013. Microcapsule production employing chickpea or lentil protein isolates and maltodextrin: Physicochemical properties and oxidative protection of encapsulated flaxseed oil. *Food Chemistry*, 139:448-457.
- Kaushik, P., Dowling, K., Barrow, C.J., & Adhikari, B. 2015. Microencapsulation of omega-3 fatty acids: A review of microencapsulation and characterization methods. *Journal of Functional Foods*, 19:868-881.
- Klinkesorn, U., Sophanodora, P., Chinachoti, P., Decker, E.A., & McClements, D.J. 2006. Characterization of spray-dried tuna oil emulsified in two-layered interfacial membranes prepared using electrostatic layer-by-layer deposition. *Food Research International*, 39:449-457.
- Lin, C.-Y., & Lin, B.-Y. 2015. Fatty acid characteristics of isochrysis galbana lipids extracted using a microwave-assisted method. *Energies*, 8:1154-1165.
- Liu, S., Low, N., & Nickerson, M.T. 2010. Entrapment of flaxseed oil within gelatin-gum arabic capsules. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87:809-815.

- Mehrad, B., Shabanpour, B., Jafari, S., & Pourashouri, P. 2015. Characterization of dried fish oil from Menhaden encapsulated by spray drying. *AAFL Bioflux*, 8:57-69.
- Mohammadzadeh, H., Koocheki, A., Kadkhodae, R., & Razavi, S.M. 2013. Physical and flow properties of d-limonene-in-water emulsions stabilized with whey protein concentrate and wild sage (*Salvia macrosiphon*) seed gum. *Food Research International*, 53:312-318.
- Wang, B., Adhikari, B., & Barrow, C.J. 2014. Optimisation of the microencapsulation of tuna oil in gelatin–sodium hexametaphosphate using complex coacervation. *Food Chemistry*, 158:358-365.
- Xiao, Z., Liu, W., Zhu, G., Zhou, R., & Niu, Y. 2014. Production and characterization of multinuclear microcapsules encapsulating lavender oil by complex coacervation. *Flavour and Fragrance Journal*, 29:166-172.
- Zhang, K., Zhang, H., Hu, X., Bao, S., & Huang, H. 2012. Synthesis and release studies of microalgal oil-containing microcapsules prepared by complex coacervation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 89:61-66.
- Zhang, Z.-Q., Pan, C.-H., & Chung, D. 2011. Tannic acid cross-linked gelatin–gum arabic coacervate microspheres for sustained release of allyl isothiocyanate: characterization and in vitro release study. *Food Research International*, 44:1000-1007.
- Zuidam, N.J., & Shimoni, E. 2010. Overview of microencapsulates for use in food products or processes and methods to make them. P. 3-29. In: (Eds.), *Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing*, Springer.

Integrated Encapsulation of Fish Oil and Vitamin E with Complex Coaservation Technique and its Efficiency Optimization by Response Surface Method (RSM)

Fatemeh Mirzaei¹, Seyed Ali Jafarpour^{2*}

1- M.Sc. Student, Fisheries Department, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

2- Associate Professor, Fisheries Department, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

* Corresponding author (a.jafarpour@sanru.ac.ir)

Abstract

In this study, fish oil and vitamin E were nanoencapsulated using polymeric materials of gelatin and Arabic gum as wall materials applying complex coaservation technique and optimization process with the aid of the response surface method (RSM) in form of central composite design (CCD). The effects of the three independent variables including fish oil amount (1, 3 and 5%), biopolymer amount (1, 3 and 5%) and homogenizer speed (7000, 9000 and 11000 rpm) on dependent variables such as surface oil, encapsulated oil, encapsulation efficiency and particle size were investigated. The results showed that homogenization speed of 7000 rpm is not suitable for producing nanocapsules below 100 nm. In addition, the percentage of fish oil and the speed of homogenizer are effective on the size of the produced nanocapsules. Also, produced nanocapsules in treatments in which a higher percentage of oil was used compared to treatments with lower oil percentages, showed higher surface oil. The encapsulation efficiency was measured between 56.29% and 98.76%. In this research, optimum treatment was introduced as the one with 1% fish oil, 1% total biopolymer and 7000 rpm homogenizer speed in which its encapsulation efficiency was recorded as 97.97%.

Keywords: Complex Coaservation, Encapsulation, Fish Oil, Gelatin, Vitamin E