

درون پوشانی روغن هسته انار به وسیله حامل‌های مختلف و تعیین خصوصیات فیزیکی‌شیمیایی آن

سهیلا اکبرلو^۱، محمد عزیزاده خالدآباد^۲، سجاد پیرسا^۳، فروغ محترمی^{۴*}

۱- کارشناسی ارشد مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ایران

۲- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ایران.

۳- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ایران.

۴- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ایران.

(تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۶/۱۳)

چکیده

هدف اصلی از پژوهش حاضر، تعیین غلظت مناسب از صمغ عربی، سدیم کازئینات و بتاسیکلودکسترین برای درون پوشانی روغن هسته انار بود. بدین منظور از بتاسیکلودکسترین، سدیم کازئینات و صمغ عربی به‌عنوان پوشش دیواره با استفاده از طرح آماری مخلوط جهت به دام انداختن روغن هسته انار استفاده شد و سپس نمونه‌های بهینه با کمترین میزان کدورت جهت تعیین ویسکوزیته، راندمان درون پوشانی، پراکندگی نور دینامیکی (DLS)، طیف سنجی فروسرخ (FT-IR)، میکروسکوپ الکترونیکی روبشی (SEM) انتخاب گردیدند. میزان کدورت تیمارها در سطوح بالای سدیم کازئینات و همچنین در ترکیب صمغ عربی با بتاسیکلودکسترین در عدم حضور سدیم کازئینات یا مقادیر کم آن افزایش یافت. نتایج ویسکوزیته نشان داد نمونه حاوی بتاسیکلودکسترین و سدیم کازئینات در مقایسه با صمغ عربی و سدیم کازئینات ویسکوزیته بالایی داشت. بیشترین راندمان درون پوشانی در نمونه‌های حاوی سدیم کازئینات (۳۷/۱٪) و صمغ عربی (۶۲/۹٪) مشاهده شد که کمترین روغن سطحی را داشت. با توجه به نتایج DLS، اندازه قطر کپسولها با شاخص پلی دیسپرسیته رابطه معکوس داشت که کوچکترین قطر کپسولها مربوط به نمونه حاوی بتاسیکلودکسترین و سدیم کازئینات بود. مقادیر پتانسیل زتا در نمونه ۶۲/۹٪ صمغ عربی + ۳۷/۱٪ سدیم کازئینات بالاترین بود (۲۵/۷- میلی‌ولت). نتایج FTIR تشکیل کمپلکس و ایجاد برهمکنش بین سدیم کازئینات، صمغ عربی، بتاسیکلودکسترین برای درون پوشانی روغن هسته انار را نشان داد. با توجه به تصاویر SEM کپسول‌های شکل‌گرفته به طور نامنظم و با مورفولوژی متفاوت بودند. بنابراین با توجه به نتایج حاصله مقادیر ۳۷/۱٪ سدیم کازئینات و ۶۲/۹٪ صمغ عربی برای درون پوشانی روغن هسته انار پیشنهاد می‌شود.

کلید واژگان: درون پوشانی، روغن هسته انار، FT-IR، SEM، DLS

*مسئول مکاتبات: mohtarami.f@gmail.com

۱- مقدمه

آنتی اکسیدان ها ترکیباتی هستند که در غلظت های کم در مقایسه با سوبسترا به طور قابل ملاحظه ای باعث کاهش سرعت واکنش های اکسیداتیو با مکانیسم های مختلف می گردند. آنتی اکسیدان ها به دو فرم سنتتیک و طبیعی وجود دارند [۱]. دانشمندان و متخصصان تغذیه همواره درصدد یافتن ترکیبات طبیعی با خواص آنتی اکسیدانی جهت کاهش اثرات تحمیلی رادیکال های آزاد بر بدن می باشند [۲]. انار (Punica granatum L.) یکی از قدیمی ترین میوه های خوراکی شناخته شده است که دارای بالاترین غلظت از پلی فنل کل در مقایسه با سایر میوه های مورد مطالعه می باشد [۳]. هسته های انار بطور متوسط ۳/۷-۱۴/۳٪ از محتویات میوه را شامل می شوند [۴]. ترکیبات فنلی از مهم ترین مواد در انار بویژه بخش لیپیدی هسته می باشد [۵ و ۶]. یکی از راه های استفاده از هسته، استخراج روغن و استفاده از آن در محصولات غذایی مختلف است. با این حال، اکثر روغن های خوراکی از نظر شیمیایی ناپایدار و حساس به تخریب اکسیداتیو هستند، به ویژه هنگامی که در معرض اکسیژن، نور، رطوبت و دما قرار می گیرند. لذا افزایش حالیت، پایداری و حفاظت از ترکیبات آب گریز در سیستم های محلول و آبدکی لازم به نظر می رسد [۷]. درون پوشانی^۱ روش بسیاری مناسبی جهت حفظ مواد زیست فعال، ویتامین ها و اسیدهای چرب چند غیراشباعی است [۸ و ۹] و امکان رهایش کنترل شده آنها را در روده کوچک فراهم میسازد.

درون پوشانی یک تکنولوژی جهت قرار دادن مواد مختلف مانند مایعات، جامدات و گازها درون یک پوشش هموزن یا هتروژن بعنوان ماده زمینه ای پیوسته برای حفاظت، تثبیت و کند کردن رهاسازی ترکیبات هسته می باشد. معمولاً از کربوهیدرات ها، چربی ها و پروتئین ها برای دیواره یا کپسول استفاده می شود. امولسیفیه کردن، کوآسرواسیون، خشک کردن پاششی، سرد کردن پاششی، خشک کردن انجمادی، پوشش دادن به روش بستر سیال و اکستروژن از روش های درون پوشانی مواد غذایی هستند [۱۰]. گل محمد و همکاران (۱۳۹۵) در تحقیقی، روغن هسته انار استخراج شده به روش پرس سرد را با استفاده از ترکیب دیواره

های صمغ عربی و سدیم کازئینات به روش خشک کن پاششی به صورت میکرو کپسول در آوردند، نتایج نشان داد که مخلوط سدیم کازئینات و صمغ عربی دیواره ای مناسب برای فرایند میکروکپسوله کردن روغن با فرایند خشک کن پاششی بوده و ترکیبات مهم روغن طی این فرایند دستخوش تغییرات معنی داری نشده است [۱۱]. عزیزانباری و همکاران (۱۳۹۲) با بررسی نانو کمپلکس های ژلان-کازئینات به عنوان حامل اسیدهای چرب امگا سه به این نتیجه رسیدند که با افزایش غلظت ژلان و کاهش غلظت کازئینات اندازه ذرات کاهش و درصد درون پوشانی افزایش می یابد [۱۲]. در پژوهشی Ilyasoglu و همکاران (۲۰۱۴) با بررسی شرایط اتصال روغن ماهی (منبع اسیدهای چرب EPA/DHA^۲) توسط کمپلکس های سدیم کازئینات و صمغ عربی، یک ترکیب پایدار با برهمکنش های الکترواستاتیک بهینه (pH و غلظت بیوپلیمر) به دست آوردند [۱۳]. مظلوم و همکاران (۱۳۹۳) با بررسی ویژگی های نانو ذرات بلوبری میکروکپسوله شده توسط اینولین و بتا-سیکلودکسترین به این نتیجه رسیدند که استفاده از بتا-سیکلودکسترین به تنهایی به عنوان پوشش دهنده منجر به کاهش قطر قطرات و افزایش روغن سطحی شد که علت آن بیش از حد کوچک بودن اندازه قطر ذرات بود [۱۴].

هدف اصلی از پژوهش حاضر بررسی اثر کاربرد نسبت های مختلف صمغ عربی، سدیم کازئینات و بتا-سیکلودکسترین به عنوان مواد دیواره برایدرون پوشانی روغن هسته انار در قالب طرح مخلوط بود تا اثر متغیرهای مورد مطالعه بر میزان کدورت انجام گیرد. در ادامه کار بهینه سازی نمونه ها با در نظر گرفتن کمترین میزان کدورت حاصله جهت تعیین ویسکوزیته، راندمان درون پوشانی، SEM، FT-IR و DLS انجام گرفت تا در نهایت بهترین نسبت ترکیبی از مواد دیواره با کمترین میزان کدورت و بالاترین راندمان درون پوشانی برای غنی سازی مواد غذایی معرفی شوند.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

۱. یکوزا پنتانویک اسید/ دوکوزا هگزانویک اسید . 2.

1. Encapsulation

مواد مورد استفاده در این پژوهش کازئینات سدیم (Ingredia، فرانسه)، صمغ عربی (شرکت Scharlou، اسپانیا)، بتاسیکلودکسترین (شرکت Sigma-Aldrich، آمریکا) و روغن هسته انار با حداقل ۷۶ درصد پونیسینیک اسید (شرکت نوشاد اصفهان) بود.

۲-۲-۲ روش‌ها

۲-۲-۲-۱ فرآیند درون پوشانی

ابتدا محلول‌هایی با نسبت مختلف از مواد دیواره (غلظت کل مواد جامد ۲۰ درصد وزنی/حجمی) شامل بتاسیکلودکسترین، صمغ عربی و سدیم کازئینات در آب مقطر مطابق با طرح آماری جدول ۱ تهیه شدند. سپس روغن هسته انار (۱۰٪) به تدریج به محلول‌های آماده اضافه شده و هم‌ژنایزر اولتراسونیک

برای هم‌ژنه کردن نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌ها بعد از درون پوشانی، بوسیله خشک کن انجمادی (Dena vacuum industry، Iran) به پودر تبدیل شده و برای آزمون‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفتند.

در ابتدا جهت تعیین نمونه بهینه، کدورت نمونه‌ها به عنوان تابعی از مواد دیواره اندازه‌گیری شده و نمونه‌هایی با میزان کدورت پایین به عنوان نمونه‌های بهینه انتخاب گردیدند. نمونه‌های بهینه با سطوح مورد نظر از مواد دیواره دوباره تهیه شده و آزمون‌های کدورت، ویسکوزیته، پتانسیل زتا، طیف سنجی فروسرخ، مورفولوژی سطح کپسول‌ها، راندمان درون پوشانی، قطر متوسط و توزیع اندازه ذرات بر روی نمونه‌های بهینه انجام گرفت.

Table 1 Formulas composition of microcapsules by mixture design

β -cyclodextrin(%)	Sodium caseinate(%)	Gum arabic (%)	Run
0	0	100	1
33.3	33.3	33.3	2
100	0	0	3
0	50	50	4
50	0	50	5
66.7	16.7	16.7	6
16.7	16.7	66.7	7
0	100	0	8
0	100	0	9
100	0	0	10
50	50	0	11
16.7	66.7	16.7	12
50	50	0	13
0	0	100	14

$$D[4,3] = \frac{\sum_{i=1}^n n_i d_i^4}{\sum_{i=1}^n n_i d_i^3} \quad (1)$$

d_i قطر ذرات $D[4,3]$; میانگین قطر حجمی
یکنواختی اندازه ذرات با استفاده از معادله میانگین قطر حجمی
(فرمول ۲) ارزیابی گردید:

$$\text{Span} = \frac{D(90\%) - D(10\%)}{D(50\%)} \quad (2)$$

عبارت است از قطری که حجم ذرات کوچکتر از $D(90\%)$ آن، ۹۰ درصد حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد. $D(50\%)$ قطری که حجم ذرات کوچکتر از آن، ۵۰ درصد حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد

۲-۲-۲-۲ اندازه‌گیری کدورت

کدورت نمونه‌ها با دستگاه توربیدومتر (HACH, 2100AN Turbidimeter, Germany) بر حسب واحد NTU اندازه‌گیری شد.

۲-۲-۲-۳ تعیین قطر متوسط و توزیع ذرات

توزیع اندازه ذرات (PDI^3) و قطر متوسط (Z-Average) آنها در دستگاه آنالیز کننده اندازه ذرات (Malvern instruments، Worcester-shire, UK) براساس تفرق نور لیزر در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. متوسط اندازه ذرات براساس میانگین قطر حجمی (فرمول ۱) تعیین شد:

3. polydispersity index

۲-۲-۲-اندازه‌گیری روغن کل^۵

در این روش، ۲ میلی‌لیتر آب مقطر به ۰/۵ گرم پودر میکروکپسول روغن هسته انار اضافه و به مدت ۱ دقیقه ورتکس شد. محلول حاصل با ۲۵ میلی‌لیتر از هگزان/ ایزوپروپانول (۱:۳) استخراج شد سپس روغن کل با استفاده از روش ذکر شده برای روغن سطحی استخراج شد [۱۶].

۲-۲-۷-طیف‌سنجی فروسرخ (FT-IR)

آنالیز FT-IR برای مشاهده ساختار شیمیایی و کپسول‌های بهینه سازی شده انجام گرفت. نمونه‌ها با روش قرص سازی با KBr آماده شدند. پودر نمونه‌ها داخل یک قالب بصورت قرص کوچک با ضخامت حدود ۱ mm پرس شدند. طیف‌سنجی توسط اسپکتروفتومتر (Shimadzu ir-prestige21) FT-IR با قدرت تفکیک 4cm^{-1} در محدوده 4000cm^{-1} تا 400cm^{-1} انجام گرفت.

۲-۲-۸-مورفولوژی سطح کپسول‌ها (SEM)

مورفولوژی سطحی ذرات و کپسول‌ها توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی مشاهده شد. در این نوع میکروسکوپ، الکترون به سطح نمونه تابیده شده و منعکس می‌گردد. سپس توسط دتکتور جمع‌آوری و به فوتون نوری تبدیل می‌شود تا تصویر مرئی ایجاد گردد. بدین منظور نمونه‌ها با یک لایه نازک رسانای طلا پوشش داده شده و سپس مورفولوژی آنها با استفاده از یک میکروسکوپ الکترونیکی روبشی (VEGA/TESCAN-XMU) در یک ولتاژ شتاب دهنده ۱۰ تا ۲۰ کیلووات مشاهده گردید.

۲-۲-۹-طرح آزمایش و آنالیز آماری

طرح آماری مخلوط (Mixed Design) به منظور بررسی اثرات نسبت مواد دیواره (سدیم کازئینات، صمغ عربی و بتاسیکلودکسترین) بر روی کدورت استفاده شد. از آنالیز واریانس و رگرسیون برای پردازش و ارزیابی مدل‌ها استفاده گردید. سطح خطای نوع اول ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. برای آنالیز و رسم نمودارها از نرم افزار Design Expert 10 استفاده گردید.

۳-نتایج و بحث‌ها

(قطر میانه). (10%) D قطری که حجم ذرات کوچکتر از آن، ۱۰ درصد حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد [۱۵].

۲-۲-۴-اندازه‌گیری پتانسیل زتا

پتانسیل زتای ذرات معلق یا محلول در یک مایع بر اساس تحرک الکتروفوریتیکی آنها بوده و برحسب میلی‌ولت بیان می‌شود. هدف از اندازه‌گیری پتانسیل زتا تعیین بار سطحی ذرات پراکنده در محلول‌های آبی است. پتانسیل زتای کپسول‌ها با استفاده از دستگاه زتا سائزر (Malvern Instruments, Worcestershire, UK) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. قبل از آنالیز، امولسیونها با استفاده از آب مقطر تا غلظت ۰/۰۶٪ رقیق شدند.

۲-۲-۵-اندازه‌گیری ویسکوزیته

ویسکوزیته نمونه‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با یک ویسکومتر بروکفیلد (LV DV-III Ultra, Ma, USA) Brookfield Engineering Laboratories Inc., اسپیندل LV-1 با دور ۶۰ rpm بعد از ۳۰ ثانیه تعیین شد.

۲-۲-۶-راندمان درون پوشانی

برای محاسبه روغن درون پوشانی شده در میکرو کپسول‌ها، دو فاکتور روغن سطحی و روغن کل اندازه‌گیری شده و راندمان بر اساس فرمول ۳ محاسبه شد [۱۶].

$$100 \times \frac{\text{روغن سطحی} - \text{روغن کل}}{\text{راندمان درون پوشانی روغن کل}}$$

*روغن کل = روغن سطحی + روغن درون پوشانی شده

۲-۲-۱-اندازه‌گیری روغن سطحی^۴

۱ گرم نمونه با ۸ میلی‌لیتر N هگزان در زیر هود مخلوط و به مدت ۲ دقیقه ورتکس گردید. سپس محلول با سرعت ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شده و توسط کاغذ صافی (Whatman, 11 cm, MN 615)، فیلتر شد. حلال موجود در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت در آون تبخیر و سپس روغن باقیمانده وزن گردید [۱۷].

۳-۱- کدورت

اثر برهمکنش بین آن‌ها یعنی $A*B$ (صمغ عربی و سدیم کازئینات)، $A*C$ (صمغ عربی و بتاسیکلودکستین)، $B*C$ (سدیم کازئینات و بتاسیکلودکستین) نیز بر روی کدورت معنادار بود ($P < 0.05$). همانگونه که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، میزان کدورت در تیمارهای ترکیبی از صمغ عربی و بتاسیکلودکستین در سطوح بالای سدیم کازئینات و همچنین در تیمارهایی با ترکیب صمغ عربی و بتاسیکلودکستین در عدم حضور سدیم کازئینات یا مقادیر کم آن افزایش می‌یابد ولی مقدار آن در تیمارهایی با مقادیر کم سدیم کازئینات همراه با بتاسیکلودکستین و یا صمغ عربی کاهش می‌یابد. کمپلکس‌های حاصل از صمغ عربی، سدیم کازئینات و بتاسیکلودکستین کدورت را به طور معنی‌داری افزایش داد.

کدورت به عنوان تابعی از عوامل مورد مطالعه (صمغ عربی، سدیم کازئینات و بتاسیکلودکستین) با استفاده از معادله ۴ بصورت زیر بدست آمد.

$$Y_1 = 8225.95*A + 20570.4*B + 8841.15*C - 45701*A*B + 23736.6*A*C - 45481*B*C + 101451*A*B*C \quad (4)$$

که A, Y_1, B, C به ترتیب نشان دهنده کدورت، صمغ عربی، سدیم کازئینات و بتاسیکلودکستین می‌باشند.

طبق نتایج آنالیز آماری، مدل چند جمله‌ای برازش داده شده با داده‌های آزمایشی از نظر آماری معنادار ($P < 0.05$) و R^2 و $adj-R^2$ آن به ترتیب ۰/۹۹۸ و ۰/۹۹۴ و عدم تطابق مدل نیز غیر معنادار بود. در بین فاکتورهای مورد مطالعه اثر خطی فاکتورها و

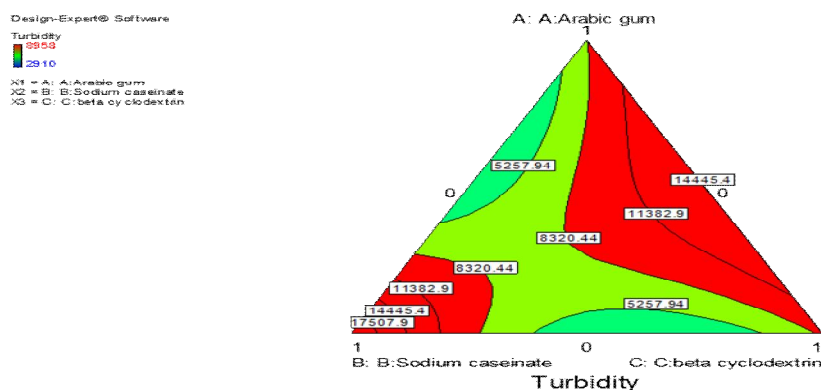


Fig 1 Contour plot effect of interaction between gum arabic, sodium caseinate and beta-cyclodextrin on the turbidity

کازئینات ممکن است به دلیل دافعه حاصل از تجمع بار منفی اطراف صمغ عربی و بتاسیکلودکستین کدورت کاهش یابد. Ron و همکاران در سال ۲۰۱۰ کاهش کدورت کمپلکسپکتین- بتالاکتوگلوبولین را با افزایش غلظت پکتین گزارش نمودند [۱۹].

بهینه سازی نمونه‌ها با هدف تعیین نسبت مواد دیواره با کمترین میزان کدورت انجام یافت و سه نمونه (با درصد ترکیبات ۶۲/۹ صمغ عربی+۳۷/۱ سدیم کازئینات، ۵۰٪ صمغ عربی+۵۰٪ سدیم کازئینات، ۵۰٪ سدیم کازئینات+۵۰٪ بتاسیکلودکستین) با تابع مطلوبیت یکبه عنوان نمونه‌های بهینه برای ادامه کار تعیین شدند. همانگونه که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، تیمار ۳

با توجه به اینکه افزایش در میزان کدورت سیستم‌های کلوئیدی حاوی کمپلکس پروتئین- پلی ساکارید، به دو عامل افزایش در اندازه ذرات و افزایش در تعداد کمپلکس‌های تشکیل شده مربوط می‌باشد [۱۲]، افزایش بار مثبت در غلظت‌های بالای کازئینات احتمالاً موجب افزایش اتصالات کازئینات با صمغ عربی و یا بتاسیکلودکستین شده و در نتیجه موجب کاهش اتصال با آب می‌گردد و همچنین با کاهش گروه‌های با بار منفی در سطح صمغ عربی و بتاسیکلودکستین، ذرات به همدیگر متصل شده و اندازه ذرات افزایش یافته که در نهایت منجر به تشکیل کمپلکس نامحلول و افزایش کدورت می‌شود [۱۸]. در نسبت ترکیبی از صمغ عربی و بتاسیکلودکستین در عدم حضور یا مقادیر کم از سدیم

نتایج جدول ۲، کدورت با متوسط اندازه ذرات (Z-Average) رابطه مستقیم و با توزیع اندازه ذرات (PDI) رابطه عکس دارد.

(نسبت ۱ به ۱ سدیم کازئینات و بتاسیکلودکستین) کمترین میزان کدورت را نشان می دهد. با افزودن بتاسیکلودکستین به اجزاء دیواره کپسولی میزان کدورت کاهش یافت. با توجه به

Table 2 Encapsulation performance of pomegranate seed oil prepared from optimized ratios of wall materials

Z.Potential (mV)	PDI	Z-Average (d.nm)	EE (%)	Viscosity (Pa/s)	Turbidity (NTU)	BC-D (%)	SC (%)	GA (%)	Run
-25.7	0.296	1680	73.31	29.2	3419	0	37.1	62.9	1
-18.8	0.148	2672	71.3	27.2	3449	0	50	50	2
-20.7	0.308	439	27.63	42	3348	50	50	0	3

EE: Encapsulation efficiency; BC-D: Beta- cyclodextrin; SC: Sodium caseinate; GA: Gum Arabic.

۷۱/۱۳٪ کاهش یافت، این پدیده به ساختار پروتئینی کازئیناتها مربوط است که ترکیباتی با حلالیت بسیار بالا می باشند و با روغن موجود امولسیون یکنواخت ایجاد می کنند [۱۱]. استفاده از بتاسیکلودکستین در ترکیب با سدیم کازئینات باعث کاهش چشمگیر راندمان می شود که علت این پدیده را می توان به کوچک بودن بیش از اندازه قطر ذرات بتاسیکلودکستین و عدم توانایی آن در جلوگیری از تراوش روغن به سطح ذرات نسبت داد [۱۴].

گل محمد و همکاران (۱۳۹۵) در مطالعه ای شرایط بهینه برای میکروکپسوله شدن روغن هسته انار با صمغ عربی و سدیم کازئینات به روش خشک کردن پاششی را مورد بررسی قرار دادند. در مقدار ثابت روغن، افزایش غلظت سدیم کازئینات منجر به کاهش راندمان میکروانکپسولاسیون شد [۱۴].

۳-۴- اندازه ذرات و پتانسیل زتا

با توجه به جدول ۲ می توان دریافت متوسط اندازه ذرات تحت تاثیر غلظت، نوع و نسبت مواد دیواره می باشد. اندازه ذرات میکروکپسوله تشکیل شده به وسیله بتاسیکلودکستین-سدیم کازئینات نسبت به ذرات تشکیل شده به وسیله صمغ عربی-سدیم کازئینات کمتر بود. استفاده از بتاسیکلودکستین به جای صمغ عربی در ترکیب با سدیم کازئینات منجر به تولید ذرات کوچک تر می شود که به علت ساختار نانو ذره ای آن می باشد [۱۴]. با کاهش نسبت صمغ عربی (تیمار ۲) به سدیم کازئینات، متوسط اندازه ذرات افزایش یافت. با توجه به اینکه خصوصیات

۳-۲- ویسکوزیته

با توجه به جدول ۲، ویسکوزیته با تغییر نوع و نسبت مواد دیواره تغییر می کند و افزایش نسبت سدیم کازئینات یا به عبارت دیگر کاهش نسبت صمغ عربی، ویسکوزیته را کاهش می دهد. درحالی که با تغییر نوع ماده دیواره یعنی افزودن بتاسیکلودکستین به جای صمغ عربی افزایش چشمگیری در مقدار ویسکوزیته مشاهده می شود. بنابر تحقیقات پژوهشگران مختلف کاهش ویسکوزیته در تیمار ۲ را می توان چنین توجیه کرد که در غلظت های پایین پلی ساکاریدهای آنیونی مقادیر کافی آن برای پوشاندن ذرات کازئینی وجود نخواهد داشت و تنها بخشی از سطح کازئینت وسط پلی ساکارید آنیونی پوشانده می شود و زنجیره های آزاد آن ها می توانند با ذرات دیگر پل تشکیل دهند و نوعی انبوهش (فلاکولاسیون) که انبوهش ناشی از پل گفته می شود، رخ دهد که به نوبه خود می تواند منجر به افزایش ویسکوزیته گردد [۱۲].

۳-۳- راندمان درون پوشانی

با توجه به جدول ۲ مقادیر راندمان به دست آمده در مقادیر ثابت روغن هسته انار برای تیمار ۱ و ۲ بیشتر از تیمار ۳ بود که آن را می توان به توانایی امولسیفیه کنندگی صمغ عربی نسبت داد [۲۰]. بطوریکه در نسبت ۳۷/۱٪ سدیم کازئینات + ۶۲/۹٪ صمغ عربی، کارایی انکپسولاسیون در بیشترین مقدار (۷۳/۳۱٪) بود اما این مقدار با افزایش غلظت سدیم کازئینات نسبت به صمغ عربی به

عدد موجی و شدت پیوندها و گروه‌ها برای هر پلی ساکارید و پروتئینی اختصاصی است. لذا طیف سنجی فروسرخ، تشخیص گروه‌های شیمیایی اصلی در پلی ساکاریدها و پروتئین‌ها و تغییر و تشکیل برهمکنش‌های جدید را میسر می‌سازد [۲۵]. در پروتئین‌ها، عدد موجی بین $1700-1200\text{ cm}^{-1}$ مربوط به آمیدهای ۱ و ۲ و ۳ است. پلی ساکاریدها با گروه‌های بنیادین موجود روی پروتئین همچون NH_2 آزاد، NH ، گروه‌های فنولی تیروزین و تیول سیستئین وارد واکنش می‌شود. این ترکیبات هم از نظر کمی و هم از نظر کیفی بر اساس محل برقراری پیوند بر طیف پروتئین تاثیر می‌گذارند [۲۶]. با توجه به شکل ۲ پیک‌های موجود در اعداد موجی 1382 cm^{-1} و 1400 cm^{-1} می‌تواند مربوط به آمیدها باشد. پیک مربوط به پیوند هیدروژنی در محدوده $3000-3500\text{ cm}^{-1}$ رخ می‌دهد [۱۸]. لذا پیک طیفی در محل عدد موجی 3444 cm^{-1} و 3404 cm^{-1} مربوط به پیوند هیدروژنی است (شکل ۲). جابه جایی جزئی در محل پیوندها، می‌تواند نشان دهنده برهم کنش بین دو پلیمر باشد [۱۸]. پیک‌های ظاهر شده در عدد موجی 2854 cm^{-1} و 2926 cm^{-1} می‌تواند مربوط به گروه‌های عاملی C-H اسیدهای چرب و در عدد موجی 1745 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی استری C=O تری گلیسیریدها باشد [۲۷]. با توجه به طیف‌ها، میزان جذب IR در محدوده عدد موجی $3300-3500\text{ cm}^{-1}$ با افزایش مقدار سدیم کازئینات (شکل ۲(B)) افزایش و با جایگزینی سدیم کازئینات با بتاسیکلودکستریل، کاهش یافت (شکل ۲(C)). در حالی که هیچ پیک جدید خاصی در ذرات دیده نشد. بنابراین طبق نتایج آزمون FT-IR می‌توان نتیجه گرفت که در درون پوشانی روغن هسته انار با بیوپلیمرهای مختلف، هیچگونه پیوند شیمیایی جدید مشخصی برقرار نشده است. بحرانسی و همکاران نتایج مشابهی برای نانوانکپسولاسیون اسیدهای چرب امگا سه توسط سدیم کازئینات و پکتین گزارش کردند [۲۷].

امولسیفایری صمغ عربی به وجود پروتئین در ساختار آن مربوط می‌باشد و لذا این بخش پروتئینی، سبب کاهش اندازه قطرات و پایداری امولسیون می‌شود [۲۱]. همچنین با توجه به وجود تعداد زیاد شاخه‌های جانبی در ساختمان صمغ عربی این ماده خاصیت امولسیفایری داشته و با اتصال کووالانسی این شاخه‌ها به قطرات روغن موجود در امولسیون ذرات کوچک‌تری را به وجود می‌آورد [۲۲].

با توجه به جدول ۲، کمترین PDI مربوط به ۵۰٪ سدیم کازئینات + ۵۰٪ صمغ عربی با بیشترین اندازه ذرات و بالاترین PDI نیز مربوط به ۵۰٪ بتاسیکلودکستریل + ۵۰٪ سدیم کازئینات با کمترین اندازه ذرات می‌باشد. با افزایش غلظت سدیم کازئینات نسبت به صمغ عربی مقدار PDI کاهش می‌یابد در حالی که با تغییر نوع ماده دیواره به بتاسیکلودکستریل به جای صمغ عربی PDI افزایش می‌یابد. در پژوهشی علی پور و همکاران (۱۳۹۴) نشان دادند که کمترین PDI مربوط به نمونه ای با بیشترین نسبت پروتئین بود.

با افزایش نسبت سدیم کازئینات به صمغ عربی، بار منفی در سطح میکروکپسول‌ها کاهش پیدا می‌کند، زیرا با توجه به اینکه صمغ عربی دارای بار منفی بیشتری است با کاهش مقدار صمغ، میزان بار منفی کاهش می‌یابد [۲۳]. همچنین جایگزینی بتاسیکلودکستریل به جای صمغ عربی در پوشش دیواره پتانسیل زتا کاهش می‌یابد. حسینی و همکاران (۱۳۹۲) نتایج مشابهی را در بررسی اثر صمغ دانه بالنگو شیرازی و پروتئین آب‌پنیر بر پایداری امولسیون روغن در آب گزارش کردند، در این پژوهش افزایش غلظت صمغ در غلظت‌های پایین پروتئین، باعث منفی‌تر شدن پتانسیل زتای امولسیون‌ها گردید اما افزایش غلظت پروتئین در امولسیون در غلظت‌های کم و زیاد صمغ به ترتیب همراه با افزایش پتانسیل زتا و کاهش آن شد [۲۴].

۳-۵- آنالیز FT-IR

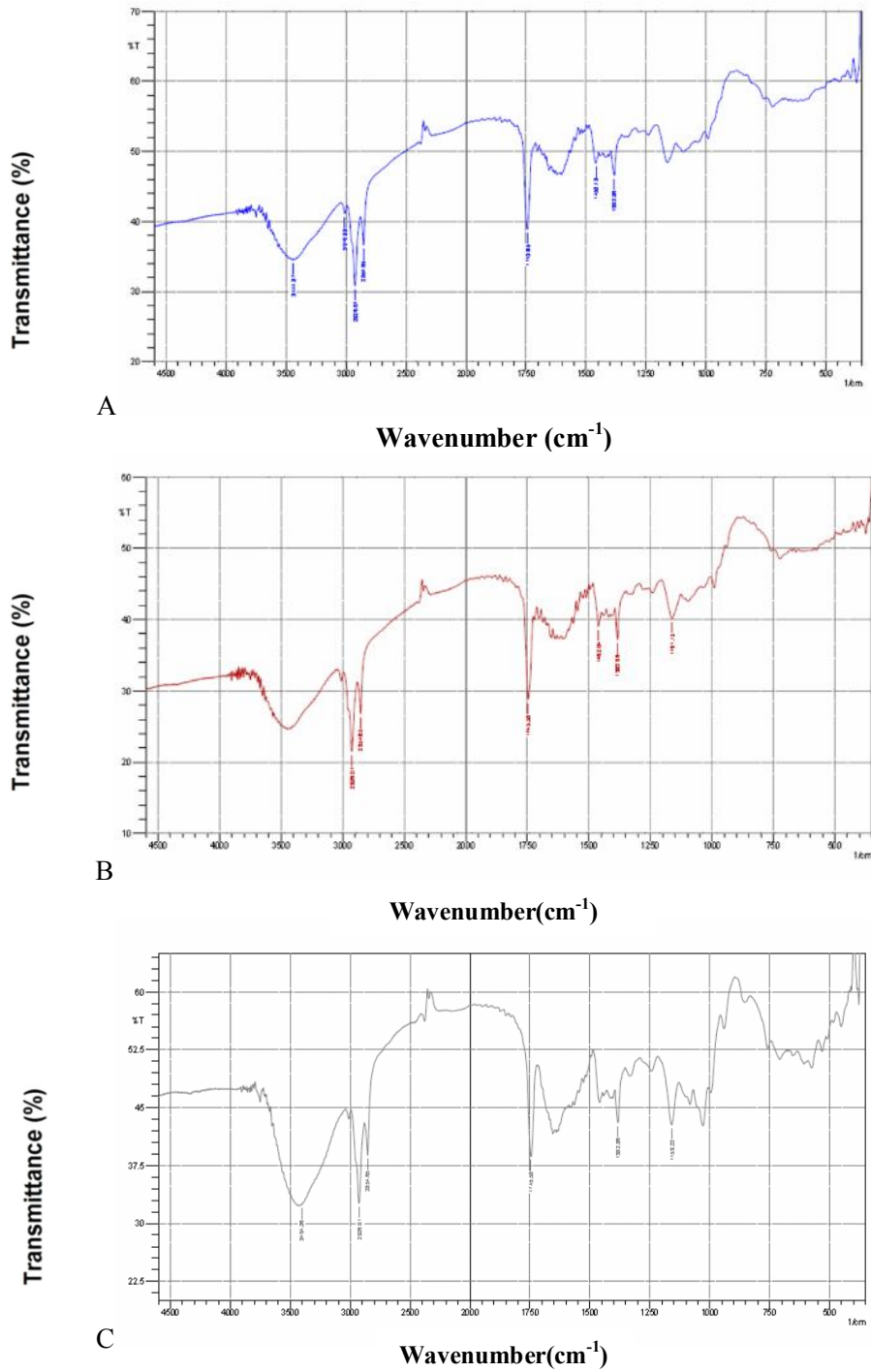


Fig 2 FT-IR spectra of: A 62.9% Arabic gum - 37.1% sodium caseinate; B 50% gum arabic - 50% sodium caseinate; C 50% sodium caseinate - 50% Beta-Cyclodextrin

۳-۶- آنالیز SEM

کازئینات و صمغ عربی ارائه نموده‌اند. آن‌ها گزارش کردند مکانیسم‌های فیزیکوشیمیایی مختلفی ممکن است مسئول تجمع قطرات پس از خشک‌کردن انجمادی باشد [۱۳].

با توجه به نتایج حاصله، شاخص پلی دیسپرسیته برای نمونه ۵۰٪ سدیم کازئینات + ۵۰٪ صمغ عربی (۰/۱۴۸) کوچکتر از دو نمونه دیگر بود. که با نتایج حاصل از آزمون SEM مطابقت دارد بطوریکه یکنواختی ذرات در این کپسولها نسبت به دو نمونه دیگر بیشترین بود (شکل ۳).

پس از خشک‌کردن انجمادی امولسیون، ذرات توسط SEM تحت بررسی قرار گرفتند. شکل ۳ (A، B و C) تصاویر میکروسکوپ الکترونیکی رویشی را برای کپسول‌های پوشیده شده با سدیم کازئینات، صمغ عربی و بتاسیکلودکسترین را نشان می‌دهد. با توجه به شکل، کپسول‌های شکل‌گرفته به‌طور نامنظم و با مورفولوژی متفاوت بودند. Ilyasoglu و همکاران (۲۰۱۴) نتایج مشابهی برای نانوانکپسولاسیون روغن ماهی توسط سدیم

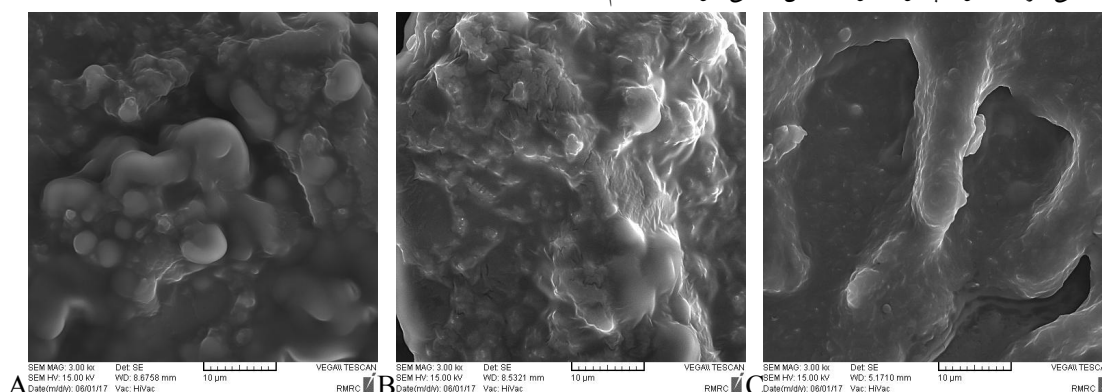


Fig 3 Scanning electron microscope image of pomegranate oil emulsion powder stabilized by; A: 62.9% Arabic gum and 37.1% sodium caseinate; B: 50% gum arabic and 50% Sodium Caseinate; C: 50% sodium caseinate and 50% beta-cyclodextrin

سنجی فرسرخ تشکیل کمپلکس و ایجاد برهمکنش بین سدیم کازئینات، صمغ عربی، بتاسیکلودکسترین برای درون پوشانی روغن هسته انارانشان داد. تصاویر SEM کپسول‌های شکل‌گرفته را به‌طور نامنظم و با مورفولوژی متفاوت مشخص نمود و بیشترین یکنواختی ذرات در نمونه ۵۰٪ صمغ عربی + ۵۰٪ سدیم کازئینات مشاهده گردید.

۵-تشریح و قدردانی

از دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه بابت هماهنگی‌هایی که هبه منظور تهیه نمونه‌ها صورت گرفت، مرکز تحقیقات کاربردی دارویی تبریز بابت انجام آنالیز DLS، از آزمایشگاه متالوژی رازی بابت انجام آنالیز SEM و از دانشکده علوم پایه دانشگاه ارومیه جهت انجام آنالیز FT-IR در اجرای این مطالعه سپاسگزاری می‌شود.

۴-نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه امروزه غنی‌سازی مواد غذایی از اهمیت خاصی برخوردار است، استفاده از مکمل‌های غذایی حاوی مواد آنتی‌اکسیدانی، می‌تواند بخشی از این خلأ را در صنعت غذایی برطرف نماید. در این پژوهش از بتاسیکلودکسترین، سدیم کازئینات و صمغ عربی به‌عنوان پوشش دیواره جهت انکپسولاسیون روغن هسته انار استفاده شد. با توجه به نتایج، کدورت با متوسط اندازه ذرات رابطه مستقیم و با توزیع اندازه ذرات رابطه عکس دارد. افزایش سدیم کازئینات و تغییر نوع ماده دیواره به بتاسیکلودکسترین به جای صمغ عربی ویسکوزیته را افزایش داد. مقادیر راندمان به‌دست‌آمده برای نمونه‌های حاوی سدیم کازئینات-صمغ عربی بیشتر از سدیم کازئینات-بتاسیکلودکسترین بود. اندازه‌گیری‌های پتانسیل زتا نشان داد که صمغ عربی با افزایش پتانسیل منفی دور ذرات سدیم کازئینات، نقش مهمی را می‌تواند در پایداری آن‌ها ایفا کند. طیف

۶- منابع

- by spray dryer. *Journal of Modern Food Science and Technology*, 3(11), 25-38.
- [12] Azizanbari, C., Ghanbarzadeh, B., Hamishekar, H., and Hosseini, M., 2013. Gellan-Caseinate Nanocomplexes as a Carrier of Omega-3 Fatty Acids: study of Particle size. Rheological Properties and Encapsulation Efficiency, 19-42.
- [13] Ilyasoglu, H., El, S. N., 2014. Nanoencapsulation of EPA/DHA with sodium caseinate-gum arabic complex and its usage in the enrichment of fruit juice. *LWT - Food Science and Technology*, 56(2), 461-468.
- [14] Mazloom, A., Hashemiravan, M., Farhadyar, N., and Farhadyar, F., 2012. Influence of Inulin and β -cyclodextrin on the Properties of Blueberry Nano-emulsion and its Microcapsules. *Int. J. Bio-Inorg. Hybd. Nanomat*, 1(2), 93-96.
- [15] McClements, D. J., 2004. Protein-stabilized emulsions. *Current opinion in colloid & interface science*, 9(5), 305-313.
- [16] Klinkesorn, U., Sophanodora, P., Chinachoti, P., Decker, E. A., and 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.
- [17] Hardas, N., Danviriyakul, S., Foley, J., Nawar, W., and Chinachoti, P., 2000. Accelerated stability studies of microencapsulated anhydrous milk fat. *LWT-Food Science and Technology*, 33, 506-513.
- [18] Khoshmanzar, M., Ghanbarzadeh, B., Hamishekar, H., Sowti., M. and Rezayi. M. R., 2012. Investigation of effective parameters on particle size, zeta potential and steady rheological properties of colloidal system based on carrageenan-caseinate nanoparticles. *Journal of research and innovation in food science and technology*, 255-272.
- [19] Ron, N., Zimet, P., Bargarum, J., and Livney, Y. D., 2010. Beta-lactoglobulin-polysaccharide complexes as nanovehicles for hydrophobic nutraceuticals in non-fat foods and clear beverages. *International Dairy Journal*, 20, 686-693.
- [20] Mir, A. M. M., arianfar, A., and shahidinoqhabi, M., 2015. Microencapsulation
- [1] Maxwell, S. R. J., 1995. Prospects for the use of Antioxidant therapies. *Drugs*, 49(3), 345-361.
- [2] Anilkumar, M., 2010. Ethnomedicinal plants as anti-inflammatory and analgesic agents. *Ethnomedicine: A source of complementary therapeutics*, 267-293.
- [3] Fazaali, M., Yousefi, S., and Emam-Djomeh, Z., 2013. Investigation on the effects of microwave and conventional heating methods on the phytochemicals of pomegranate (*Punica granatum L.*) and black mulberry juices. *Food Research International*, 50(2), 568-573.
- [4] Eikani, M. H., Golmohammad, F., and Homami, S. S., 2012. Extraction of pomegranate (*Punica granatum L.*) seed oil using superheated hexane. *Food and Bioproducts Processing*, 90, 32-36.
- [5] Al-Maiman, S.A. and Ahmad, D., 2002. Changes in physical and chemical properties during pomegranate (*Punica granatum L.*) fruit maturation. *Food Chem.* 76, 437-441.
- [6] Abbasi, H., Rezaei, K., Emamdjomeh, Z. and Ebrahimzadeh Mousavi, S. M., 2008. Effect of various extraction conditions on the phenolic contents of pomegranate seed oil. *European journal lipid science and technology*, 110, 435-440.
- [7] Jones, O. G., Lesmes, U., Dubin, P., and McClements, D. J., 2010. Effect of polysaccharide charge on formation and properties of biopolymer nanoparticles created by heat treatment of β -lactoglobulin-pectin complexes. *Food Hydrocolloids*, 24(4), 374-383.
- [8] Sekhon, B. S., 2010. Food nanotechnology – an overview. *Nanotechnol Sci Appl*, 3, 1-15.
- [9] Vos, P., Faas, M. M., Strand, B. and Calafiore, R., 2006. Alginate-based microcapsules for immunoisolation of pancreatic islets. *Biomat*, 27, 5603–5617.
- [10] Risch, S. J., 1995. Encapsulation: overview of uses and techniques. Washington, American Chemical Society, 1-7.
- [11] Golmohammad, F., Eikani. M. H., Shokrollahzadeh. S. and sedrpoushan, A. L., 2016. Determination of Optimum Conditions for Microencapsulation of Pomegranate seed oil

- Shirazi seed gum and Protein on the Stability of Oil Emulsion in Water. *Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology*, 2(2), 109-120.
- [25] Sarblooki, M., 1995. *Practical of Organic Chemistry*. Publication of Jihad.
- [26] Santinho, A. J., Pereira, N. L., de Freitas, O., and Collett, J. H., 1999. Influence of formulation on the physicochemical properties of casein microparticles. *International journal of pharmaceutics*, 186(2), 191-198.
- [27] Bohrani, S., Ghanbarzadeh, B., Hamishehkar, H. and Khiyabani, M. S., 2013. Nanocapsulations of omega-3 fatty acids by pectin-caseinate carriers: Study of complex formation, particle size and encapsulation efficiency. *Iranian journal of nutrition sciences and food technology*, 8(3), 1-15.
- of ginger oil in green tea extract using maltodextrin and modified starch. *Iranian journal of food science and technology*, 63-72.
- [21] Dickinson, E., 2003a. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17, 25-39.
- [22] Randall, R. C., Phillips, G. O., and Williams, P. A., 1988. The role of the proteinaceous component on the emulsifying properties of gum Arabic. *Food Hydrocolloids*, 2, 131-140.
- [23] Alipour, A., Koocheki, A., Kadkhodae, R., and Varidi, M., 2015. The effect of alyssum homolocarpum seed gum-whey protein concentrate on stability of oil-in-water emulsion. *Journal of Food Science and Technology*, 48(12), 163-174.
- [24] Hosseini, V. S., Najafi, M. N., Sani, S. A. and Kucheki, A., 2013. Effect of Balango

Encapsulation of pomegranate seed oil by various carriers and determine its physicochemical characteristics

Akbarlou, S. ¹, Alizadeh, M. ², Pirsai, S. ³, Mohtarami, F. ^{4*}

1. MS Graduated in Food Science and Technology, Agriculture Faculty, Urmia University.

2. Professor, Food Science and technology Department, Agriculture Faculty, Urmia University

3. Associate professor, Food Science and technology Department, Agriculture Faculty, Urmia University

4. Assistant professor, Food Science and technology Department, Agriculture Faculty, Urmia University

(Received: 2018/01/31 Accepted:2018/09/04)

The aim of the present study was to determine the proper concentrations of gum arabic (GA), sodium caseinate (SC) and β -cyclodextrin (β C) for the encapsulation of pomegranate seed oil (PSO). To this end, β C, SC and GA were used as wall material for the encapsulation of PSO by mixture design and then the optimum samples with the least turbidity were selected for examining turbidity, the encapsulation efficiency, zeta potential, FT-IR and SEM. The turbidity value at high levels of SC and also in the combination of GA with β C in the absence of SC or its small amounts increased. However, the combination of low-SC with β C or GA reduced it. The results of viscosity indicated that the samples containing β C and SC had higher viscosity than the GA-SC. The highest encapsulation efficiency was related to the mixture of 37.1% SC and 62.9%GA, which had the lowest surface oil. According to the result of DLS, the diameter of capsules had inversely correlated with the polydispersity index, according to which the smallest capsule diameter was related to the mixture of β C and SC. The highest zeta potential was related to the mixture of 62.9%GA and 37.1%SC. The result of FTIR confirmed the formation of the complex and the interaction between SC, GA, β C for encapsulation of PSO. The electronic microscope indicated that the microcapsules were irregular and different in terms of morphology. Therefore, according to the results, the mixture of 37.1%SC and 62.9%GA is recommended for PSO encapsulation.

Keywords: Encapsulation, Pomegranate seed oil, FTIR, SEM, DLS

* Corresponding Author E-Mail Address: Mohtarami.f@gmail.com