

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 تُن 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

اسیدهای چرب امگا-۳ از قبیل آلفا لینولنیک اسید^۱ (ALA) ایکوزاپنتانوئیک اسید^۲ (EPA) و دکوزاهگزانوئیک اسید^۳ (DHA) جزء اسیدهای چرب ضروری هستند و باید از طریق رژیم غذایی به‌دست آیند، با این حال 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

مخالف استفاده می‌شود این فناوری بهترین روش برای پایداری روغن‌های حاوی امگا-۳ در فرایند ریزپوشانی است (Kaushik, Dowling, Barrow, & Adhikari, 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, Zhang, Hu, Bao, & Huang, 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 Kermasha و Neufeld, Dutilleul, Gill, Aziz (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 ۱:۱/۷۵، pH=۳/۸، و سرعت هم‌زدن ۳ (از مقیاس ۱۰) می‌باشد. میزان کارایی ریزپوشانی بین ۴۵/۱۶ تا ۹۶/۹۲ درصد قرار داشت. در مطالعه Choi, Ruktanonchai, Min, Chun, و Soottitawat (۲۰۱۰) بتا-سیکلودکسترین و پلی‌کاپرولاکتون^۴ به‌عنوان مواد

(Ghorbani Hassan Sariei, Shahidi, Bahadorghousi, & Motamedzadegan, 2012). اسیدهای چرب امگا-۳ می‌توانند برای غنی‌سازی مواد غذایی کم‌چرب و یا تولید مواد غذایی فراسودمند مورد استفاده قرار گیرند. از آنجاکه این ترکیبات آب‌گریز بوده و عملاً در آب نامحلول هستند غنی‌سازی فراورده‌های غذایی و نوشیدنی‌های آبی با آن بسیار مشکل است. از طرف دیگر به‌دلیل داشتن پیوندهای غیراشباع به‌شدت به تخریب اکسیداتیو حساس می‌باشند به‌طوری‌که در اثر اکسیداسیون علاوه بر تولید عطر و طعم نامناسب اثرات سلامت‌بخشی آن نیز کاهش می‌یابد (Bahrani, Mohammad Hasani, Ghanbarzadeh, & Hamishekar, 2013). 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 به‌راحتی تخریب می‌شود. ریزپوشانی می‌تواند با تولید نانوپوشینه‌ها^۱ در صنعت غذا از طریق محافظت مواد هسته در برابر محیط آنها امتیازهایی فراهم آورد (Chang, Lee, & Lee, 2005). ریزپوشانی فرایندی است که در آن عناصر حساس یا مواد هسته در پلیمرهای محافظ یا مواد دیواره به‌عنوان عوامل پوشینه‌ساز به‌دام می‌افتند (Hogan, McNamee, O'Riordan, & O'Sullivan, 2001). مواد پوسته میکروپوشینه از هسته در برابر اثرات محیطی (اکسیژن، نور، رطوبت و غیره) محافظت می‌کند (Garg, Wood, Singh, & Moughan, 2006). طیف گسترده‌ای از فرایندهای مهندسی جهت ریزپوشانی مورد استفاده قرار می‌گیرند. نوع فرایند به‌کاررفته 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

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 ۱۸-۱۲ 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 هموژنایزر (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 آب مقطر در مقدار معین باتوجه‌به نوع تیمار اضافه و به مدت ۸ دقیقه با هموژنایزر 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 چندگانه روغن در آب آماده شد. امولسیون‌های تهیه‌شده به‌منظور بررسی اندازه 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

دیواره به‌منظور ریزپوشانی روغن ماهی مورد استفاده قرار گرفت. براساس مطالعه‌های قبلی، کپسوله‌کردن روغن ماهی در مواد دیواره بتا-سیکلودکسترین با نسبت ۲۰:۱۰ (روغن ماهی: بتا-سیکلودکسترین) بهترین ترکیب از لحاظ کارایی ریزپوشانی (۸۴/۱ درصد)، بارگیری روغن ماهی (۶۲/۷ درصد)، نشت روغن ماهی پس از خشک‌کردن انجمادی (۰/۱۱ درصد) را نشان داد. در مطالعهٔ Jafari و Esfahani Jafarpour (۲۰۱۶)، 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 هموژنایزر (۲۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۱۰۰۰ دور در دقیقه) بر سطوح پاسخ مختلف مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعهٔ حاضر از ویتامین E به‌منظور پایداری اکسایشی نانوذرات استفاده شد. Pourashouri (۲۰۱۲) 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 مطالعهٔ 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, Sophanodora, Chinachoti, Decker, & McClements, 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 ۳/۱۰۰ پروپانول 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, Low, & Nickerson, 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, Guadix, Guadix, & Jacobsen, 2016). میانگین قطر حجمی (میانگین حجم معادل) از رابطه (۱) محاسبه شد:

رابطه (۱)

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

در رابطه (۱)، $\sum n_i$: 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:

رابطه (۲)

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

در رابطه (۲)، $D(10\%)$ ، 50% و 90% درصد: قطری که حجم ذرات کوچکتر از آن به ترتیب 10% ، 50% و 90% 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:

رابطه (۳)

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

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	۱	۳	۵
بیوپلیمر کل (درصد)	B	۱	۳	۵
سرعت هموژنایزر (دور در دقیقه)	C	۷۰۰۰	۹۰۰۰	۱۱۰۰۰

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)

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

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 نانوپوشینه‌ها 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 به‌عنوان شاخص در نظر گرفته شد. آزمون آماری مدل به‌دست‌آمده برای هر پاسخ براساس آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) صورت گرفت. جهت طراحی آزمایش، آنالیز نتایج، رسم نمودارها و بهینه‌سازی از نرم‌افزار 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 $\beta_0, \beta_i, \beta_{ii}, \beta_{ij}$ و 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	۵۹/۲۰±۳۰/۴۰	۰/۱۰	۰/۴۱	-۳۶/۲۰±۱/۵۰
۱۰ (غیربهینه)	۵	۱	۱۱۰۰۰	۱۱۲/۱۰±۹/۳۰	۰/۰۵	۰/۴۷	-۴۹/۱۰±۳/۹۰

میانگین ± انحراف معیار

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 ($P < 0/05$).

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 به هم چسبیدن و کلوخه شدن 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)

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±۰/۵۵	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

تیمار	روغن ماهی (درصد)	بیوپلیمر کل (درصد)	سرعت هموزن‌نايزر (دور در دقیقه)	روغن سطحی (گرم/۱۰۰ گرم)	روغن پوشینه‌شده (گرم/۱۰۰ گرم)	کارایی ریزپوشانی (درصد)
۶	۳	۳	۹۰۰۰	۱/۳۶±۰/۲۰	۲۸/۹۴±۰/۴۰	۹۶/۱۳±۰/۱۰
۷	۳	۳	۷۰۰۰	۰/۹۲±۰/۰۴	۱۶/۱۷±۰/۰۶	۹۴/۵۸±۰/۰۶
۸	۳	۳	۹۰۰۰	۳/۱۸±۰/۱۰	۲۸/۲۹±۰/۸۰	۸۹/۵۳±۰/۰۶
۹	۵	۵	۷۰۰۰	۵/۳۰±۰/۱۰	۳۸/۰۳±۰/۰۷	۸۷/۷۶±۰/۰۴
۱۰	۵	۱	۱۱۰۰۰	۱۳/۸۸±۰/۰۷	۱۷/۶۰±۰/۰۵	۵۶/۲۹±۰/۰۲
۱۱	۱	۱	۷۰۰۰	۰/۳۰±۰/۰۱	۱۴/۷۷±۰/۰۹	۹۷/۹۷±۰/۰۶
۱۲	۱	۵	۱۱۰۰۰	۰/۲۵±۰/۰۰۵	۰۸/۴۴±۰/۰۲	۹۶/۰۹±۰/۰۵
۱۳	۳	۳	۹۰۰۰	۲/۸۵±۰/۰۳	۱۹/۱۱±۰/۰۷	۸۶/۹۹±۰/۰۵
۱۴	۱	۳	۹۰۰۰	۲/۴۸±۰/۰۱	۱۱/۵۲±۰/۰۴	۸۲/۲۶±۰/۰۳
۱۵	۳	۱	۹۰۰۰	۴/۸۸±۰/۰۳	۲۰/۵۲±۰/۰۲	۸۰/۷۶±۰/۰۲
۱۶	۳	۳	۹۰۰۰	۱/۶۸±۰/۰۲	۲۷/۶۸±۰/۰۳	۹۴/۲۵±۰/۰۹
۱۷	۳	۳	۱۱۰۰۰	۱/۴۰±۰/۰۱	۲۸/۰۸±۰/۰۲	۹۵/۲۵±۰/۰۶
۱۸	۵	۱	۷۰۰۰	۹/۶۳±۰/۰۴	۲۵/۴۰±۰/۰۸	۷۲/۴۹±۰/۰۲
۱۹	۳	۳	۹۰۰۰	۲/۴۵±۰/۰۴	۳۰/۷۴±۰/۰۷	۹۲/۶۲±۰/۰۱
۲۰	۱	۵	۷۰۰۰	۰/۹۰±۰/۰۱	۱۴/۴۷±۰/۰۲	۹۳/۵۸±۰/۰۸

جدول ۵- آنالیز واریانس پارامترهای اندازه‌گیری‌شده نانوپوشینه‌های تولیدی

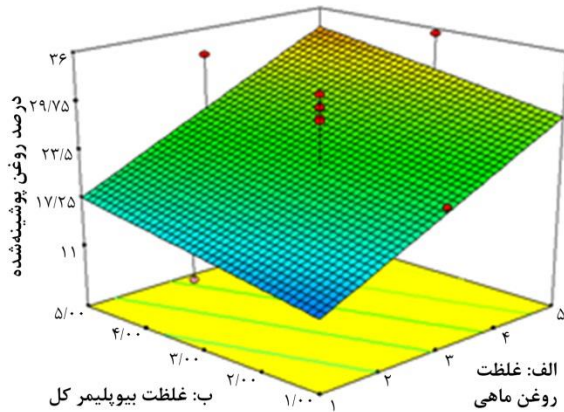
مدل‌ها (منبع)	روغن سطحی		روغن پوشینه‌شده		کارایی ریزپوشانی	
	مجموع مربعات	سطح احتمال	مجموع مربعات	سطح احتمال	مجموع مربعات	سطح احتمال
مدل	۱۱۴/۴۷	۰/۰۰۰۱	۷۸۲/۲۷	۰/۰۰۶۸	۱۶۶۰/۹۷	۰/۰۰۶۵
A	۳۴/۰۳	۰/۰۰۰۱	۶۳۳/۵۸	۰/۰۰۱۷	۶۹۷/۸۱	۰/۰۰۱۰
B	۳۴/۰۳	۰/۰۰۰۳	۷۶/۳۹	۰/۲۰۹۲	۲۷۶/۵۲	۰/۰۱۶۱
C	۰/۴۴	۰/۵۵۷۱	۷۲/۳۰	۰/۲۲۱۲	۱۸/۹۵	۰/۴۶۶۸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

خود به‌کار رود. با افزایش درصد روغن ماهی و کاهش درصد بیوپلیمر کل میزان روغن سطحی نانوذرات افزایش‌یافته است.

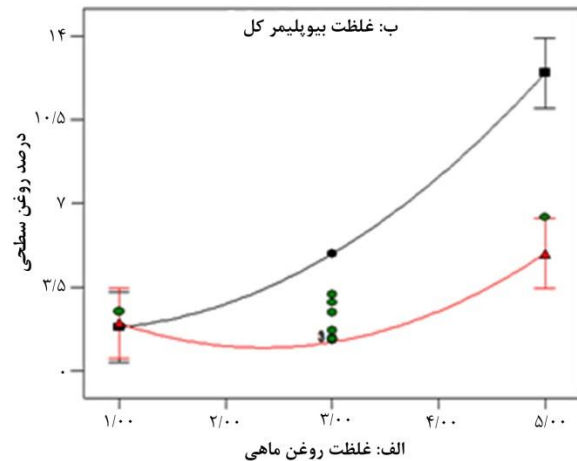
معنی‌دار بودن اثرات خطی، متقابل و درجه‌دو متغیرها بر پاسخ روغن سطحی به‌خوبی در مدل به‌دست‌آمده جدول (۶) مشهود است. شکل (۱) نمودار اثر متقابل متغیرهای روغن ماهی و بیوپلیمر کل بر تغییرات روغن سطحی نانوپوشینه تولیدی را نشان داده است. طبق نمودار کمترین میزان روغن سطحی نانوپوشینه تولیدی زمانی مشاهده می‌شود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

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

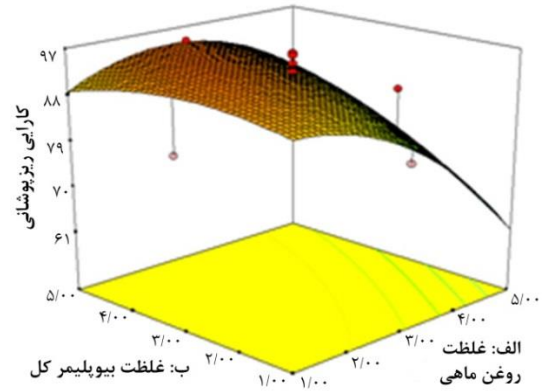
مقادیر کارایی ریزپوشانی در جدول (۴) آورده شده است. نتایج حاصل از آنالیز واریانس (جدول ۵) پاسخ کارایی نشان داده است، دو پارامتر درصد روغن ماهی ($P < 0/01$) و درصد بیوپلیمر کل ($P < 0/05$) بر میزان تغییرات کارایی ریزپوشانی به‌صورت خطی مؤثر می‌باشند، نتایج آماری نشان داد که پارامتر خطی درصد روغن ماهی بیشترین 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.

بحث و نتایج

تهیه یک امولسیون پایدار با ویژگی‌های مناسب مهم‌ترین مرحله پیش از فرایند ریزپوشانی است (Hosseini, Sadeghi-Mahoonak, Jafari, Ghorbani, & Salimi, 2016). در بعضی از مطالعه‌های گزارش شده که نوع ماده دیواره بر اندازه ذرات تأثیرگذار است (Choi *et al.*, 2010; Jafari, Assadpoor, Bhandari, & He, 2008). در پژوهش حاضر غلظت مواد دیواره تأثیری در اندازه ذرات نداشتند، اما درصد روغن ماهی و سرعت هموژنایزر بر تغییرات اندازه ذرات مؤثر بودند، به طوری که افزایش درصد روغن ماهی و سرعت هموژنایزر در دو تیمار ۶ (مرکزی) و ۱۱ (غیربینه) سبب افزایش اندازه ذرات شده است. بزرگ‌تر شدن اندازه ذرات در سرعت بالای هموژنایزر احتمالاً به دلیل به وجود آمدن پدیده پیوند مجدد ذرات امولسیون^{۲۲} می‌باشد. هنگامی که ذرات درون امولسیون تحت تلاطم با شدت بالا قرار می‌گیرند، در اثر برخورد بین ذرات تمایل به پیوند مجدد بین آنها به وجود می‌آید (Jafari *et al.*, 2008). اندازه ذرات و توزیع آنها، نقش مهمی در ویژگی‌های فیزیکی سیستم‌های کلوئیدی مانند پایداری در طی نگهداری، کدورت و ویژگی‌های رئولوژیکی دارد (Azizanbari, Ghanbarzadeh, Hamishekar, & Hosseini, 2013). اندازه میکروپوشینه‌ها به منظور کاربردهای غذایی برای جلوگیری از حساسیت دهان به مواد غذایی باید کمتر از ۱۰۰ میکرومتر باشد همچنین به منظور حفظ یکپارچگی محصول، توزیع اندازه ذرات نیز باید محدود باشد (Kaushik *et al.*, 2015). Jafarpour همکاران (۲۰۱۶) 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. Niu و Zhou, Zhu, Liu, Xiao (۲۰۱۴) ویژگی‌های میکروپوشینه‌های چند هسته‌ای روغن اسطوخودوس با استفاده از کوآسرواسیون ترکیبی مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه با افزایش نسبت هسته به مواد دیواره و افزایش سرعت هموژنایزر میانگین



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 به دست آمده و برازش داده شده در تمامی سطح پاسخ‌های مورد بررسی در آزمایش (متغیرهای وابسته)، صحت مدل از ضریب تبیین (R^2) و ضریب تبیین اصلاح شده بالا برخوردار بود. مقادیر ضریب تبیین (R^2) به عنوان درجه‌ای از تناسب برازش برای تمامی مدل‌های ارائه شده 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 به دست آمده با روش تجربی و مقادیر پیش‌بینی شده 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 به منظور تولید نانوپوشینه‌های تولیدی، ۱ درصد روغن ماهی، ۱ درصد بیوپلیمرکل و سرعت هموژنایزر ۷۰۰۰ دور در دقیقه در نظر گرفته است. باتوجه به مقادیر ذکر شده در جدول (۷)، نتایج به دست آمده در شرایط آزمایشگاهی برای هر پاسخ نزدیک به مقادیر پیش‌بینی شده توسط نرم‌افزار می‌باشد.

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

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

²² Re-coalescence

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). Razavi و Kadkhodae, Koocheki, Mohammadzadeh (2013) 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 Sharifi (2016) 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 (2010) 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

اندازه ذرات افزایش یافت. Rezaei, Zandi, Hosseini و Farahmandghavi (2013) در پژوهش خود با روش دومرحله‌ای ریزپوشانی نانوذرات اسانس پونه‌کوهی در کیتوزان را در شرایط آزمایشگاهی موردبررسی 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. پایین‌بودن این شاخص نشان‌دهنده توزیع یکنواخت و بالابودن آن بیان‌گر عدم یکنواختی در توزیع اندازه ذرات است (Alipour, Kocheiki, Kadkhodai, & Varidi, 2015). 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. به‌منظور بررسی پایداری امولسیون سطح ویژه اندازه ذرات موردبررسی قرار گرفت. افزایش سطح ویژه ذرات نشان‌دهنده افزایش ثبات امولسیون است که هرچه این عدد بزرگ‌تر باشد، پایداری امولسیون بیشتر است (Alipour *et al.*, 2015). 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, Pan و Chung (2011) در مطالعه خود روغن‌زیتون را از طریق مواد دیواره‌ای ژلاتین و صمغ عربی با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM) موردبررسی قرار دادند. در مطالعه آنها عدد اسپان در محدوده ۱/۵۶ تا ۲/۵۹ اندازه‌گیری شد. باتوجه به اندیس P عدد اسپان تحت‌تأثیر 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 زتا نامیده می‌شود. پتانسیل زتا بهترین شاخص برای

در مطالعه Wang, Adhikari و Barrow (۲۰۱۴) بالاترین عملکرد کوآسرواسیون ترکیبی در pH=۴/۷ 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 غنی‌سازی نانوپوشینه‌ها در ماتریس پلیمری ژلاتین و صمغ عربی با استفاده از روش کوآسرواسیون ترکیبی بود. بررسی نتایج نشان دادند سرعت هم‌وزن‌ایز 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 هم‌وزن‌ایز ۷۰۰۰ دور در دقیقه می‌توان نانوذراتی مطلوب با کمترین روغن سطحی و بیشترین میزان کارایی ریزپوشانی تولید کرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند از تلاش و همکاری صمیمانه سرکار خانم مهندس مهرابی و سرکار خانم مهندس شریفی در راهنمایی انجام فعالیت‌های آزمایشگاهی و آقای مهندس امیرحسین یادگاری نائینی در آموزش نرم‌افزار آماری این پژوهش تشکر و قدردانی به عمل آورند.

درصد افزایش یافته است. در این مطالعه میکروپوشینه‌های 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 میکروپوشینه‌سازی روغن‌ها و طعم‌ها، نوع مواد دیواره، ویژگی مواد هسته (غلظت و فراریت)، ویژگی امولسیون (مواد جامد کل، ویسکوزیته و اندازه ذرات) و شرایط خشک‌شدن می‌باشد؛ بنابراین بهینه‌سازی فرایند خشک‌کردن دارای اهمیت است (Jafari et al., 2008). در سال‌های اخیر به مطالعه‌هایی که با هدف بهبود کارایی ریزپوشانی در جهت خشک‌کردن طعم‌ها و روغن‌های غذایی انجام شده، توجه ویژه‌ای شده است. این بهبود از طریق به حداقل رساندن مقدار روغن پوشینه‌نشده‌ای که در سطح ذرات حضور دارد صورت می‌گیرد که در نتیجه از اکسیداسیون چربی و ازدست‌رفتن فراریت جلوگیری کرده و سبب افزایش عمر مفید محصول می‌شود (Mehrad, Shabanpour, Jafari, & Pourashouri, 2015). در مطالعه حاضر میزان کارایی ریزپوشانی در تیمارهای مختلف بین ۵۶/۲۹ تا ۹۸/۷۶ درصد اندازه‌گیری 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, Nickerson, و Low (۲۰۱۳) در بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی 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

- Alipour, A., Kochehi, A., Kadkhoda i, R., & Varidi, M. (2015). The effect of Alyssum homolocarpum seed gum-whey protein concentrate on stability of oil-in-water emulsion. *Food Science and Technology*, 12(48), 163-174. (in Persian)
- 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(1), 24-33. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.12.002>

- Aziz, S., Gill, J., Dutilleul, P., Neufeld, R., & Kermasha, S. (2014). Microencapsulation of krill oil using complex coacervation. *Journal of Microencapsulation*, 31(8), 774-784. doi:<https://doi.org/10.3109/02652048.2014.932028>
- Azizanbari, C., Ghanbarzadeh, B., Hamishekar, h., & Hosseini, M. (2013). Gelan-Caseinate Nanocomplexes as Carriers of Omega-3 Fatty Acids: investigation of Particle Size, Rheology and Encapsulation Efficiency. *Journal of Technology and Food Preservation*, 5(2), 19-42 (in Persian).
- Bahrani, S., Mohammad Hasani, Z., Ghanbarzadeh, B., & Hamishekar, H. (2013, October). *Investigating the effect of pH on particle size, stability and capsulation efficiency of bio polymer nano-complexes of casein-pectin containing omega-3*. Paper presented at the 21st National Congress of Food Science and Technology, Shiraz University. (in Persian). http://www.civilica.com/Paper-NCFOODI21-NCFOODI21_926
- 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(19), 7385-7389. doi:<https://doi.org/10.1021/jf051015p>
- 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(4), 1694-1703. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.052>
- 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. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.073>
- 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-R71. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00033.x>
- Ghorbani Hassan Sariei, A., Shahidi, F., Bahadorghousi, H., & Motamedzadegan, A. (2012, October). *Potentials of different omega-3 fatty acids in food enrichments*. Paper presented at the 2nd Food Security Conference, Islamic Azad University, Savadkuh Branch. (in Persian) https://www.civilica.com/Paper-FSS02-FSS02_320.html
- 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. doi:[https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00091-7](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00091-7)
- Hosseini, S., Sadeghi-Mahoonak, A., Jafari, S. m., Ghorbani, M., & Salimi, A. (2016). Optimization of Emulsion of Orange Skin Oil - Mucilage of Grain by Using RSM and Investigating the Stability of obtained microencapsulated Powder. *Journal of Food Science & Technology*, 13(59), 171-180 (in Persian).
- 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(1), 50-56. doi:<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.02.031>
- 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. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.11.002>
- Jafarpour, S. A., Esfahani, R., & Jafari, S. M. (2016). Efficiency evaluation of nanoencapsulation of omega-3 fatty acids with gelatin-Arabic gum complex using coaservation technique. *Scientefic Journal of Iranian Fisheries*, 25(2), 29-42 (in Persian).
- 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(1-4), 448-457. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.040>
- 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. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.06.029>
- 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(4), 449-457. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.09.008>

- Lin, C.-Y., & Lin, B.-Y. (2015). Fatty acid characteristics of isochrysis galbana lipids extracted using a microwave-assisted method. *Energies*, 8(2), 1154-1165. doi:<https://doi.org/10.3390/en8021154>
- 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(7), 809-815. doi:<https://doi.org/10.1007/s11746-010-1560-7>
- Mehrad, B., Shabanpour, B., Jafari, S. M., & Pourashouri, P. (2015). Characterization of dried fish oil from Menhaden encapsulated by spray drying. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 8(1), 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(1), 312-318. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.04.028>
- Pourashouri, p. (2012). *Evaluation of the physicochemical and oxidative stability of microcapsules containing oil fish and omega-3*. (Unpublished doctoral dissertation), Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources (in Persian),
- Sharifi, A. (2016). *Microcapsulations of fish oil and clove oil via coaservation method by using gelatin of fish and gum Arabic*. (Unpublished master's thesis), Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, (in Persian)
- 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. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.135>
- 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(3), 166-172. doi:<https://doi.org/10.1002/ffj.3192>
- 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. doi:<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.08.023>
- 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(4), 1000-1007. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.044>
- Zuidam, N. J., & Shimoni, E. (2010). Overview of microencapsulates for use in food products or processes and methods to make them. In Zuidam, N., & Nedovic, V. (Eds.), *Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing* (pp. 3-29): Springer, New York, NY.

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