

خصوصیات مکانیکی، رئولوژیکی و رهایشی میکروژل‌های آلژینات-پروتئین آب‌پنیر حاوی ریبوفلاوین و بیوتین

محسن زندی

استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
* نویسنده مسئول (Zandi@znu.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۴/۰۲

چکیده

واژه‌های کلیدی

اندازه ذرات

رفتار جریان

رهایش

میکروژل

ویتامین B

امروزه استفاده از ژل‌های با رفتاری شبیه مایع و به شکل سوسپانسیون‌های قابل جذب به‌عنوان حامل‌های مناسب برای تحویل دهانی یا گوارشی ترکیبات زیست‌فعال و عطر و طعم بسیار رایج گردیده است؛ در این پژوهش میکروکپسول آلژینات-پروتئین آب‌پنیر حامل ویتامین تولیدشده در پژوهش پیشین این گروه تحقیقاتی، از نظر خصوصیات مکانیکی، رئولوژیکی و انتشاری مورد بررسی قرار گرفت تا بتوان آن را به‌عنوان یک میکروحامل جدید معرفی نمود. نتایج این تحقیق نشان داد که متوسط اندازه میکروکپسول به‌عنوان تابعی از روش امولسیون‌سازی (التراسوند یا هم‌زدن)، میزان آلژینات (۲ یا ۴ درصد) و پروتئین آب‌پنیر (۶ یا ۱۰ درصد) است و با افزایش غلظت آلژینات و پروتئین آب‌پنیر و نیز با استفاده از روش التراسوند، میکروکپسول کوچک‌تری تولید می‌گردد. با افزایش زمان نگهداری، اندازه ذرات میکروکپسول افزایش پیدا نمود ولی پایداری ریبوفلاوین و بیوتین طی ۳۰ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تغییر نکرد. با اعمال التراسوند از میزان نرمی بافتی کاسته‌شده ولی از طرف دیگر میزان محافظت از ترکیب ریزپوشانی‌شده افزایش پیدا نمود. نتایج اندازه‌گیری ویسکوزیته نشان‌دهنده رفتار سودوپلاستیک در این میکروژل‌ها بود. نتایج پیش‌بینی ضریب دیفوزیون نشان‌دهنده رهایش از نوع دیفوزیون بوده و اینکه این میکروکپسول برای محافظت عوامل زیست‌فعال در سیستم‌های گوارش قابل استفاده می‌باشد.

مقدمه

اصلاح‌شده از دغدغه‌های اصلی بسیاری از تکنولوژیست‌های غذایی در حوزه بافت غذایی است (Painter, Le Couteur, & Waite, 2017). به‌همین جهت مطالعه بافت غذاهای تولیدی به‌منظور تأمین نیازهای خاص شامل جویدن راحت، بلع آسان غذا و مواد مغذی کلیدی چالش بسیار مهمی است (Cichero, 2016). بافت می‌تواند روی رهایش طعم، عطر، تحویل و آزادسازی ترکیبات زیست‌فعال نیز تأثیر بگذارد (Leon, Aguilera, & Park, 2019). میکروژل‌های آلژینات-پروتئین آب‌پنیر با اندازه کمتر از ۱۰۰ میکرومتر

بافت از ویژگی‌های مهم در ارزیابی کیفیت مواد غذایی است و از عوامل مهم در پذیرش غذا توسط مصرف‌کنندگان است. با افزایش سن جمعیت جهانی و پیری جمعیت در جهان مسئله بافت و ویژگی‌های بافتی مواد غذایی تولیدشده دارای اهمیت فراوانی می‌گردد (Aguilera & Park, 2016). طبق آمار سازمان ملل تا سال ۲۰۵۰ نزدیک به ۴۰۰ میلیون نفر در سن ۸۰ سالگی یا بیشتر قرار خواهند داشت (DESA, 2015). از این‌رو، ایجاد غذاهایی با بافت نرم و غذاهای با بافت

O'Donnell & McGinity, 1997; Rosenberg & Lee, 2004; Zandi et al., 2014).

امروزه ژل‌هایی با رفتار شبیه مایع مانند میکروژل‌های نرم و مرطوب حاصل از پروتئین آب‌پنیر و آلژینات سدیم علاوه بر خواص ریزپوشانی بسیار عالی، به سبب خصوصیات خود باعث رفتار رئولوژیکی مواد غذایی شده و برای سالمندان و افراد دارای مشکلات گوارشی و بلع هم مناسب می‌باشد (Aguilera & Park, 2016; Leon, Medina, Park, & Aguilera, 2018). پروتئین آب‌پنیر به‌طور گسترده‌ای در کاربردهای مختلف غذایی به سبب خصوصیات کاربردی خود نظیر خاصیت امولسیون‌کنندگی، تشکیل ژل، غلیظ‌کنندگی، ایجاد کف و اتصال با آب مورد استفاده قرار می‌گیرد و علاوه بر این خصوصیات تغذیه‌ای و توانایی حمل مواد هیدروفوبیک نیز دارد (Abbasi, Samadi, Jafari, Ramezani, & Shams Shargh, 2019). آلژینات نیز پلیمری جالب به‌عنوان جزئی از شبکه‌ی تحویل محسوب‌شده که تشکیل ژل آن به راحتی در دمای اتاق و در حضور یون‌های کلسیم اتفاق می‌افتد. علاوه بر این ژل‌های آلژینات به‌عنوان حامل عوامل چربی‌دوست در محصولات دارویی و مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرند (Ching, Bansal, & Bhandari, 2015). از طرف دیگر، مخلوط محلول‌های آلژینات و پروتئین آب‌پنیر در حضور یون کلسیم در دمای اتاق، تشکیل ژلی با خواص فیزیکوشیمیایی بخصوص می‌دهد (Chen & Subirade, 2006; Zandi et al., 2014).

خانواده‌ی ویتامین‌های B دسته‌ای از ویتامین‌های محلول در آب بوده که نقش مهمی را در فرایند متابولیسم سلولی ایفا می‌نمایند. ویتامین B₂ یا ریبوفلاوین از ویتامین‌هایی است که در بسیاری از مواد غذایی موجود است (خصوصاً شیر و تخم‌مرغ) اما عوارض کمبود آن در جامعه فراوان است. این ویتامین پایداری نسبی در محیط داشته ولی در سیستم‌گوارش بخشی از آن از بین می‌رود. نقش اصلی ریبوفلاوین در متابولیسم‌های اصلی بدن بوده و کمبود آن سبب کم‌خونی، سردرد میگرنی، اختلالات چشم، اختلال عملکرد تیروئید و برخی از مشکلات دیگر می‌شود. بیوتین یا ویتامین B₇ یکی دیگر از ویتامین‌های محلول در آب گروه B بوده که با نام ویتامین H نیز شناخته می‌شود. این ویتامین، یک کوآنزیم است که در متابولیسم اسیدهای چرب، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای آمینه و همچنین سنتز ویتامین‌های B₆ و B₁₂ نقش دارد. بیوتین در غلات کامل، جگر، زرده تخم‌مرغ و شیر پیدا می‌شود. علائم کمبود بیوتین

(Zandi, Mohebbi, Varidi, & Ramezani, 2014) به سبب آنکه ذراتی کوچک و نرم بوده و در غلظت‌های پایین پلیمر عامل ژل، رفتاری شبیه مایع از خود بروز می‌دهند؛ نیز گزینه‌ی مناسبی برای اهدافی نظیر ریزپوشانی عوامل زیست‌فعال، عطر و طعم می‌باشد (Leon et al., 2019). میکروژل‌ها همچنین ابزار و جایگزینی مناسبی برای ایجاد خواص رئولوژیکی مورد نظر از طریق کنترل رئولوژیکی و تنظیم خواص فیزیکی مواد غذایی است (Leon, Medina, & Park, 2016). به‌طور کلی ساختار شکننده میکروژل‌ها سبب‌شده تا با ریزپوشانی عطر و طعم امکان رهاش سریع آنها در شرایط جویدن فراهم آید و یا علاوه بر محافظت و به‌دام‌انداختن ترکیبات زیست‌فعال، امکان رهاش این ترکیبات در شرایط مورد نظر ایجاد گردد (Chen & Subirade, 2006).

ریزپوشانی فرایند به‌دام‌انداختن ترکیبات فعال درون ماده‌ی حامل است که به‌عنوان وسیله‌ای مفید برای بهبود تحویل این ترکیبات فعال مطرح می‌باشد (Zandi & Mohebbi, 2014). این فرایند عبارت است از تشکیل یک پوشش مداوم اطراف ترکیبات جامد، مایع یا گاز به‌طوری‌که به‌صورت کامل پوشیده شده باشند. کپسول‌های حاصل از فرایند ریزپوشانی را معمولاً براساس اندازه‌ی ذرات‌شان طبقه‌بندی می‌کنند کپسول‌هایی با قطر متوسط کوچک‌تر از ۲۰۰ نانومتر را نانوکپسول، بین ۲۰۰ تا ۵۰۰۰ نانومتر را میکروکپسول و بیشتر از ۵۰۰۰ نانومتر را ماکروکپسول می‌نامند (Nedovic, Kalusevic, Manojlovic, Levic, & Bugarski, 2011). از محدودیت‌های قابل توجهی که مواد تشکیل‌دهنده کپسول در صنعت غذا دارند، می‌توان به قابلیت خوراکی، ارزان‌قیمت بودن، دردسترس بودن برای واحدهای تولیدکننده اشاره کرد. همچنین فرایند ریزپوشانی باید روندی آسان، راحت، ارزان و قابلیت برای تولید مقادیر زیاد صنعت را داشته باشد (زندگی، محبی، وریدی، رضانیان و نوید، ۱۳۹۴). مهم‌ترین گروه از مواد مورد استفاده برای ریزپوشانی در صنایع غذایی بیوپلیمرها می‌باشند. کربوهیدرات‌ها یا پلی‌ساکاریدها (به‌عنوان فراوان‌ترین بیوپلیمرها)، پروتئین‌ها و لیپیدها مناسب‌ترین بیوپلیمرهای مورد استفاده برای فرایند ریزپوشانی می‌باشند (Barbosa, Borsarelli, & Mercadante, 2005). پروتئین‌های آب‌پنیر دارای خصوصیات عملکردی بارزی برای استفاده به‌عنوان ماده‌ی دیواره می‌باشند. گزارش‌های مختلفی مبنی بر استفاده از پروتئین آب‌پنیر به‌عنوان ماده‌ی دیواره گزارش گردیده است (Chen & Subirade, 2006; Chen & Subirade, 2006).

جدول ۱- تیمارهای مورد بررسی

تیمار	روش امولسیون‌سازی	پروتئین آب‌پنیر (درصد)	آلژینات (درصد)
۱	التراسوند	۶	۲
۲	التراسوند	۶	۴
۳	التراسوند	۱۰	۲
۴	التراسوند	۱۰	۴
۵	همزن مغناطیسی	۶	۲
۶	همزن مغناطیسی	۶	۴
۷	همزن مغناطیسی	۱۰	۲
۸	همزن مغناطیسی	۱۰	۴

پایداری میکروکپسول

به‌منظور بررسی پایداری فیزیکی سیستم، محلول میکروکپسول‌های آلژینات-پروتئین آب‌پنیر در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱، ۱۵ و ۳۰ روز نگهداری شد و میزان اندازه ذرات به کمک دستگاه آنکسار نورلیزر مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. به‌منظور اندازه‌گیری میزان پایداری ویتامین در شرایط نگهداری مقدار ریبوفلاوین و بیوتین باقی‌مانده طی نگهداری به مدت ۱، ۱۵ و ۳۰ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با روش اسپکتروفتومتری و اندازه‌گیری میزان جذب در طول موج ۴۴۵ و ۳۴۸ نانومتر به ترتیب برای ریبوفلاوین و بیوتین با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری (WPA lightwave s2000 uv/vis، ساخت ایرلند) اندازه‌گیری شد.

خصوصیات مکانیکی میکروکپسول‌های تولیدی

به‌منظور بررسی خصوصیات مکانیکی و به‌دست‌آوردن نمودارهای تنش- تغییرشکل و حداکثر تنش فشاری، نمونه‌ای استوانه‌ای از میکروژل تولیدی با قطر ۱۰ میلی‌متر و ارتفاع ۲۰ میلی‌متر در معرض فشار یکپارچه تا ۸۰ درصد کرنش (یعنی ۸ میلی‌متر-با سرعت ۱ میلی‌متر در ثانیه) با استفاده از دستگاه آنالیزبافت (Stable Micro System Ltd، Godalming، ساخت ایرلند) توسط یک صفحه گرد فلزی با قطر ۶۰ میلی‌متر قرار گرفت (Leon et al., 2019; Leon et al., 2018).

خصوصیات رئولوژیکی میکروژل‌های تولیدی

اندازه‌گیری ویژگی‌های رئولوژیکی میکروژل‌های تولیدی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و با استفاده از رئومتر (فیزیکا ام.سی.آر ۳۰۱، شرکت آنتون‌پار، ساخت اتریش) مجهز به نرم‌افزار رئوپلاس بود، انجام شد. در تمام اندازه‌گیری‌ها از

شامل: مشکلات مو و پوست، علائم عصبی و حس خارش می‌باشد (Beck, 2001; Combs Jr, 2008).

در مطالعه قبلی این گروه تحقیقی (Zandi, 2019) میکروکپسول‌های آلژینات-پروتئین آب‌پنیر حاوی ویتامین B تهیه و رهایش آن مورد بررسی قرار داده شد تا علاوه بر امکان ریزپوشانی ویتامین با این میکروکپسول و نیز میزان محافظت ویتامین در شرایط سیستم‌گوارشی، همچنین مکانیسم اصلی رهایش مشخص گردد. نتایج نشان داد که میکروکپسول حاصل به‌خوبی قادر به محافظت ویتامین در برابر شرایط سیستم‌گوارشی بوده و مکانیسم اصلی رهایش ماده فعال از میکروکپسول‌های آلژینات-پروتئین آب‌پنیر نیز انتشار فیک^۱ می‌باشد. هدف اصلی از این تحقیق بررسی خصوصیات مکانیکی، رئولوژیکی و انتشاری میکروژل‌های آلژینات-پروتئین آب‌پنیر حاوی ریبوفلاوین و بیوتین می‌باشد. فرضیه این کار این بود که اگر خواص مکانیکی و رئولوژیکی میکروژل‌های تولیدی حاوی ویتامین با الزامات موجود در تعریف غذاهای نرم مطابقت داشته باشد، می‌توان آن را به‌عنوان یک میکرو حامل جدید برای ترکیبات زیست‌فعال، عطر و طعم برای استفاده تمام افراد بالاخص افراد سالمند و افرادی با مشکلات گوارشی و بلع معرفی نمود.

مواد و روش‌ها

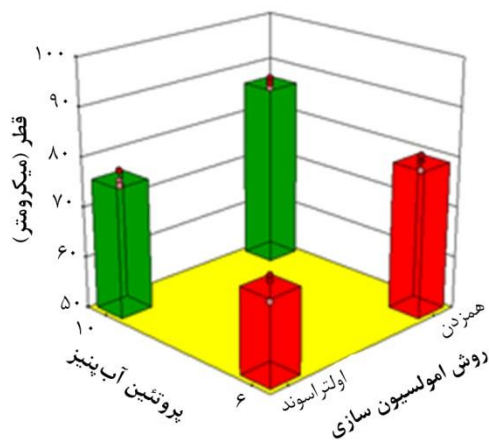
آماده‌سازی میکروکپسول‌های آلژینات-پروتئین آب‌پنیر و بررسی ساختاری

فرایند تهیه میکروکپسول‌های آب‌پنیر با کمک روش به‌کاررفته در پژوهش Zandi (۲۰۱۹) با اندکی اصلاحات انجام گردید. تنها تفاوت استفاده از ۲ سطح غلظت آلژینات (۲ و ۴ درصد) و نیز دو سطح پروتئین آب‌پنیر (۶ و ۱۰ درصد) و استفاده از هم‌زن مغناطیسی (۹۰۰ دور در دقیقه) یا التراسوند (فرکانس ۲۴ کیلوهرتز ۵۰ درصد نوسان (دامنه) به مدت ۵ دقیقه) (-IKA Werke، ساخت آلمان) به‌عنوان تیمار بود (جدول ۱) در این پژوهش هدف بررسی ساختاری و تشکیل میکروکپسول حاصل نیست چون همان‌طور که پیشتر گفته شد در پژوهش پیشین، از نظر تشکیل، تعیین خصوصیات میکروکپسول‌های تولیدی و رهایش در سیستم‌گوارش بررسی لازم صورت پذیرفته است. تنها متوسط قطر و توزیع اندازه امولسیون به کمک دستگاه آنکسار نورلیزر (مدل Nano-Zetasizer، شرکت Malvern، ساخت انگلستان) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

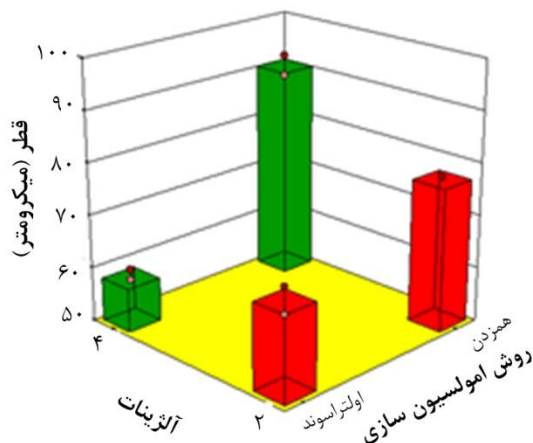
¹ Fickian Diffusion

نتایج و بحث

اندازه میکروژل‌های تولیدی به‌عنوان تابعی از روش تولید بنابه‌یافته‌های مطالعه‌های پیشین تشکیل موفقیت‌آمیز میکروکپسول‌های آلژینات-کنسانتره پروتئین آب‌پنیر مشاهده شد (Zandi, 2019). همان‌طور که در شکل (۱)، (۲) و (۳) نیز مشاهده می‌گردد، متوسط اندازه میکروکپسول به‌عنوان تابعی از روش امولسیون‌سازی، میزان آلژینات و پروتئین آب‌پنیر اندازه‌گیری شده است. طبق آنالیز واریانس روش امولسیون‌سازی در سطح ($P < 0.01$)، غلظت پروتئین در سطح ($P < 0.05$) و نیز غلظت آلژینات در سطح ($P < 0.01$) تأثیر معنی‌داری روی اندازه ذرات تشکیل‌شده دارد.



شکل ۱- تأثیر روش امولسیون‌سازی و درصد پروتئین آب‌پنیر بر متوسط اندازه میکروکپسول‌ها



شکل ۲- تأثیر روش امولسیون‌سازی و درصد آلژینات بر متوسط اندازه میکروکپسول‌ها

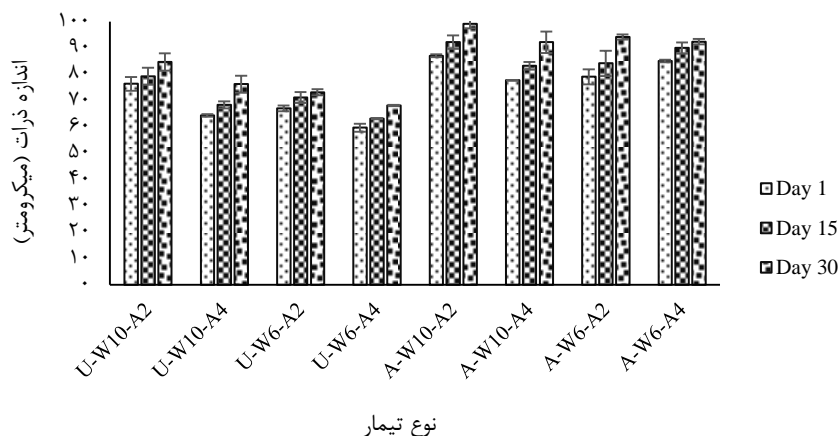
سیستم اندازه‌گیری با هندسه صفحات موازی (با قطر ۲۵ میلی‌متر و با فاصله ۰/۵ میلی‌متر) استفاده شد. فاصله ۰/۵ میلی‌متر برای آزمون‌های موردنظر با بررسی جهت‌یافتن فاصله بهینه انتخاب شد. در واقع با انتخاب این فاصله، کمترین خطا در تکرار آزمون‌ها به‌دست آمد. تقریباً تمام آزمون‌ها با سه بار تکرار انجام شد. ضمناً پیش از انجام تمام آزمون‌های رئولوژیکی در دماهای مختلف، به نمونه‌ها حدود ۱۰ دقیقه زمان استراحت جهت رسیدن به دمای تعادلی داده شد. در آزمون رئولوژیکی پایا، رفتار جریان میکروژل آلژینات پروتئین آب‌پنیر تولیدشده با روش‌های مختلف اندازه‌گیری و بررسی گردید. به‌این‌منظور در سرعت برشی بین ۱۰۰-۲ بر ثانیه، ویسکوزیته به‌عنوان تابعی از سرعت برشی اندازه‌گیری شد.

محاسبه ضریب انتشار

به‌این‌منظور از روش به‌کاررفته توسط Zandi (۲۰۱۷)؛ Zandi و همکاران (۲۰۱۴) و زندی و همکاران (۱۳۹۴) استفاده گردید. به‌منظور مدل‌سازی نحوه انتقال جرم در میکروکپسول‌های تولیدی و برازش داده‌های رهایش ویتامین با استفاده از قانون فیک، معادله نفوذ به‌صورت دیفوزیون ناپایا برای مختصات دایره‌ای حل گردید. با این اطلاعات، ضریب نفوذ از حل معادله نفوذ به‌صورت دیفوزیون ناپایا برای مختصات دایره‌ای به شعاع و ضخامت دیواره مشخص محاسبه گردید. به‌این‌منظور از قانون فیک استفاده می‌گردد. به‌منظور مدل‌سازی نحوه انتقال جرم در میکروکپسول‌های کلونیدوزومی تولیدی و برازش داده‌های رهایش ویتامین با استفاده از قانون فیک، معادله نفوذ به‌صورت دیفوزیون ناپایا برای مختصات دایره‌ای حل گردید (زندی و همکاران، ۱۳۹۴).

آنالیز آماری

کلید آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از آزمایش فاکتوریل و با حداقل دو تکرار انجام و میانگین و انحراف معیار آنها به‌دست آمد. آنالیز واریانس برای بررسی معنی‌داری اختلافات در سطح ($P < 0.05$) با استفاده از نرم‌افزار دیزاین اکسپرت نسخه ۹ صورت گرفت و با استفاده از آزمون دانکن و LSD اختلاف بین میانگین‌ها بررسی گردید. برازش داده‌ها با استفاده از معادله‌های ارائه‌شده به کمک نرم‌افزار متلب (R2014) صورت گرفت و بهترین مدل براساس اندازه‌گیری ضریب همبستگی انتخاب و پیشنهاد گردید.



شکل ۳- تأثیر زمان نگهداری بر اندازه میکروکپسول‌های حاوی ریبوفلاوین

A و U: التراسوند و همزن مغناطیسی، W: پروتئین آب پنیر و عدد بعد از آن یعنی درصد استفاده و A: آلژینات و عدد بعد از آن یعنی درصد استفاده

افزایش میزان پروتئین نیز قطر میکروژل تولیدی کوچک‌تر شده که اگرچه این تأثیر معنی‌دار است ($P < 0.05$)، ولی تأثیر آن زیاد نیست (جدول ۲).

کوچک‌ترین اندازه قطره‌ها در غلظت‌های مختلف پروتئین آب پنیر تغلیظ‌شده، مربوط به نمونه‌های تهیه‌شده با روش التراسوند و غلظت‌های بالاتر آلژینات بود. قهرمانی‌فر، محمدی‌ثانی، نجف‌نجفی و محمدی‌مقدم (۱۳۸۹) در بررسی تأثیر پارامترهای زمان هم‌وزنی‌اسیون و غلظت بر ویژگی‌های امولسیون‌کنندگی پروتئین آب پنیر تغلیظ‌شده به نتایج مشابهی دست یافتند.

تحقیق‌های پیشین مشخص‌نموده که روش التراسوند به سبب ایجاد قطره‌های کوچک‌تری در امولسیون موجب تولید میکروکپسول‌های با اندازه کوچک‌تر نسبت به روش مکانیکی هم‌زدن می‌گردد. در این تحقیق هم مشاهده گردید که روش التراسوند باعث کاهش اندازه ذرات امولسیون شده و موجب بهبود ویژگی‌های رئولوژیکی امولسیون‌ها می‌گردد. نتایج مشابهی نیز توسط Chen و Subirade (۲۰۰۶) و Leon و همکاران (۲۰۱۸) به‌دست‌آمده است. با افزایش غلظت آلژینات به سبب افزایش ویسکوزیته مقاومت بیرونی برای تشکیل قطره‌ها بیشتر شده و در نتیجه قطر ذرات نیز کوچک‌تر می‌گردد. همان‌طور که مشاهده می‌شود با

جدول ۲- جدول آنالیز واریانس عوامل (اثرات اصلی و متقابل)

منبع	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F Value	p-value
مدل	۲۰۵۸/۵۰	۷	۲۹۴/۰۷	۱۸/۰۰**	<۰/۰۰۰۱
روش امولسیون‌سازی	۱۴۴۱/۵۰	۱	۱۴۴۱/۵۰	۸۸/۲۶**	<۰/۰۰۰۱
پروتئین آب پنیر	۷۳/۵۰	۱	۷۳/۵۰	۴/۵۰*	۰/۰۴۹۹
آلژینات	۲۰۴/۱۷	۱	۲۰۴/۱۷	۱۲/۵۰*	۰/۰۰۲۷
اثر متقابل روش امولسیون‌سازی و پروتئین آب پنیر	۷۳/۵۰	۱	۷۳/۵۰	۴/۵۰*	۰/۰۴۹۹
اثر متقابل روش امولسیون‌سازی و آلژینات	۸۸/۱۷	۱	۸۸/۱۷	۵/۴۰*	۰/۰۳۳۷
اثر متقابل پروتئین آب پنیر و آلژینات	۱۴۰/۱۷	۱	۱۴۰/۱۷	۸/۵۸**	۰/۰۰۰۹
اثر متقابل روش امولسیون‌سازی و پروتئین آب پنیر و آلژینات	۳۷/۵۰	۱	۳۷/۵۰	۲/۳۰ ^{ns}	۰/۱۴۹۲
خطا	۲۶۱/۳۳	۱۶	۱۶/۳۳	-	-

**معنی‌داری در سطح ۰/۰۱، *معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ و ^{ns} عدم معنی‌داری

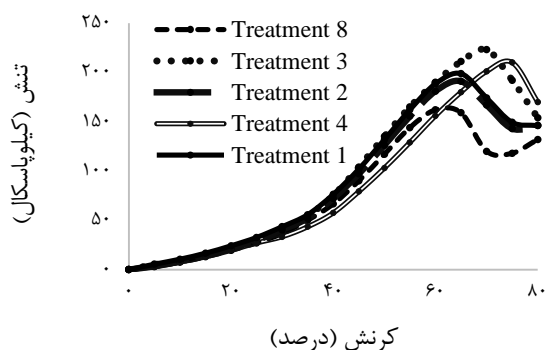
پایداری میکروکپسول

همان‌طور که انتظار می‌رفت طی نگهداری و با گذشت زمان، اندازه ذرات میکروکپسول به سبب افزایش تجمع آنها افزایش پیدا نمود ($P < 0.05$). نتایج مشابهی توسط محمدی، قنبرزاده، رضایی‌مکرّم، حسینی و همیشه‌کار (۱۳۹۳) به دست آمد. نتایج میزان پایداری ریوفلاوین و بیوتین در شرایط نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱، ۱۵ و ۳۰ روز نشان داد که این ویتامین‌های ریزپوشانی از پایداری نزدیک به ۱۰۰ درصدی طی این زمان و دمای نگهداری برخوردارند و به عبارت دیگر زمان تأثیر معنی‌داری ($P < 0.05$) بر تخریب و از بین رفتن ویتامین نداشت (جدول ۳).

جدول ۳- پایداری ریوفلاوین و بیوتین بعد از ۳۰ روز

تیمار	روش امولسیون‌سازی	پروتئین آب‌پنیر (درصد)	آلژینات (درصد)	پایداری ریوفلاوین پس از ۳۰ روز (درصد)	پایداری بیوتین پس از ۳۰ روز (درصد)
۱	التراسوند	۶	۲	۹۷/۶۰ ^a	۹۶/۳۰ ^b
۲	التراسوند	۶	۴	۹۸/۹۰ ^a	۹۵/۵۰ ^b
۳	التراسوند	۱۰	۲	۹۵/۹۰ ^a	۹۷/۹۰ ^b
۴	التراسوند	۱۰	۴	۹۸/۵۰ ^a	۹۶/۸۰ ^b
۵	همزن مغناطیسی	۶	۲	۹۳/۹۰ ^a	۹۳/۴۰ ^b
۶	همزن مغناطیسی	۶	۴	۹۷/۳۰ ^a	۹۴/۷۰ ^b
۷	همزن مغناطیسی	۱۰	۲	۹۶/۵۰ ^a	۹۲/۶۰ ^b
۸	همزن مغناطیسی	۱۰	۴	۹۴/۶۰ ^a	۹۵/۹۰ ^b

می‌گردد با افزایش میزان پروتئین آب‌پنیر به سبب افزایش استحکام دیواره میکروژل‌های تشکیلی، تنش نیز افزایش پیدا می‌کند؛ این در حالی است که با تغییر میزان آلژینات، تفاوت معنی‌داری در رفتار مکانیکی میکروژل حاصله اتفاق نمی‌افتد. تاکنون تحقیق در این زمینه برای اثبات یا رد این موضوع انجام پذیرفته است. با تغییر روش امولسیون‌سازی، تغییر معنی‌داری در نمودار تنش- تغییر شکل و نیز حداکثر تنش رخ می‌دهد. با استفاده از روش التراسوند، از آنجایی که اندازه ذرات کوچک‌تر شده، حداکثر تنش افزایش پیدا می‌نماید. (Aguilera & Park, 2016; Kim, Renkema, & van Vliet, 2001; Sala, Van Aken, Stuart, & Van De Velde, 2007) گزارش نموده‌اند که خواص مکانیکی ژل‌های حاصل از امولسیون به میزان فاز پراکنده (روغن یا آب) و اندازه قطره‌های فاز پراکنده (روغن یا آب) بستگی دارد. با اعمال التراسوند، اندازه قطره‌های فاز پراکنده کوچک‌شده و این امر سبب افزایش مقاومت می‌گردد. Kim و همکاران (۲۰۰۱) نیز در بررسی امولسیون حاصل از پروتئین سویا دریافتند که افزایش اندازه ذرات فاز پراکنده (روغن) سبب کاهش مقاومت و در نتیجه نرمی بافت می‌گردد. با این وجود Leon و همکاران (۲۰۱۸) تأثیر روش امولسیون‌سازی را بر مقاومت مکانیکی غیرمعنی‌دار گزارش نمودند. اگرچه با اعمال التراسوند از میزان نرمی بافتی کاسته شده ولی از طرف دیگر میزان محافظت از ترکیب ریزپوشانی شده افزایش پیدا می‌کند.

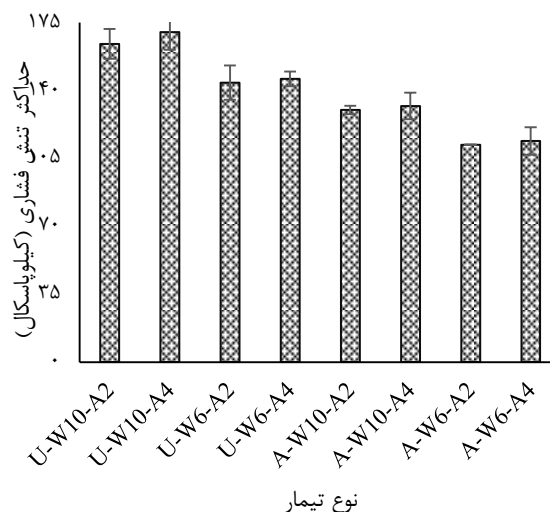


شکل ۴- نمودارهای تنش- تغییر شکل برای ژل حاصل از امولسیون طی فرایند فشار محوری

خصوصیات مکانیکی میکروکپسول‌های تولیدی

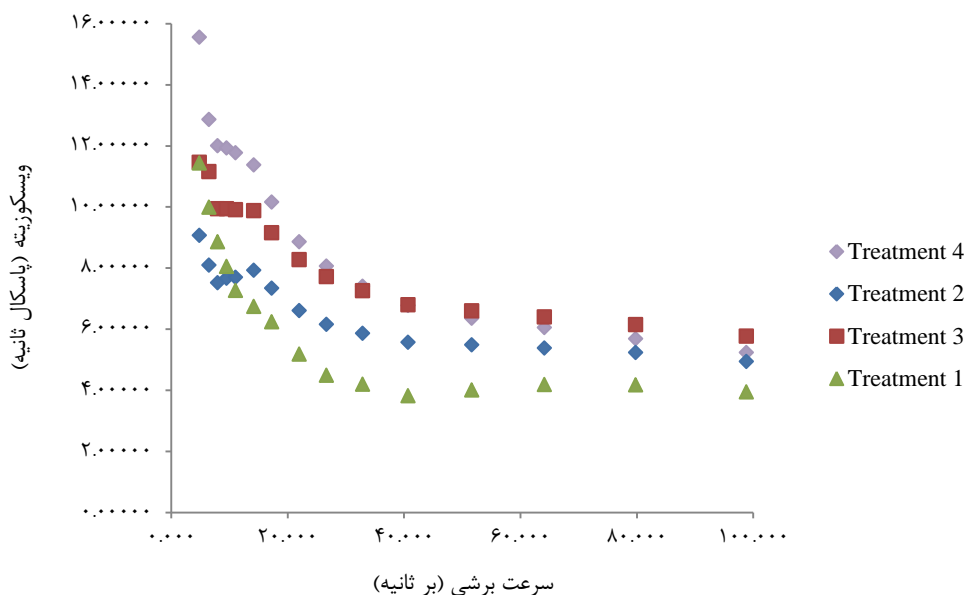
نمودارهای تنش- تغییر شکل و حداکثر تنش فشاری برای ژل حاصل از امولسیون طی فرایند فشار محوری در شکل‌های (۴) و (۵) نمایش داده شده است. همان‌طور که در تصویر نیز دیده می‌شود، تمامی نمونه‌ها تا تغییر شکل حدود ۳۵ درصد رفتار مشابهی از خود نشان دادند. با محاسبه مدول یانگ که از تقسیم تنش به کرنش در قسمت‌های ابتدایی نمودار تنش- تغییر شکل محاسبه شده، می‌توان فهمید که مدول یانگ برای تمام نمونه‌ها حدود ۸۰ کیلوپاسکال می‌باشد. همان‌طور که در شکل (۵) نیز مشاهده

مختلف اندازه‌گیری و بررسی گردید. به این منظور در سرعت برشی بین ۱۰۰-۲ بر ثانیه، ویسکوزیته به عنوان تابعی از سرعت برشی اندازه‌گیری شد. رفتار میکروژل حاصل غیرخطی بود. همان‌طور که در شکل (۶) هم مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت آلژینات و پروتئین ویسکوزیتهٔ امولسیون نیز افزایش پیدا می‌کند. همچنین، با افزایش سرعت برشی، ویسکوزیته کاهش پیدا می‌کند که نشان‌دهندهٔ رفتار روان‌شوندگی با برش (سودوپلاستیک) در این میکروژل‌ها می‌باشد. روان‌شوندگی با برش یکی از خصوصیات مهم در فرمولاسیون امولسیون‌هاست، زیرا کاهش ویسکوزیتهٔ ظاهری در فرایندهایی با تنش برشی بالا مانند پمپ‌کردن و پرکردن منجر به سهولت فرایند می‌گردد و در هنگام مصرف با افزایش ویسکوزیتهٔ ظاهری محصول احساس دهانی مطلوبی ایجاد می‌کند. همچنین، این رفتار منجر به بهبود پراکندگی ذرات فاز پراکنده در فاز پیوسته شده و از به هم چسبیدن ذرات و دوفاز شدن آنها طی نگهداری جلوگیری می‌کند (Koocheki, Kadkhodae, Mortazavi, Shahidi, & Taherian, 2009).



شکل ۵- حداکثر تنش فشاری برای ژل حاصل از امولسیون طی فرایند فشار محوری
 U و A: التراسوند و همزن مغناطیسی، W: پروتئین آب پنیر و عدد بعد از آن یعنی درصد استفاده و A: آلژینات و عدد بعد از آن یعنی درصد استفاده

خصوصیات رئولوژیکی میکروژل‌های تولیدی در آزمون رئولوژیکی پایا، رفتار جریان میکروژل آلژینات-پروتئین آب پنیر تولیدشده با روش‌های



شکل ۶- اثر سرعت برشی بر ویسکوزیتهٔ ظاهری (پاسکال ثانیه) بر تیمارهای مختلف

محاسبه ضریب دیفوزیون

در پژوهش قبلی Zandi (۲۰۱۹) مشخص گردید که رهایش ویتامین از میکروژل‌های آلژینات-پروتئین آب‌پنیر در شرایط سیستم‌گوارش با مکانیسم نفوذ فیک به‌عنوان مکانیسم اصلی رهایش اتفاق می‌دهد. طبق تحقیق‌های قبلی ما، دو مکانیسم عمده آزادسازی در طی فرایند رهایش از میکروکپسول‌های آلژینات-کنسانتره پروتئین آب‌پنیر رخ می‌دهد؛ اولین مکانیسم نشت ماده کپسوله‌شده (دی‌استیل) از میان حفره‌ها و سوراخ‌های پوسته میکروکپسول و دومین آن، رهایش ماده انکپسوله‌شده با استفاده از مکانیسم دیفوزیون از میان پوسته میکروکپسول. فرض بر این است که ماده ریزپوشانی‌شده در مرکز میکروکپسول واقع شده است. با انجام آنالیز واریانس و آزمون‌های دانکن و LSD

مشخص گردید که با اعمال شرایط هم‌زمان معده و روده، ضریب دیفوزیون بیشترشده و در نتیجه میزان رهایش با سرعت بیشتر رخ می‌دهد (جدول ۴). احتمالاً سرعت بیشتر رهایش که مترادف ضریب نفوذ بالاتر است به این سبب بوده که پس از تخریب جزئی دیواره در معده، رهایش با سرعت بیشتری در روده اتفاق می‌افتد. نتایج محاسبه و پیش‌بینی ضریب دیفوزیون به‌خوبی مؤید این مطلب است که اولاً رهایش عمدتاً با مکانیسم دیفوزیون رخ داده و ثانیاً این نوع از میکروژل را به‌راحتی می‌توان برای محافظت عوامل زیست‌فعال طی فرایند هضم غذا و به‌منظور رهایش در سیستم‌های گوارش مورد استفاده قرار داد. نتایج مشابهی توسط سایر پژوهش‌ها به‌دست‌آمده است (Chen & Subirade, 2006; Zandi, 2017; Zandi et al., 2014).

جدول ۴- ضریب دیفوزیون پوسته میکروکپسول‌های آلژینات-پروتئین آب‌پنیر در شرایط سیستم‌گوارش

شماره تیمار	میکروژل حاوی ریبوفلاوین در شرایط معده	میکروژل حاوی ریبوفلاوین در شرایط معده-روده	میکروژل حاوی بیوتین در شرایط معده	میکروژل حاوی بیوتین در شرایط معده-روده
۱	۳/۶۵±۰/۳۶ ^a	۷/۳۱±۰/۳۲ ^a	۲/۸۹±۰/۱۵ ^a	۶/۳۶±۰/۲۳ ^a
۲	۴/۱۱±۰/۵۴ ^a	۷/۴۵±۰/۲۱ ^a	۳/۳۴±۰/۲۹ ^b	۶/۷۳±۰/۱۴ ^a
۳	۴/۴۵±۰/۱۱ ^b	۷/۸۵±۰/۴۵ ^a	۳/۶۸±۰/۴۱ ^b	۶/۵۸±۰/۲۶ ^a
۴	۴/۵۱±۰/۲۸ ^b	۷/۹۲±۰/۱۴ ^{ab}	۳/۸۷±۰/۱۶ ^b	۶/۹۴±۰/۳۵ ^a
۵	۵/۱۴±۰/۴۴ ^{bc}	۸/۲۶±۰/۳۱ ^b	۴/۲۴±۰/۱۳ ^c	۷/۷۲±۰/۲۱ ^b
۶	۵/۲۳±۰/۳۲ ^{bc}	۸/۶۴±۰/۲۵ ^b	۴/۳۱±۰/۲۲ ^c	۷/۶۴±۰/۲۵ ^b
۷	۵/۴۱±۰/۲۳ ^c	۸/۹۷±۰/۱۱ ^c	۴/۶۳±۰/۲۷ ^c	۷/۴۱±۰/۱۷ ^b
۸	۴/۹۸±۰/۱۹ ^b	۸/۸۵±۰/۲۱ ^c	۴/۵۷±۰/۳۱ ^c	۷/۸۹±۰/۱۱ ^c

اعداد در جدول نشان‌دهنده $D \times 10^{11}$ مترمربع بر معکوس ثانیه می‌باشند

اعداد از میانگین سه آزمون به‌دست‌آمده و به‌همراه انحراف معیار خود گزارش شده است.

اعداد با حروف متفاوت در هر ستون دارای تفاوت معنی‌داری در سطح ($P < 0.05$) می‌باشند.

نتیجه‌گیری

در تحقیق پیشین، میکروژل آلژینات-پروتئین آب‌پنیر حاوی ویتامین B تهیه و رهایش آن در شرایط مختلف مورد آزمایش قرار داده شد. هدف اصلی از این پژوهش بررسی خصوصیات مکانیکی، رئولوژیکی و انتشاری این میکروکپسول‌های حاوی ریبوفلاوین و بیوتین می‌باشد. به‌منظور دستیابی به هدف فوق از میکروکپسول پژوهش قبلی استفاده و آزمون‌های مختلفی در روی آن انجام پذیرفت. نتایج نشان داد که اندازه میکروکپسول تولیدی تحت تأثیر غلظت آلژینات، غلظت پروتئین

آب‌پنیر و روش امولسیون‌سازی است؛ به‌طوری‌که با افزایش غلظت پروتئین و آلژینات و استفاده از روش التراسوند، اندازه میکروکپسول‌ها کوچک‌تر می‌گردد. نتایج همچنین نشان داد که اگرچه اندازه میکروژل تولیدی با افزایش زمان نگهداری، بیشترشده ولی ویتامین ریزپوشانی‌شده طی نگهداری به مدت ۳۰ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد کاملاً پایدار می‌باشد. بررسی رفتار مکانیکی میکروژل نشان داد که با افزایش میزان پروتئین آب‌پنیر و نیز اعمال التراسوند، استحکام افزایش‌یافته و این در حالی است که با تغییر میزان

آلژینات، تفاوت معنی‌داری در رفتار مکانیکی میکروژل حاصل نمی‌گردد. با انجام آنالیز واریانس مشخص گردید که با اعمال شرایط هم‌زمان معده و روده، ضریب دیفوزیون میکروکپسول بیشتر می‌گردد. نتایج این تحقیق امکان استفاده موفقیت‌آمیز میکروژل آلژینات-پروتئین آب‌پنیز را به‌عنوان یک میکرواحمل جدید برای ترکیبات مؤثر برای استفاده تمام افراد بالاخص افراد سالمند و افراد با مشکلات گوارشی و بلع نشان می‌دهد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پژوهش مصوب دانشگاه زنجان در طرح خارجی مورد حمایت بنیاد ملی نخبگان با عنوان «ریزپوشانی ترکیبات زیست‌فعال بیوتین و ربوفلاوین توسط حامل‌های آلژینات-پروتئین آب‌پنیز و بررسی، شبیه‌سازی و مدل‌سازی رهایش آن در شرایط نگهداری، فراوری و سیستم‌گوارش» می‌باشد.

منابع

- زندی، م.، محبی، م.، وریدی، م. و رمضانیان، ن. (۱۳۹۴). تخمین و ارزیابی ضریب نفوذ میکروکپسول‌های آلژینات-پروتئین آب‌پنیز حامل دی‌استیل و ارزیابی آن در شرایط مختلف دهانی. *پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران*، ۱۱(۴)، ۴۳۵-۴۴۴. doi:<https://doi.org/10.22067/ifstrj.v1394i11.29045>
- قهرمانی‌فر، ا.، محمدی‌ثانی، ع.، نجف‌نجفی، م. و محمدی‌مقدم، ت. (۱۳۸۹). بررسی تأثیر پارامترهای زمان هموژنیزاسیون و غلظت بر ویژگی‌های امولسیون‌کنندگی پروتئین آب‌پنیز تغلیظ شده. *نوآوری در علوم و فناوری غذایی*، ۲(۲)، ۳۵-۴۵.
- محمدی، م.، قنبرزاده، ب.، رضایی‌مکر، ر.، حسینی، م. و همیشه‌کار، ح. (۱۳۹۳). بررسی ویژگی‌های پایداری، پتانسیل زتا و رئولوژی نانولیپوزوم‌های حامل ویتامین D_۳. *مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی تبریز*، ۳۶(۴)، ۱۰۲-۱۱۱.
- Abbasi, F., Samadi, F., Jafari, S. M., Ramezani, S., & Shams Shargh, M. (2019). Ultrasound-assisted preparation of flaxseed oil nanoemulsions coated with alginate-whey protein for targeted delivery of omega-3 fatty acids into the lower sections of gastrointestinal tract to enrich broiler meat. *Ultrasonics Sonochemistry*, 50, 208-217. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.09.014>
- Aguilera, J. M., & Park, D. J. (2016). Texture-modified foods for the elderly: Status, technology and opportunities. *Trends in Food Science & Technology*, 57, 156-164. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.001>
- Barbosa, M. I. M. J., Borsarelli, C. D., & Mercadante, A. Z. (2005). Light stability of spray-dried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations. *Food Research International*, 38(8), 989-994. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.02.018>
- Beck, W. (2001). Handbook of Vitamins, ; Rucker, RB, Suttie, JW, McCormick, DB, Machlin, LJ, Eds: Marcel Dekker: New York.
- Chen, L., & Subirade, M. (2006). Alginate-whey protein granular microspheres as oral delivery vehicles for bioactive compounds. *Biomaterials*, 27(26), 4646-4654. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.04.037>
- Ching, S. H., Bansal, N., & Bhandari, B. (2015). Physical stability of emulsion encapsulated in alginate microgel particles by the impinging aerosol technique. *Food Research International*, 75, 182-193. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.06.002>
- Cichero, J. A. Y. (2016). Adjustment of Food Textural Properties for Elderly Patients. *Journal of Texture Studies*, 47(4), 277-283. doi:<https://doi.org/10.1111/jtxs.12200>
- Combs Jr, F. (2008). Vitamin C. In The vitamins. Fundamental aspects in nutrition and health/FG Jr. Combs. (Third edition ed.) (pp. 235-265): Amsterdam Boston: Elsevier Academic Press.

- DESA, U. (2015). World population prospects: the 2015 revision, key findings and advance tables. United Nations Department of Economic and Social Affairs. *Population Division working paper no ESA/P/WP, 241*.
- Ghahremanifar, A., Mohamadu Sani, A., Najaf Najafi, M., & Mohamadi moghadam, T. (2010). Effect of concentration and homogenization time on the emulsification of concentrate whey. *Novelty in food science and technology, 2*(2), 35-45. (in Persian)
- Kim, K. H., Renkema, J. M. S., & van Vliet, T. (2001). Rheological properties of soybean protein isolate gels containing emulsion droplets. *Food Hydrocolloids, 15*(3), 295-302. doi:[https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(01\)00028-5](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00028-5)
- Koocheki, A., Kakhodaee, R., Mortazavi, S. A., Shahidi, F., & Taherian, A. R. (2009). Influence of Alyssum homolocarpum seed gum on the stability and flow properties of O/W emulsion prepared by high intensity ultrasound. *Food Hydrocolloids, 23*(8), 2416-2424. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.06.021>
- Leon, A. M., Aguilera, J. M., & Park, D. J. (2019). Mechanical, rheological and structural properties of fiber-containing microgels based on whey protein and alginate. *Carbohydrate Polymers, 207*, 571-579. doi:<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.11.094>
- Leon, A. M., Medina, W. T., Park, D. J., & Aguilera, J. M. (2018). Properties of microparticles from a whey protein isolate/alginate emulsion gel. *Food Science and Technology International, 24*(5), 414-423. doi:<https://doi.org/10.1177/1082013218762210>
- Leon, A. M., Medina, W. T., Park, D. J., & Aguilera, J. M. (2016). Mechanical properties of whey protein/Na alginate gel microparticles. *Journal of Food Engineering, 188*, 1-7. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.05.005>
- Mohammadi, M., Ghanbarzadeh, B., Mokarram, R. R., Hoseini, M., & Hamishehkar, H. (2014). Study of Stability, Zeta-potential, and Steady Rheological Properties of Nanoliposomes Containing Vitamin D3. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services, 36*(4), 102-111. (in Persian)
- Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., & Bugarski, B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science, 1*, 1806-1815. doi:<https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.265>
- O'Donnell, P. B., & McGinity, J. W. (1997). Preparation of microspheres by the solvent evaporation technique. *Advanced Drug Delivery Reviews, 28*(1), 25-42. doi:[https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(97\)00049-5](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(97)00049-5)
- Painter, V., Le Couteur, D. G., & Waite, L. M. (2017). Texture-modified food and fluids in dementia and residential aged care facilities. *Clinical interventions in aging, 12*, 1193-1203. doi:<https://doi.org/10.2147/CIA.S140581>
- Rosenberg, M., & Lee, S. J. (2004). Calcium-alginate coated, whey protein-based microspheres: preparation, some properties and opportunities. *Journal of Microencapsulation, 21*(3), 263-281. doi:<https://doi.org/10.1080/02652040410001673937>
- Sala, G., Van Aken, G. A., Stuart, M. A. C., & Van De Velde, F. (2007). Effect of droplet–matrix interactions on large deformation properties of emulsion-filled gels. *Journal of Texture Studies, 38*(4), 511-535. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2007.00110.x>
- Zandi, M. (2019). Vitamin protection by Alginate-Whey Protein Micro Gel (AL-WPC MG) as a novel microcapsule against gastrointestinal condition; case study: B-complex vitamins. *Iranian Food Science and Technology Research Journal, 16*(3). doi:<https://doi.org/10.22067/ifstrj.v16i3.79215>
- Zandi, M. (2017). Evaluation of the Kinetics of Ascorbic Acid (AA) Release from Alginate-Whey Protein Concentrates (AL-WPC) Microspheres at the Simulated Gastro–Intestinal Condition. *Journal of Food Process Engineering, 40*(1), e12334. doi:<https://doi.org/10.1111/jfpe.12334>
- Zandi, M., Mohebbei, M., Varidi, M., & Ramezani, N. (2015). Estimation and evaluation of diffusion coefficient of diacetyl encapsulated alginate-whey protein microspheres at simulated mouth conditions. *Iranian Food Science and Technology Research Journal, 11*(4), 435. (in Persian)

- Zandi, M., & Mohebbi, M. (2014). Investigation of encapsulated diacetyl colloidosome release profile as a function of sintering process and release media properties. *Flavour and Fragrance Journal*, 29(6), 364-370. doi:<https://doi.org/10.1002/ffj.3214>
- Zandi, M., Mohebbi, M., Varidi, M., & Ramezani, N. (2014). Evaluation of diacetyl encapsulated alginate-whey protein microspheres release kinetics and mechanism at simulated mouth conditions. *Food Research International*, 56, 211-217. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.11.035>

The Mechanical, Rheological and Release Properties of Riboflavin and Biotin Encapsulated Alginate-whey Protein Micro-Gels

Mohsen Zandi

Assistant Professor, Department of Food Science and Engineering, University of Zanjan, Zanjan, Iran
*Corresponding author (zandi@znu.ac.ir)

Abstract

Fluid gels already proposed to deliver flavors and nutrients safely. In this paper, our earlier research was applied for mechanical, rheological and release evaluation of the vitamin encapsulated alginate-whey protein microcapsules. The results indicated that the size distribution of alginate-whey protein microcapsules depended on the whey protein concentration, alginate concentration, and emulsification method; the mean diameters of these microcapsules slightly increased as the whey protein and alginate concentration increased. The microcapsules containing riboflavin and biotin showed significant changes in mean diameter volume, but vitamin stability did not change during 30 days at 4 °C. The micro-gels emulsified by ultrasound exhibited a decrease in stiffness than those produced by high-shear blending. The vitamin encapsulated alginate-whey protein microcapsules emulsified by ultrasound were quite stable compared to microcapsule emulsified with the agitator. These micro-gel suspensions exhibit a fluid-like behavior. We founded that the release from these microcapsules mainly occurred by diffusion mechanisms. In summary, this research suggested that alginate-whey protein microcapsules can protect the active and bioactive agent against stomach condition. Our developed vesicular system could be used to nutrient delivery or controlled nutrient release.

Keywords: Controlled Released, Flow Behavior, Micro-Gel, Particle Size, Vitamin B