



## استفاده از بتاکاروتن درون پوشانی شده با پروتئین آب پنیر و کازئین و بررسی اثرات آن در ماندگاری روغن کانولا طی شرایط نگهداری

سید سجاد ملک حسینی<sup>۱</sup>، علیرضا شیرازی نژاد<sup>۲\*</sup>، سید محمد باقر هاشمی<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سروسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، سروسنجان، ایران.

۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سروسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، سروسنجان، ایران.

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

### اطلاعات مقاله

### چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۲۰

کلمات کلیدی:

پروتئین آب پنیر،

کازئین،

بتاکاروتن،

ریزپوشانی،

روغن کانولا.

DOI: 10.52547/fsct.18.09.03

\* مسئول مکاتبات:

drshirazinejad@gmail.com

ریزپوشانی یک تکنولوژی مناسب جهت گنجانیدن عوامل فعال در داخل یک حامل می باشد. در این مطالعه نسبت های وزنی از دو محلول کازئین و پروتئین آب پنیر به نسبت های ۷۰:۳۰، ۵۰:۵۰ و ۳۰:۷۰، حاوی ۵ درصد وزنی بتاکاروتن در ۱۰۰ گرم ماده دیواره جهت ریزپوشانی به روش خشک کن پاششی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد نمونه های حاوی ۷۰ درصد پروتئین آب پنیر و ۳۰ درصد کازئین بهترین پارامترهای فیزیکی و شیمیایی را نشان داده است. نتایج نشان داد کارایی ریزپوشانی (۷۰/۴۲۶ درصد)، ترکیبات فنولی (۴/۱۰۶ میکروگرم/میلی گرم)، مهار رادیکالی آزاد (۳۶/۸۵۶ درصد)، پایداری رنگ بتاکاروتن (۷۵/۱۷۶ درصد) و FRAP (۳۰۴/۱۵۶ میکرومول آهن در گرم) نمونه ها در خلال افزایش غلظت پروتئین آب پنیر، روندی صعودی را طی نمود ولی اندازه ذرات (۱۱/۰۸۶ نانومتر) با افزایش غلظت پروتئین آب پنیر به طور معنی داری روندی کاهشی را نشان داد. در ادامه مطالعه نمونه نسبت ۳۰ درصد کازئین به ۷۰ درصد پروتئین آب پنیر به عنوان بهترین تیمار معرفی و سپس در سه غلظت (۲۰۰، ۷۰۰ و ۱۲۰۰ پی پی ام) به نمونه روغن کانولا اضافه شد. نتایج نشان داد میزان ترکیبات قطبی، اسیدی، پراکسید نمونه های روغن در طی زمان روندی صعودی و شاخص پایداری روندی کاهشی را طی نموده است. با افزایش غلظت ریزکپسول تا ۱۲۰۰ پی پی ام در مقایسه با غلظت کمتر خود میزان عدد قطبی، پراکسید و اسیدی به طور معنی داری کمتر بود. در نتیجه گیری نهایی میزان عدد اسیدی، پراکسید و عدد قطبی روغن حاوی ۱۲۰۰ پی پی ام در کمترین میزان به ترتیب ۷/۴۶، ۱/۱۳، ۷/۴۶ میلی اکسیژن بر کیلوگرم روغن و ۴۲/۴۱ درصد بود. بطور کلی نتایج این مطالعه نشان داد پروتئین آب پنیر/کازئین یکی از منابع مهم می باشد که می توان از آن برای پوشش دهی ترکیبات زیست فعال استفاده نمود.

## ۱- مقدمه

ریزپوشانی روشی است که موجب حفاظت بیشتر مواد حساس، زیست‌فراهمی بیشتر آن‌ها، انحلال مواد آبریز در محیط‌های آبی، افزایش جذب زیستی به علت اتصال بهتر برخی حامل‌ها به غشاء سلولی، حفاظت اثرات طعمی و رنگی مواد زیست‌فعال و رهایش کنترل شده این مواد می‌شود [۱]. نانوحامل‌های مورد استفاده در فرآوری مواد غذایی را می‌توان به دو دسته نانوکپسول‌های بیوپلیمری و نانوکپسول‌های لیپیدی تقسیم کرد [۲]. ریزپوشانی با استفاده از خشک‌کن پاششی رایج‌ترین روش حفظ مواد فعال و حساس محلول در چربی ترکیبات غذایی همچون مواد معطر، اسانس‌های روغنی، الثورزین‌های ادویه‌جات، اسیدهای چرب، روغن‌های خوراکی، آنتی‌اکسیدان‌ها [۳]، روغن ماهی، پروبیوتیک‌ها و مواد رنگی بوده که موجب افزایش پایداری این ترکیبات شده است [۴]. این روش دارای چهار مرحله آماده‌سازی امولسیون با مخلوط دیواره و هسته، همگن‌سازی امولسیون حاصله، پاشش امولسیون توسط نازل در محفظه تبخیر و در نهایت آگیری از ذرات پاشیده شده توسط هوای داغ و تولید ذرات ریز جامد می‌باشد [۵]. در این روش از مواد متنوعی به صورت تکی یا ترکیبی به عنوان پوشش دهنده استفاده می‌شود [۶].

موادی که به عنوان دیواره یا پوشش در ریزپوشانی با خشک‌کن پاششی به کار می‌روند باید به خوبی محلول در آب باشند. ماده‌ای که دیواره را در بر می‌گیرد تحت عنوان ماتریس دیواره، فاز خارجی، غشاء یا پوسته شناخته می‌شود. مواد حامل مورد استفاده در کپسوله کردن برای محصولات و یا فرایندهای غذایی باید در رده مواد غذایی بوده و قادر به تشکیل یک دیواره اطراف عوامل فعال باشند [۵]. در این تکنیک اجزای مواد غذایی نظیر آنزیم‌ها، مواد معدنی، ویتامین‌ها، اسانس‌ها، روغن‌ها و میکروارگانیزم‌ها می‌توانند پوشش داده شوند [۲]. در مطالعات فراوانی تاثیر روش خشک‌کن پاششی جهت تولید نانوکپسول مورد بررسی قرار گرفته است. در مطالعه ای ریبرو و همکاران (۲۰۱۹) نحوه آزادسازی و پایداری ترکیبات فنولی عصاره آلدبرری ریزپوشانی شده به روش خشک‌کن پاششی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج بررسی نشان داد

عصاره ریزپوشانی شده بطور معنی داری پایداری بالایی را نسبت به شرایط شبیه سازی شده از خود نشان داده است. همچنین ویژگی‌های مورفولوژیکی کپسول نشان داده که سطح کپسول کاملاً صاف بوده است [۷]. تسعلی و گوالا (۲۰۱۸) ارزش زیستی و پایداری انبارمانی ترکیبات فنلی هسته انگور را با استفاده از روش مایکروویو استخراج و به روش خشک‌کن پاششی ریزپوشانی کردند. از مخلوط مالتودکسترین و پروتئین‌های شیر به عنوان دیواره ریزپوشانی استفاده شد. آن‌ها گزارش نمودند که در این روش میزان راندمان انکپسولاسیون ۴۹/۹۲ درصد بوده است و عملکرد آن ۲۸/۳۷ درصد را نشان داد. همچنین نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پایداری انبارمانی نشان داد که ترکیبات ریزپوشانی شده در طی مطالعه دارای ثبات بالا و عملکرد آنتی‌اکسیدانی بالایی بوده است [۸]. پروتئین‌های شیر دارای ویژگی‌های عملکردی فراوان هستند و به دو دسته مهم کازئین‌ها و پروتئین‌های آب پنیر تقسیم می‌شوند. این پروتئین‌ها، در شیر میسل‌هایی تشکیل می‌دهد که به‌عنوان نانوحامل طبیعی عمل می‌کنند [۶]. این پروتئین‌ها می‌توانند با برهم‌کنش‌های مختلف شامل الکتروستاتیک، هیدروژنی و آبریز، به پلی‌ساکاریدها متصل شوند، همچنین به مواد زیست‌فعال آبریز مانند ویتامین‌های محلول در چربی از طریق برهم‌کنش‌های آبریز متصل شوند و آن‌ها را محافظت کنند [۹]. کاروتنوئیدها از جمله مواد مغذی آبریز و آنتی‌اکسیدانی در مواد غذایی هستند و بتاکاروتن مهم‌ترین کاروتنوئید موجود در مواد غذایی است که پیش‌ساز ویتامین A بوده و نیز به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند [۱۰]. دارا بودن ساختار غیر اشباع و در نتیجه حساسیت آن به عوامل محیطی و همچنین آبریز بودن آن، مشکلات اصلی غنی‌سازی مواد غذایی با بتاکاروتن است. حلالیت این ترکیب آبریز با ریزپوشانی در کازئین و پروتئین آب پنیر به طور بالقوه افزایش می‌یابد و می‌تواند ثبات آن را افزایش دهد [۱۱]. علیرغم مطالعه‌های مختلف که روی ترکیبات مختلف ماده دیواره و روش‌های مختلف ریزپوشانی شده است؛ مطالعه‌های اندکی روی استفاده از استفاده از بتا کاروتن درون پوشانی شده با پروتئین آب پنیر و کازئین و بررسی اثرات آن در ماندگاری روغن خوراکی انجام شده است. بیشتر مطالعه‌ها، از پروتئین آب پنیر و کازئین در

کیلو هرتز انجام شد. فرآیند اولتراسونیکاسیون در دمای اتاق به مدت ۲ دقیقه انجام شد [۱۳].

## ۲-۳- تهیه ریزکپسول به روش خشک کن پاششی

نمونه‌های امولسیون تهیه شده با استفاده از یک خشک‌کن پاششی آزمایشگاهی (B-290-Buchi، سوئیس) با دمای ورودی ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد، سرعت خوراک دهی ۱۰ میلی‌لیتر بر دقیقه و سرعت جریان هوای ۶۰۰ لیتر در ساعت و فشار ۴ بار خشک شدند. به منظور جلوگیری از جذب رطوبت پودرهای حاصله تا زمان انجام آزمایشات فیزیکوشیمیایی در داخل دسیکاتور و در دمای اتاق دور از نور مستقیم نگهداری گردیدند [۱۴].

## ۲-۴- اندازه‌گیری کارایی ریزپوشانی

محلول ریزپوشینه‌ها (۱/۰ درصد در آب مقطر) آماده شد و با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ (هتیچ، آلمان) شد. مایع رویی با استفاده از سرنگ PTFE با اندازه منفذ ۰/۲۲ میکرومتر فیلتر شد. سپس، مایع رویی فیلتر شده (۴۰ میکرولیتر) با ۲ میلی‌لیتر استون رقیق شد و به منظور اندازه‌گیری کارایی درون پوشانی مورد استفاده قرار گرفت. جذب در ۴۵۴ نانومتر با اسپکتروفتومتر (UV 2150 Unico، آمریکا) اندازه‌گیری شد. حداکثر جذب در این طول موج ( $\lambda_{max}$ ) ثبت شده است [۱۳].

$$100 \times (P_f - P_t) / P_t = \text{کارایی انکپسولاسیون}$$

در این فرمول  $P_t$  (بتاکاروتن کل)،  $P_f$  (بتاکاروتن آزاد) می‌باشد.

## ۲-۵- تعیین اندازه ذرات

جهت بررسی اندازه ریزکپسول‌های تولیدی از دستگاه مخصوص اندازه‌گیری ذرات (Malvern 2000، انگلستان) استفاده شد. جهت سنجش اندازه ذرات پودرهای تولیدی ابتدا مقدار کمی از آن‌ها در ۲-پرپانول (مرک، آلمان) حل و سپس چند قطره از آن به مخزن حوضچه مانند دستگاه که حاوی آب بود اضافه شد. اندازه‌گیری ذرات بر اساس تفرق نور لیزر و با چندبار مکش آب مخزن که حاوی نمونه بود انجام پذیرفت. تمامی اندازه‌گیری‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد [۱۵].

ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها استفاده نموده‌اند و این ریزپوشانی سبب بهبود پایداری پروبیوتیک‌ها گردید. هدف از انجام پژوهش بررسی استفاده از بتاکاروتن درون‌پوشانی شده با پروتئین آب پنیر و کازئین به روش خشک کن پاششی و بررسی اثرات آن در ماندگاری روغن کانولا طی شرایط نگهداری می‌باشد.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد

مواد مورد نیاز در این مطالعه شامل: پروتئین آب، کازئین، بافر فسفات، هیدروکلریک اسید، بتاکاروتن، استون، ۲-پرپانول، اسید گالیک، فولین-سیوکالتیو، سدیم بیکربنات، DPPH، متانول، کلروفرم، لینولئیک اسید، توئین، آب اکسیژنه، فری سیانید، تری‌کلرواستیک اسید، ایزوهگزان-دی ایزو پروپیل اتر، سدیم بوروهیدرید، ۲-۴-دی نیتروفنیل هیدرازین، آمونیم تیوسیانات، آهن کلرید (II)، هیدروکسید پتاسیم و فنل فتالین می‌باشد.

### ۲-۲- تهیه امولسیون‌ها

پروتئین آب پنیر (مرک، آلمان) و کازئین (سینوفارم شیمی، چین)، محلول به وسیله اختلاط مقداری معین پودر در محلول بافر (۵ میلی مولار بافر فسفات، pH=۶) و با استفاده از همزن مغناطیسی (IKA، آلمان) به مدت ۲/۵ ساعت همزده شد. pH محلول در صورت لزوم با HCl یک مولار (مرک، آلمان) تنظیم شد و برای هیدراتاسیون کامل ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد. سپس محلول در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه حرارت داده شد و سپس به سرعت خنک شد [۱۲]. سپس بتاکاروتن (سیگما آلدريج، آمریکا) به وسیله همزن مکانیکی (بوش، آلمان) تحت سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه در یک هموژنایزر (IKA، آلمان) با سرعت بالا به آرامی داخل سوسپانسیون هر بیو پلیمر با رعایت نسبت هسته به ماده دیواره کازئین/پروتئین آب پنیر به ترتیب به نسبت ۷۰:۳۰، ۵۰:۵۰ و ۳۰:۷۰ اضافه شد. در مرحله بعد، هموژنایزر فراصوت (سیگما، آلمان) مجهز به پروپ تیتانیوم با ضخامت ۲۰ میلی متر برای ریزپوشانی استفاده شد. هموژنیزاسیون اولتراسونیک روی ۱۰۰ گرم محلول با استفاده از توان اولتراسوند ۱۰۰ وات و فرکانس ۳۰

## ۲-۶- اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی

۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر محلول استاندارد اسید گالیک (سیگما آلدریج، آمریکا)، با حل کردن ۲۵۰ میلی گرم گالیک اسید خشک در یک میلی لیتر حلال عصاره گیری و سپس با آب مقطر به حجم ۵۰۰ میلی لیتر رسانده شد. محلول بدست آمده در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد و منحنی کالیبراسیون استاندارد بر اساس گالیک اسید (۰/۰۵-۰/۰۱ میلی گرم بر میلی لیتر) رسم شد. عصاره با غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره به لوله آزمایش منتقل شد، سپس ۰/۷۵ میلی لیتر از شناساگر فولین-سیوکالتیو (سیگما آلدریج، آمریکا) (قبلا با نسبت ۱ به ۱۰ با آب دیونیزه شده رقیق شده است) اضافه و مخلوط گردید. به مخلوط اجازه داده شد به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق بماند و سپس ۰/۷۵ میلی لیتر از سدیم کربنات ۶ درصد وزنی/حجمی به مخلوط اضافه و به آرامی بهم زده شد. پس از نگهداری مخلوط نهایی به مدت ۹۰ دقیقه در دمای اتاق، میزان جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. به منظور رسم منحنی استاندارد گالیک اسید جهت بیان میزان ترکیبات فنل کل به صورت میکرو گرم معادل اسید گالیک در میلی گرم نمونه خشک و میزان جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر ثبت گردید. معادله خط بدست آمده با ضریب همبستگی بالا (۰/۹۹۶) بصورت  $y = 0.0059x + 0.0863$  بود [۱۶].

ارزیابی اثر مهارکنندگی ردیکال آزاد ( $DPPH^1$ ) بر اساس روش الویرا و همکاران (۲۰۱۶) انجام گرفت. ۵۰ میکرولیتر از عصاره بتاکاروتن در متانول (مرک، آلمان) به ۵ میلی لیتر محلول ۰/۰۰۴ درصد DPPH (سیگما آلدریج، آمریکا) در متانول اضافه شد. بعد از ۳۰ دقیقه گرمخانه گذاری در دمای اتاق جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومتری بر علیه بلانک قرائت شد. درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\% = (A_{blank} - A_{sample} / A_{blank}) \times 100$$

1. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

در این فرمول  $A_{blank}$  جذب نوری کنترل منفی را که فاقد عصاره می‌باشد نشان می‌دهد و  $A_{sample}$  میزان جذب نوری غلظت های مختلف عصاره بیان می‌کند. غلظت کلی نمونه ها هر کدام ۲۰۰ پی پی ام بود [۱۷].

بی‌رنگ شدن بتا کاروتن - لینولئیک اسید بر اساس روش الما و همکاران (۲۰۱۳) انجام گرفت [۱۸]. در این آزمون ۵ میلی گرم بتاکاروتن در ۱۰ میلی لیتر کلروفورم حل شد. میزان ۶۰۰ میکرولیتر از آن با ۴۰ میلی گرم لینولئیک اسید (سیگما آلدریج، آمریکا) و ۴۰۰ میلی گرم توئین ۴۰ (سیگما آلدریج، آمریکا) مخلوط شد. سپس با روش تبخیر در خلاء کلروفورم جدا شد و ۱۰۰ میلی لیتر آب اکسیژنه (۳۰ درصد) همراه با تکان شدید به آن اضافه شد. بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای اتاق، جذب نوری نمونه‌ها در ۴۷۰ نانومتر خوانده شد و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی از مقایسه جذب نوری نمونه‌ها با زمان صفر مطابق فرمول زیر بر اساس درصد مورد سنجش قرار گرفت.

$$\% = 1 - \left\{ \frac{(AS_{(24)} - AS_{(0)})}{(AC_{(24)} - AC_{(0)})} \right\}$$

نوری نمونه‌ها با زمان صفر مطابق فرمول زیر بر اساس درصد مورد سنجش قرار گرفت.

آزمون توان اکسیدانی احیاء آهن به روش سریندی و همکاران (۲۰۱۹) انجام پذیرفت. بدین منظور ابتدا بافر فسفات (۰/۲ M ، pH=۷، ۲/۵ میلی لیتر) به یک میلی لیتر از ریزکپسول اضافه شد و سپس با ۲/۵ میلی لیتر از فری سیانید (مرک، آلمان) یک درصد مخلوط گردید. در ادامه محلول در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد و سپس به محلول ۲/۵ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید (مرک، آلمان) به آن اضافه شد. برای جداسازی تکه‌های بزرگتر، محلول به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. در ادامه محلول به خوبی با آب مقطر و  $FeCl_3$  به نسبت ۵:۵:۱ مخلوط شد و پس از آن جذب در طول موج ۷۰۰ نانومتر با استفاده از طیف سنج UV مرئی اندازه‌گیری شد. اطلاعات بدست آمده بر حسب میکرومول آهن بر گرم عصاره گزارش شد [۱۵].

$$CP = 100 \times (w_s - w_n) / w_s$$

CP،  $w_s$  و  $w_n$  به ترتیب درصد کل ترکیبات قطبی، وزن نمونه و وزن ترکیبات غیرقطبی است.

## ۲-۹- میزان عدد کربونیل

مقدار ترکیبات کربونیل بر اساس روش فانگ و همکاران (۲۰۲۰) انجام شد [۲۰]. مقدار ۰/۵ گرم سدیم بوروهیدرید (مرک، آلمان) به ۱۰۰۰ گرم حلال ۲-پروپانول (مرک، آلمان) اضافه شد و سپس به مدت یک ساعت رفلوکس گردید. محلول ۲-دی-نیتروفنیل هیدرازین (DNPH) (مرک، آلمان) با انحلال ۵۰ میلی گرم DNPH در ۱۰۰ میلی لیتر محلول دارای ۳/۵ میلی لیتر اسید کلریدریک (۳۷٪) تهیه شد. مقدار ۰/۱۵ گرم نمونه روغن در ۱۰ میلی لیتر حلال رفلوکس شده حل شد. سپس یک میلی لیتر از آن و یک میلی لیتر از محلول DNPH درون لوله آزمایش ریخته و به مدت ۲۰ دقیقه ۴۰ درجه سانتیگراد حرارت دهی شد. محلول حاصل، ۱۰ دقیقه در دمای اتاق خنک شد سپس ۸ میلی لیتر محلول پتاس ۲٪ با آن اضافه شد. محلول با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شد. جذب فاز رویی در ۴۲۰ نانومتر در مقابل شاهد خوانده شد. میزان ترکیبات کربونیل بر اساس منحنی رسم شده الیهید استاندارد (2,4 - decadienal) در غلظت ۵۰-۵۰۰ میکرومول و فرمول زیر تعیین شد.

$$CV = A - 0.306752 / 100 \times W \times M$$

که در این فرمول CV میزان عدد کربونیل بر اساس میکروگرم در مول، A میزان جذب نمونه، W وزن نمونه روغن بر حسب گرم و M شیب منحنی استاندارد است.

## ۲-۱۰- مقدار عدد پراکسید

برای اندازه‌گیری عدد پراکسید ۰/۲ گرم نمونه روغن در ۹/۸ میلی لیتر حلال کلروفرم / متانول (به نسبت ۷:۳) حل شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از محلول آمونیم تیوسیانات (۳۰٪) و آهن کلرید (II) با آن اضافه و مخلوط با شدت به هم زده شد. بعد از ۵ دقیقه سکون در دمای اتاق جذب محلول در طول موج ۵۰۰ نانومتر خوانده شد. عدد پراکسید نمونه‌ها بر اساس استاندارد آهن کلرید (III) و طبق فرمول زیر محاسبه گردید.

$$PV = (As - Ab) \times M / 55.84 \times W \times 2$$

## ۲-۷- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره در

به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن کانولا طی

## شرایط حرارتی

مناسب‌ترین نمونه از بعد خصوصیات آنتی‌اکسیدانی در سه غلظت (۲۰۰، ۷۰۰ و ۱۲۰۰ پی پی ام) به نمونه روغن کانولا اضافه شد و نمونه‌های روغن کانولا فرموله شده با آنتی‌اکسیدان ریزپوشانی شده تحت شرایط دمایی ثابت ۴۰ درجه سانتیگراد به مدت ۶۰ روز نگهداری شد و در فواصل زمانی ۱۰ روزه از آن نمونه تهیه شد و نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش در دمای ۱۸- درجه سانتیگراد در فریزر نگهداری شد. در کلیه آزمایشات فوق نمونه‌ها با نمونه روغن کانولا که حاوی آنتی‌اکسیدان سنتتیک BHA<sup>2</sup> است و نمونه فاقد آنتی‌اکسیدان مورد مقایسه قرار گرفت.

## ۲-۸- میزان ترکیبات قطبی کل

درصد ترکیبات قطبی روغن کانولا بر اساس روش چیمت و همکاران (۲۰۱۷) محاسبه شد [۱۹]. ابتدا سلیکاژل ۶۰ درصد به مقدار مورد نیاز در دمای ۱۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت خشک و در همان حالت داغ با آب مقطر (dH<sub>2</sub>O) به نسبت ۹۵ به ۵ مخلوط و به شدت تکان داده شد. سلیکاژل ۲۴ ساعت در دسیکاتور قرار گرفت و به این ترتیب آماده مصرف شد. جهت انجام این آزمون یک گرم سلیکاژل آماده‌سازی شده درون ستون کروماتوگرافی (پلاستیکی با قطر ۱۵ طول ۱۵ سانتیمتر) ریخته و سپس دوطرف آن با پشم شیشه استریل فشرده شد. مقدار ۰/۵ گرم نمونه روغن در ۵ میلی لیتر تولوئن حل گردید سپس یک میلی لیتر از آن توسط پیپت بالای ستون ریخته شد. نمونه در ستون طی سه مرحله (۳/۵، ۳/۵، ۱) میلی لیتر) با حلال شوینده (ایزوهورگان - دی ایزو پروپیل اتر به نسبت ۸۵ به ۱۵) (مرک، آلمان) شسته شد. پس از گذشت ۱۵ دقیقه انتهای ستون با ۵۰۰ میکرولیتر تولوئن شسته شد. پس از تبخیر حلال با آون تحت خلاء در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد میزان ترکیبات غیر قطبی توزین شد. سپس درصد ترکیبات قطبی کل از رابطه زیر محاسبه گردید

2. Butylated hydroxyanisole

در این فرمول  $As$  جذب نمونه،  $Ab$  جذب شاهد،  $M$  شیب منحنی استاندارد و  $W$  وزن روغن (g) است. [۲۱]:

## ۲-۱۱- مقدار عدد اسیدی

عدد اسیدی توسط روش تیتراسیون و بر اساس میزان هیدروکسید پتاسیم مصرف شده به روش فرهوش و همکاران (۲۰۱۲) انجام پذیرفت [۲۲]. ۱۰ گرم نمونه داخل ارلن مایر توزین شد و به آن ۵۰ میلی لیتر حلال اتانول: کلروفرم اضافه گردید. در ادامه در مجاورت معرف فنل فتالئین با پتاس ۰/۱ نرمال تیترا شد اسیدیته بر طبق فرمول زیر محاسبه شد

$$Acidvalue = \frac{N \times V \times 56.1}{W}$$

که  $N$  و  $V$  به ترتیب نرمالیت و حجم پتاس مصرفی و  $W$  وزن نمونه است.

## ۲-۱۲- آنالیز آماری

نتایج بدست آمده با استفاده از روش آنالیز واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن ( $P < 0.05$ ) بر پایه طرح کاملا تصادفی صورت گرفت. آنالیز آماری با نرم افزار SPSS 24 انجام شد. کلیه آزمایشات در سه تکرار انجام شد. نمودارهای حاصل در نرم افزار Excel 2013 رسم گردید و مورد مقایسه و بررسی قرار گرفت.

## ۳- نتایج و بحث

### ۳-۱- کارایی ریزپوشانی

فرآیند ریزپوشانی و کارایی آن تحت تاثیر دو مرحله امولسیون‌سازی و تشکیل دیواره پلیمری در اطراف هسته‌ای می‌باشد [۱۱]. مرحله اول تحت تاثیر پارامترهای فیزیکی از قبیل سرعت همزدن، نسبت اختلاط بیوپلیمرها و خواص فیزیکی و شیمیایی پلیمرها از قبیل ویسکوزیته و نیروهای بین مولکولی قرار دارد [۶]. مرحله دوم به وسیله توانایی بارهای مخالف بیوپلیمرها در تشکیل پیوند کنترل می‌شود [۱۰]. نتایج تاثیر غلظت‌های مختلف کازئین و پروتئین آب پنیر را بر روی تغییرات کارایی ریزپوشانی معنی‌دار نشان داد ( $P < 0.05$ ). نتایج حاصل از تغییرات کارایی ریزپوشانی در جدول ۱ نشان داده شده است. در تحقیق حاضر بیشترین کارایی مربوط به نمونه حاوی ۷۰ درصد

پروتئین آب پنیر و ۳۰ درصد کازئین و نمونه حاوی ۱۰۰ درصد کازئین پایین‌ترین کارایی ریزپوشانی را نشان دادند. در مطالعه ای یانگ و همکاران (۲۰۱۲) کارایی ریزپوشانی با پروتئین آب پنیر را مورد بررسی قرار دادند. نتایج بررسی ها نشان داد استفاده از پروتئین آب پنیر با غلظت بالاتر کارایی ریزپوشانی را نسبت به نمونه هایی با غلظت پایین تر افزایش داده است. این نتایج با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد [۲۳]. احتمالا در نسبت‌های کمتر کازئین و بیشتر پروتئین آب پنیر؛ تعادل بین بارهای ناهمنام به نحوی مؤثر باعث تشکیل پیوند و شکل‌گیری کپسول شده است و در نتیجه میزان بتاکاروتن بیشتری درون کپسول تولیدی به دام افتاده است و میزان بتاکاروتن کمتری در محیط به صورت آزاد باقی ماند. از طرف دیگر عدم وجود تعادل بین بارهای ناهمنام در نسبت‌های کمتر این پروتئین آب پنیر و در نتیجه وجود آشفتگی باعث شده است که تشکیل پیوند و ایجاد شبکه به نحو مطلوبی صورت نپذیرد و در نتیجه کارایی ریزپوشانی در این نسبت‌های بیوپلیمری پایین‌تر است و میزان بتاکاروتن بیشتری به صورت آزاد در سیستم باقی مانده است [۲۴]. این نتایج با نتایج مطالعه استخر و همکاران (۲۰۲۰) در خصوص تاثیر عصاره فنولیکی انکپسوله شده *Ferula persica* با کیتوزان و صمغ لوبیا همخوانی دارد [۲۵].

پرز ماسیا و همکاران، لیکوپن را در غلظت‌های مختلف در نانو ذرات دکستران ریزپوشانی نمودند و حداکثر راندمان ریزپوشانی معادل ۵۷/۵ درصد بدست آوردند. همچنین آنها لیکوپن را در نانو ذرات ایزوله پروتئین آب پنیر ریزپوشانی کردند که حداکثر راندمان ریزپوشانی برابر ۷۵/۲ درصد آمد [۲۶]. این نتایج با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. در مطالعه حاضر میزان راندمان ۷۰/۴۲ درصد بود. بنابراین طبق نتایج حاصل می‌توان نتیجه گرفت که این سامانه می‌تواند به عنوان یک روش مهم جهت ریزپوشانی ترکیبات زیست فعال با کارایی بالا مورد استفاده قرار گیرد.

به‌طورکلی این دیدگاه وجود دارد که، پایداری ترکیبات با افزایش کارایی ریزپوشانی، افزایش می‌یابد و برای دستیابی به شرایط بهینه باید تا حد امکان سعی در افزایش کارایی ریزپوشانی نمود. مطالعه‌های پیشین نشان داده‌اند که نوع دیواره و هسته، ویژگی‌های امولسیون و پارامترهای خشک‌کردن، همه بر کارایی

مواد دیواره به کار رفته و غلظت مواد دیواره بر اندازه ذرات پودرها تأثیرگذار می‌باشند. در بررسی پوراشوری و همکاران (۲۰۱۴) روی بررسی تأثیر دیواره بر خصوصیات میکروکپسول، دیواره پروتئینی اندازه ذرات کوچکتری نسبت به دیواره کربوهیدراتی داشت. در تحقیق حاضر نیز تیمارهای با پروتئینی اندازه ذرات کوچکی داشته‌اند [۳۰]. تالونا و همکاران (۲۰۱۹) ویژگی‌های سستیکی، فیزیکی اوزانول ریزپوشانی شده با پروتئین آب پنیر و به روش خشک کن پاششی را مورد بررسی قرار دادند. میزان قطر ذرات ریزپوشانی شده در این مطالعه بین ۱۱/۰۸-۱۲ نانومتر بود که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد [۳۱]. همچنین فانگ و همکاران (۲۰۱۹) ذرات پروتئین آب پنیر و امولسیون را جهت ریزپوشانی آلفا توکوفرول مورد مقایسه و بررسی قرار دادند. نتایج بررسی آن‌ها نشان داد ذرات پروتئین آب پنیر اندازه ذرات کوچکتری را نسبت به امولسیون نشان داده اند. ذرات تشکیل شده در این مطالعه اندازه ای بین ۱۰/۰۲-۱۱/۱۹ نانومتر را نشان دادند. این نتایج با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد [۳۲]. سلیمانی فر و همکاران (۲۰۲۰) ویژگی نانوکپسول های پروتئین آب پنیر حاوی ترکیبات زیست فعال برگ زیتون را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها گزارش نمودند قطر نانوکپسول‌ها در این مطالعه بین ۲۳/۳ الی ۶۵/۱ نانومتر بوده است. که از میزان گزارش شده در این مطالعه بیشتر بود [۲]. مطالعات بیان شده به نتایج مشابهی در خصوص اندازه ذرات کپسول، دست یافتند. دلیل این موضوع را می‌توان به علت اتمیزاسیون مایع به قطرات در طول خشک شدن نسبت داد. همچنین افزایش سرعت خشک شدن در این نوع روش (خشک کن پاششی) باعث اندازه ذرات می‌گردد که خود باعث افزایش سرعت خشک شدن و کاهش محتوای رطوبتی می‌شود [۳۱].

**Table 2** The effect different concentrations of casein and whey protein on changes particle size

Treatment	particle size (nm)
T <sub>1</sub>	12.33±0.02 <sup>a</sup>
T <sub>2</sub>	11.83±0.01 <sup>b</sup>
T <sub>3</sub>	11.08±0.01 <sup>c</sup>

-Small English letters in each column indicate a significant difference ( $P \leq 0.05$ ).

-T<sub>1</sub> (30% casein to 70% whey protein),

T<sub>2</sub> (50% casein to 50% whey protein),

T<sub>3</sub> (30% casein to 70% whey protein).

ریزپوشانی اثر می‌گذارند [۲۷]. شائو و همکاران (۲۰۱۹) پایداری امولسیون حاوی نانوکپسول های پروتئین آب پنیر/صمغ عربی را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج بررسی نشان داد که پروتئین آب پنیر به طوری معنی داری کارایی ریزپوشانی را افزایش داده است. آن‌ها گزارش دادند پروتئین آب پنیر با ایجاد اتصالات مناسب سبب بهبود کارایی ریزپوشانی می‌شود [۲۸]. هوو و همکاران (۲۰۱۹) پایداری و میزان رهاسازی عصاره پوست ماندارین ریزپوشانی شده در نانوذرات پروتئین آب پنیر را مورد بررسی قرار دادند. نتایج بررسی نشان داد نانوذرات عصاره به طوری موثری در پوششی پروتئین آب پنیر قرار گرفته است. پروتئین آب پنیر به طور موثری کارایی ریزپوشانی را افزایش داده است [۲۹]. این نتایج با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد.

**Table 1** The effect different concentrations of casein and whey protein on changes microencapsulation efficiency

Treatment	Encapsulation efficiency (%)
T <sub>1</sub>	64.87±0.75 <sup>c</sup>
T <sub>2</sub>	66.39±0.65 <sup>b</sup>
T <sub>3</sub>	70.43±0.50 <sup>a</sup>

- Small English letters in each column indicate a significant difference ( $P \leq 0.05$ ).

- T<sub>1</sub> (30% casein to 70% whey protein),

T<sub>2</sub> (50% casein to 50% whey protein),

T<sub>3</sub> (30% casein to 70% whey protein).

### ۲-۳- اندازه ذرات

اندازه‌گیری ذرات میکروکپسول بسیار مهم است، زیرا این ذرات بر بافت مواد غذایی که به آن اضافه می‌شوند، تأثیر می‌گذارد. نتایج اندازه‌گیری ذرات پودرهای تولیدی در جدول ۲ نشان داده شده‌اند. نتایج آماری تأثیر غلظت‌های مختلف کازئین و پروتئین آب‌پنیر را بر روی تغییرات اندازه ذرات ریزپوشانی معنی‌دار نشان داد ( $P < 0.05$ ). طبق نتایج به‌دست آمده تفاوت معنی‌داری بین اندازه پودرهای تولیدی به‌دست آمده در هر ۳ غلظت مشاهده گردید. در تیمارهای تولیدی توسط خشک‌کن پاششی اندازه ذرات بین ۱۱/۰۸-۱۲/۳۲ نانومتر بود. اندازه ذرات پودرهای ریزپوشانی شده در خشک‌کن پاششی، با توجه به امولسیون‌های اولیه (ویسکوزیته و غلظت مواد جامد)، پارامترهای اتمیزاسیون تعیین می‌شوند [۲۶]. یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که نوع

### ۳-۳- خواص آنتی اکسیدانی ریزکپسول ها

پروتئین‌های هیدرولیز شده ترکیباتی هستند با وزن مولکولی پایین که تحت عنوان پپتیدهای زیست فعال شناخته می‌شوند. از مهمترین عملکردهای این ترکیبات زیست فعال می‌توان به فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد سرطان و افزایش دهنده سیستم ایمنی بدن اشاره کرد [۳۳]. آنتی‌اکسیدان‌ها نقش حیاتی را در سیستم‌های غذایی و همچنین در بدن انسان جهت کاهش فرآیندهای اکسیداتیو ایفا می‌نمایند. در سیستم‌های غذایی آنتی‌اکسیدان‌ها در تعویق اکسیداسیون لیپید و عدم تشکیل محصولات ثانویه پراکسیداسیون لیپیدی مفید بوده و بنابراین به نگهداری طعم، بافت و در برخی از موارد رنگ فرآورده غذایی در طی فرآوری کمک می‌کنند. آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتری از خود نشان می‌دهند ولی در ارتباط با ایمنی و جنبه‌های وابسته به سلامتی آن‌ها نگرانی‌هایی وجود دارد [۳۴]. از این رو پیشرفت در استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به منظور جایگزینی با آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی مورد توجه محققین می‌باشد. پپتیدهای متعددی از مواد غذایی پروتئینی نیز به دست آمده است که دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بوده و فعالیت بیولوژیکی آن‌ها به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است، این پپتیدها برای اولین بار توسط مارکوس مورد بررسی قرار گرفته‌اند [۳۵].

پپتیدهای آنتی‌اکسیدانی حاوی ۵-۱۶ اسید آمینه هستند و حاوی ترکیبات سلامتی بخش و ایمنی بخش با وزن مولکولی پایین، هزینه تولید کم، فعالیت بالا و جذب آسان می‌باشند [۳۶].

مطالعات گوناگونی در رابطه با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های هیدرولیز شده و پپتیدهای زیست فعال به دست آمده از منابع غذایی و گیاهی از قبیل دانه‌های بادام زمینی، سبوس برنج، پروتئین گل مغربی، گلوتن ذرت، سیب زمینی شیرین، پروتئین زرده تخم مرغ، شیر کفیر و کفیر به دست آمده از شیر سویا، قارچ‌های دارویی، ضایعات پروتئین جلبک و پروتئین گندم سیاه مورد بررسی قرار گرفته است. پپتیدهای زیست فعال به عنوان اجزاء پروتئینی خاص که در درون توالی پروتئین مادر (اصلی) غیر فعالاند در نظر گرفته

می‌شوند و پس از اینکه این پپتیدها توسط هیدرولیز آنزیمی جدا شدند، ممکن است وظایف فیزیولوژیکی گوناگونی را ایفا نمایند. ترکیب آمینواسیدی و توالی آن بر روی فعالیت زیست فعالی این پپتیدها موثر است [۳۷].

بر اساس ساختار پپتیدی، ترکیب و توالی آمینواسیدها، این پپتیدها ممکن است وظایف گوناگونی از قبیل باند کردن موادمعدنی، اثرات ایمنی بخش، آنتی‌اکسیدانی، کاهش دهنده کلسترول خون و همچنین اثرات ضد فشارخون را ایفا نمایند. با این وجود، پپتیدهای متعددی با ویژگی‌های عملکردی چندگانه یافت شده است. قابلیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های هیدرولیز شده به تاثیرات چندگانه‌ای نسبت داده شده است. برخی از این ویژگی‌ها شامل توانایی آن‌ها در زدودن رادیکال‌های آزاد، عمل به عنوان شلاته کننده فلزات، خاموش کننده اکسیژن یا دهنده هیدروژن و امکان جلوگیری از نفوذ آغازکننده‌های اکسیداسیون چربی به وسیله تشکیل لایه‌ای در اطراف قطرات روغن می‌باشد [۲۹].

نتایج تاثیر غلظت‌های مختلف کازئین و پروتئین آب پنیر را بر روی تغییرات خواص آنتی‌اکسیدانی (فنول کل، مهار رادیکالی آزاد DPPH، پایداری رنگ بتاکاروتن، فعالیت آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن)، معنی‌دار نشان داد ( $P < 0/05$ ). نتایج حاصل در جدول ۳ نشان داده شده است. خواص آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها با افزایش پروتئین آب پنیر، روندی صعودی را طی نمود، به طوری که، نمونه‌های حاوی پروتئین آب پنیر بطور معنی‌داری قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتری را نسبت به نمونه‌های حاوی کازئین نشان دادند ( $P < 0/05$ ). پروتئین آب پنیر دارای غلظت بالایی از اسیدهای آمینه زنجیره‌ای منشعب لوسین، ایزولوسین و والین است که فاکتورهای مهمی در رشد و ترمیم بافت می‌باشند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن از اسید آمینه سیستئین که در سنتز گلوکاتایون شرکت می‌کند ناشی می‌شود [۳۱]. ترکیب آلفا لاکتوآلبومین از آب پنیر نیز فلزات سنگین را شلاته می‌کند و استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد زیرا خاصیت شلاته کنندگی یون آهن را داراست، همچنین به دلیل میزان بالای اسیدهای آمینه ضروری یک منبع بسیار مهم تغذیه‌ای می‌باشند [۳۶].



**Table 3** The effect different concentrations of casein and whey protein on changes antioxidant properties

Treatment	Total phenol ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )	DPPH (%)	Beta-carotene color stability (%)	FRAP ( $\mu\text{mol Fe}/\text{g}$ )
T <sub>1</sub>	3.38±0.02 <sup>b</sup>	30.31±0.32 <sup>c</sup>	67.16±0.30 <sup>c</sup>	290.46±0.50 <sup>c</sup>
T <sub>2</sub>	3.87±0.10 <sup>a</sup>	33.75±0.37 <sup>b</sup>	70.88±0.26 <sup>b</sup>	295.66±0.15 <sup>b</sup>
T <sub>3</sub>	4.11±0.08 <sup>a</sup>	36.85±0.31 <sup>a</sup>	75.17±0.87 <sup>a</sup>	304.15±0.46 <sup>a</sup>

-Small English letters in each column indicate a significant difference ( $P \leq 0.05$ ).

-T<sub>1</sub> (30% casein to 70% whey protein), T<sub>2</sub> (50% casein to 50% whey protein),

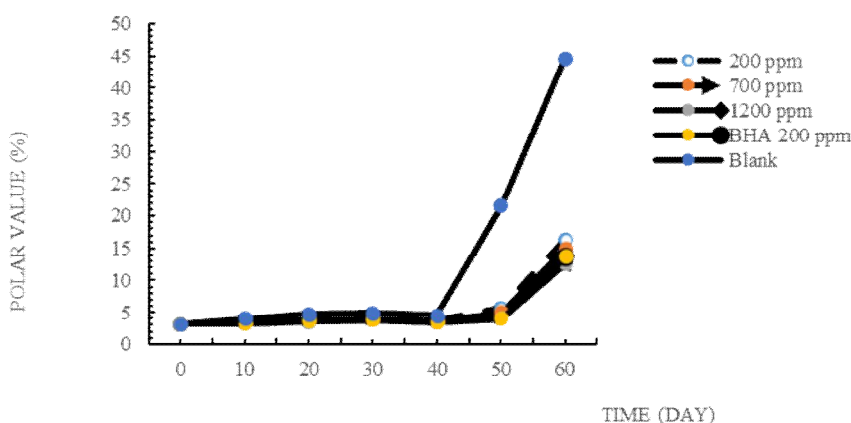
T<sub>3</sub> (30% casein to 70% whey protein)

دهند بنابراین اندازه‌گیری میزان ترکیبات قطبی می‌تواند شاخص مناسبی برای ارزیابی کیفیت روغن‌ها باشد. براساس استانداردهای بین‌المللی چنان‌چه درصد ترکیبات قطبی در روغن به بیش از ۲۵ درصد برسد روغن غیر قابل مصرف تلقی می‌گردد مدت زمانی که میزان ترکیبات قطبی کل روغن به این مقدار برسد تحت عنوان زمان بحرانی خوانده می‌شود [۳۸]. نواس و همکاران (۲۰۲۰) اثر آلفا توکوفرول ریزپوشانی شده در پروتئین آب پنیر را بر پایداری روغن کانولا مورد بررسی قرار دادند. میکروکپسول به طور معنی داری شاخص‌های اکسایشی روغن نظیر ترکیبات دی ان مزدوج، پراکسید و ترکیبات قطبی روغن را کاهش داد. آن‌ها گزارش دادند که ترکیبات ریزپوشانی شده نسبت به نمونه غیر ریزپوشانی شده ترکیبات قطبی پایین تری را نشان داده اند [۳۹]. در مطالعاتی دیگر نظیر زانگ و همکاران (۲۰۱۹) تاثیر ریزپوشانی ترکیبات زیست فعال با پروتئین آب پنیر و صمغ عربی را بر پایداری روغن آفتابگردان مورد بررسی قرار دادند که نتایج مشابهی با نتایج مطالعه حاضر گزارش دادند [۴۰].

### ۳-۴- شاخص‌های اکسایش روغن کانولا طی

#### زمان نگهداری

بر اساس نتایج بدست آمده در شکل ۱ سطح اطمینان ۹۵ درصد، اثر غلظت‌های مختلف عصاره ریزپوشانی شده بتاکاروتن در غلظت‌های مختلف ۲۰۰، ۷۰۰ و ۱۲۰۰ پی‌پی‌ام، بر روی تغییرات میزان شاخص‌های اکسایشی (عدد قطبی، اسیدی، پراکسید و شاخص پایداری اکسایش (رنسیت) نمونه‌های روغن کانولا معنی‌دار است ( $p < 0.05$ )). به میزان ترکیبات قطبی، هیدروپراکسیدی نمونه‌های روغن در طی زمان روندی صعودی و شاخص پایداری روندی نزولی را طی نموده است و در ۶۰ روز بعد از نگهداری به ترتیب به بیشترین و کمترین مقدار خود رسیده است. با افزایش غلظت ریزکپسول در مقایسه با غلظت کمتر میزان عدد قطبی، اسیدی و پراکسید به طور معنی‌داری کمتر بود ( $p < 0.05$ ). ترکیبات قطبی که در روغن‌ها وجود دارند تصور می‌شود بیشترین مواد سمی موجود در روغن را تشکیل



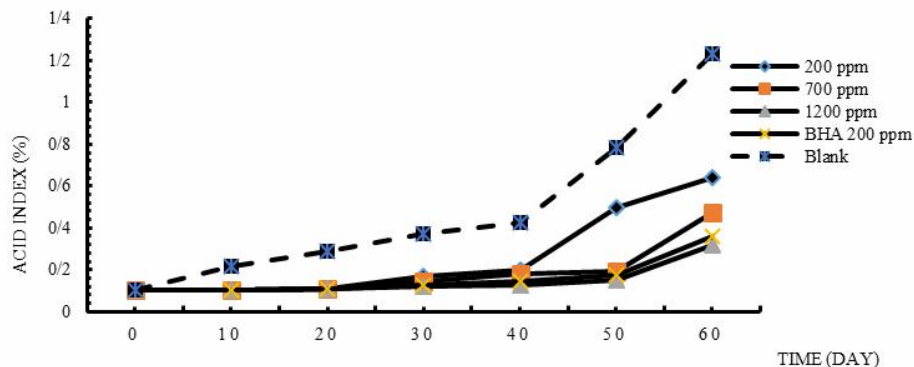
**Fig 1** The rate of change the Polar composition canola oil samples in during 60 days of storage

محصولات پلیمری حاصل نسبت داد [۴۱]. انسینا و همکاران (۲۰۱۸) تاثیر عصاره ریزپوشانی شده را بر پایداری روغن ماهی مورد مطالعه قرار دادند. نتایج بررسی نشان داد که عصاره ریزپوشانی شده پایداری بالایی را در محیط روغن نشان داده

با افزایش زمان نگهداری مقدار اسیدهای چرب آزاد در نمونه‌ها افزایش یافت (شکل ۲). افزایش در مقدار اسیدهای چرب آزاد را می‌توان تا حدی به هیدرولیز تری‌گلیسریدها و تا حدی به گروه‌های کربوکسیلی ترکیبات حاضر در اکسیداتیو و یا

عصاره نانومولسیون شده پوست کلخونگ را بر پایداری روغن آفتاب‌گردان مورد بررسی قرار دادند. نتایج بررسی نشان داد عصاره نانومولسیون شده بطور معنی‌داری پایداری روغن را افزایش داده است و از ایجاد اسیدهای چرب آزاد در روغن کاسته است [۴۳].

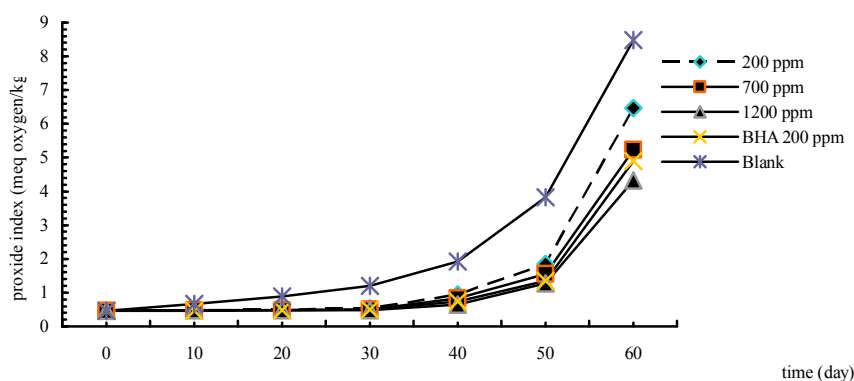
است و توانسته است بطور معنی‌داری از اکسایش روغن در طی زمان نگهداری ممانعت کند. مطابق با نتایج مطالعه حاضر اسیدهای چرب آزاد روغن در طی زمان نگهداری افزایش داشت ولی بالاترین غلظت عصاره حتی نسبت به نمونه حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی ترکیبات قطبی پایین تری را نشان داد [۴۲]. همچنین در مطالعه ای حسین الهاشمی و همکاران (۲۰۲۰) تاثیر



**Fig 2** The rate of change the Acid index canola oil samples in during 60 days of storage

ایجاد ترکیبات پراکسیدی در طی زمان نگهداری ممانعت کرده است. مطابق با نتایج مطالعه حاضر با افزایش غلظت ریزکپسول میزان ترکیبات پراکسیدی در طی زمان نگهداری کاهش یافت [۴۵]. روشن پور و همکاران (۲۰۲۱) تاثیر عصاره نانوکپسوله شده *Mentha piperita* را بر پایداری روغن سویا مورد مطالعه قرار دادند. نتایج بررسی نشان داد عصاره نانوکپسوله شده بطور معنی‌داری هیدروپروکسیدهای روغن را کاهش داده است [۴۶].

پراکسیدها به عنوان شاخص اولیه واکنش‌های لیپیدی محسوب می‌شود با افزایش این ترکیبات محصولات ثانویه واکنش اکسایش لیپیدی مانند ترکیبات کربونیل، آلدهیدها و دیان مزدوج افزایش می‌یابد. بنابراین اندازه‌گیری این شاخص برای اکسایش می‌تواند ضروری باشد [۴۴]. همکاران (۲۰۱۱) ترکیبات ریزپوشانی شده با پروتئین آب پنیر و کیتوزان را جهت پایداری روغن ماهی حاوی امگا۳ بالا مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه اسانس رزمای جهت ریزپوشانی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج بررسی (شکل ۳) نشان داد که اسانس ریزپوشانی شده بطوری معنی‌داری از



**Fig 3** The rate of change the Peroxide index canola oil samples in during 60 days of storage

عنوان فاکتوری برای تعیین میزان پایداری اکسایشی روغن‌ها استفاده می‌گردد [۴۷]. نواس و همکاران (۲۰۲۰) اثر آلفا توکوفرول ریزپوشانی شده در پروتئین آب پنیر را بر پایداری روغن کانولا مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها گزارش دادند که ترکیبات ریزپوشانی شده نسبت به نمونه غیر ریزپوشانی شده شاخص اکسایشی بالاتری را نشان داده اند [۳۹]. این نتایج با نتایج مطالعه حاضر در شکل ۴ مطابقت دارد.

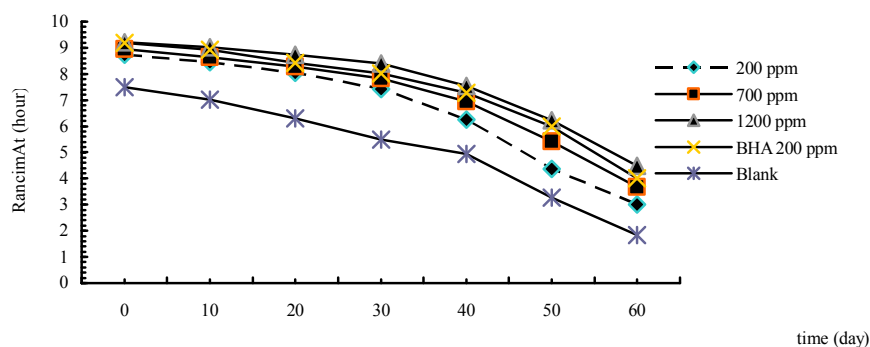


Fig 4 The rate of change the Rancimat index canola oil samples in during 60 days of storage

#### ۴- نتیجه گیری کلی

امروزه با توجه به خاصیت آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در جلوگیری از عمل پاتوژن‌ها و رادیکال‌های آزاد، کاربرد آن‌ها در پزشکی و صنایع غذایی بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است و منجر به تحقیقاتی در زمینه‌ی بررسی قابلیت آنتی‌اکسیدانی پپتیدهای فعال بیولوژیک از پروتئین‌های هیدرولیز شده‌ای نظیر پروتئین سویا، گندم، کازئین شیر، آب پنیر، پروتئین ماهی و... شده است. در این مطالعه پروتئین آب پنیر و کازئین جهت ریزپوشانی بتاکاروتن مورد بررسی قرار گرفت و سپس غلظت بهینه جهت افزودن به روغن کانولا انتخاب شد. نتایج این مطالعه نشان داد پروتئین آب پنیر/کازئین یکی از منابع مهم می باشد که می توان از آن برای پوشش دهی ترکیبات زیست فعال نظیر بتاکاروتن استفاده نمود. لذا این مطالعه استفاده از این نوع ریزپوشانی جهت پوشش دهی و پایداری ترکیبات زیست فعال و استفاده در مواد غذایی نظیر روغن را مناسب می‌داند.

#### ۵- منابع

- [1] Shao, P., Feng, J., Sun, P., & Ritzoulis, C. Improved emulsion stability and resveratrol encapsulation by whey protein/gum arabic interaction at oil-water interface. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019. 133(1): p. 466-472.
- [2] Soleimanifar, M., S.M. Jafari, and E. Assadpour, Encapsulation of olive leaf phenolics within electrosprayed whey protein nanoparticles; production and characterization. *Food Hydrocolloids*, 2020. 101(1): p. 105572.
- [3] Villiers, M.M.d., P. Aramwit, and G.S. Kwon, *Nanotechnology in Drug Delivery*. 2008: Springer Science & Business Media.
- [4] Esfanjani, A.F., S.M. Jafari, and E. Assadpour, Preparation of a multiple emulsion based on pectin-whey protein complex for encapsulation of saffron extract nanodroplets. *Food Chemistry*, 2017. 221(1): p. 1962-1969.
- [5] Tavares, L., C. Pelayo, and Z. Noreña, Encapsulation of garlic extract using complex coacervation with whey protein isolate and chitosan as wall materials followed by spray

- [15] Sarabandi, K., Jafari, S. M., Sadeghi, A., & Mohammadi, M. k. Application of gum Arabic and maltodextrin for encapsulation of eggplant peel extract as a natural antioxidant and color source. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019. 140(1): p. 59-68.
- [16] Shen, Y., Zhang, H., Mia, X., Zhang, H., Cheng, L., Qi, Y., & Zhang, H. Effects of extraction solvents on antioxidant activities and total phenolic contents of four whole grains. *European Journal of BioMedical Research*, 2017. 1(1): p. 2428-5544.
- [17] Oliveira, G. K. F., Sousa, R. M. F., Morais, S. A. L. d., & Munro, R. A. A. Batch-injection analysis with amperometric detection of the DPPH radical for evaluation of antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 2016. 192(1): p. 691-697.
- [18] Alam, Bristi, and Rafiquzzaman, Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 2013. 21: p. 143-152.
- [19] Chemat, S., *Edible Oils: Extraction, Processing, and Applications*. Vol. 1. 2017: CRC Press- Technology & Engineering.
- [20] Fang, X., Shuo, L., Eitaro, W., Shigeru, M., Jieyu, T., & Zhanga, C. H. Model for prediction of the carbonyl value of frying oil from the initial composition. *LWT*, 2020. 117(1): p. 55-60.
- [21] Shantha and Decker, Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *Journal of AOAC International Food Research Journal* 1993. 421-424(11).
- [22] Farhoosh, KHodaparast, and A. .M, Olive oil oxidation: rejection points in terms of polar, conjugated diene, and carbonyl values. *Food chemistry*, 2012. 131(9211-9245).
- [23] Yang, S., Mao, X.-Y., Li, F.-F., Zhang, D., Leng, X.-J., Ren, F.-Z., & Teng, G.-X. The improving effect of spray-drying encapsulation process on the bitter taste and stability of whey protein hydrolysate. *Eur Food Res Technol*, 2012. 235(1): p. 91-97.
- [24] Butstraen, C. and F. Salaün, Preparation of microcapsules by complex coacervation of gum Arabic and chitosan. *Carbohydrate polymers*, 2014. 99(1): p. 608-616.
- drying. *Food Hydrocolloids*, 2019. 89(1): p. 360-369.
- [6] Talóna, E., Lampi, A.-M., Vargas, M., Chiralt, A., Jouppil, K., & González-Martínez, C. Encapsulation of eugenol by spray-drying using whey protein isolate or lecithin: Release kinetics, antioxidant and antimicrobial properties. *Food Chemistry*, 2019. 295(1): p. 588-598.
- [7] Ribeiro, A.M., B.N. Estevinho, and F. Rocha, Spray Drying Encapsulation of Elderberry Extract and Evaluating the Release and Stability of Phenolic Compounds in Encapsulated Powders. *Food and Bioprocess Technology*, 2019. 12(1): p. 1381-1394.
- [8] AlexandraTsali and A.M. Goula, Valorization of grape pomace: Encapsulation and storage stability of its phenolic extract. *Powder Technology*, 2018. 340(1): p. 194-207.
- [9] Schmid, M. and K. Müller, Chapter 11 - Whey Protein-Based Packaging Films and Coatings. *Whey Proteins*, 2019. 11(1): p. 407-437.
- [10] Chaari, M., Theochari, b., Papadimitriou, V., Xenakis, A., & Ammar, E. Encapsulation of carotenoids extracted from halophilic Archaea in oil-in-water (O/W) micro- and nano-emulsions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2018. 161(1): p. 219-227.
- [11] Eun, J.-B., Maruf, A., Das, R., & Nam, S.-H. A review of encapsulation of carotenoids using spray drying and freeze drying. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2020. 60(1): p. 3547-3572.
- [12] Qiu, J., Zheng, Q., Fang, L., Wang, Y., Min, M., Shen, C., & Xiong, C. Preparation and characterization of casein-carrageenan conjugates and self-assembled microcapsules for encapsulation of red pigment from paprika. *Carbohydrate Polymers*, 2018. 196(18): p. 322-331.
- [13] Rajabia, H., Jafari, S. M., Rajabzadeh, G., Sarfarazi, M., & Sedaghatia, S. Chitosan-gum Arabic complex nanocarriers for encapsulation of saffron bioactive components. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2019. 578.
- [14] Arpagaus, C., PLA/PLGA nanoparticles prepared by nano spray drying. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, 2019. 49(1): p. 405-426.

- [33] Adrar, N., N. Oukil, and F. Bedjou, Antioxidant and antibacterial activities of *Thymus numidicus* and *Salvia officinalis* essential oils alone or in combination. *Industrial Crops and Products*, 2016. 88(15): p. 112-119.
- [34] Wang, I.-Z., Fub, S.-G., Wang, S.-Y., Yang, D.-J., Samuel, Y.-H., & Chena, W. Y.-C. Effects of a natural antioxidant, polyphenol-rich rosemary (*Rosmarinus officinalis* 020•L.) extract, on lipid stability of plant-derived omega-3 fatty-acid rich oil. *LWT - Food Science and Technology*, 2018. 89(51): p. 210-216.
- [35] Milani, P.G., M. Formigoni, and Y.C. Lima, Fortification of the whey protein isolate antioxidant and antidiabetic activity with fraction rich in phenolic compounds obtained from *Stevia rebaudiana* (Bert.). *J Food Sci Technol*, 2017. 54(1): p. 2020-2029.
- [36] Bierzuńska, P. and D. Cais-Sokolińska, Determination of antioxidant activity of yoghurt enriched with polymerized whey protein. *Faculty of Food Science and Nutrition*, 2018. 68(4): p. 44-52.
- [37] Liu, W., Dong, X., ZhenCheng, C., & Selomuly, C. On enhancing the solubility of curcumin by microencapsulation in whey protein isolate via spray drying. *Journal of Food Engineering*, 2016. 169(1): p. 189-195.
- [38] An, K.-J., Y.-L. Liu, and H.-L. Liu, Relationship between total polar components and polycyclic aromatic hydrocarbons in fried edible oil. *Food Additives & Contaminants: Part A* 2017. 17(1): p. 1596-1605.
- [39] Neves, I. C. O., Silva, b. H., Oliveira, N. L., Lago, A. M. T., Ariann, N. N., Henrique, S. P., & Rogersb, M. A. Effect of carrier oil on  $\alpha$ -tocopherol encapsulation in ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) mucilage-whey protein isolate microparticles. *Food Hydrocolloids*, 2020. 105(1): p. 105716.
- [40] Zhang, H., Fana, Q., Lia, D., Chena, X., & Lianga, L. Impact of gum Arabic on the partition and stability of resveratrol in sunflower oil emulsions stabilized by whey protein isolate. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2019. 181(1): p. 749-755.
- [41] Talón, E., Vargas, M., Chiralt, A., & González-Martínez, C. Antioxidant starch-based films with encapsulated eugenol.
- [25] Estakhr,p ., Tavakoli,J . Beigmohammadi, F . Alaei , shima .and Mousavi khaneghah , Amin . Incorporation of the nanoencapsulated polyphenolic extract of *Ferula persica* into soybean oil: Assessment of oil oxidative stability. *Food Science & Nutrition*, 2020. 8(6): p. 2817-2826.
- [26] Pérez-Masiá, R., j.m. Lagaron, and A. Lopez-Rubio, Morphology and Stability of Edible LycopeneContaining Micro- and Nanocapsules Produced Through Electrospraying and Spray Drying. *Food Bioprocess Tech*, 2015. 8(2): p. 459-470.
- [27] Premi, M. and H.K. Sharma, Effect of different combinations of maltodextrin, gum arabic and whey protein concentrate on the encapsulation behavior and oxidative stability of spray dried drumstick (*Moringa oleifera*) oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017. 105(1): p. 1232-1240.
- [28] Shao, P., Feng, J., Sun, P., & Ritzoulis, C. Improved emulsion stability and resveratrol encapsulation by whey protein/gum arabic interaction at oil-water interface. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019. 133(15): p. 466-472.
- [29] Hu, Y., Kou, G., Chen, Q., Li, Y., & Zhoua, Z. Protection and delivery of mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) peel extracts by encapsulation of whey protein concentrate nanoparticles. *LWT*, 2019. 99(1): p. 24-33.
- [30] Pourashouri, P., B. Shabanpour, and S.H. Razavi, Impact of Wall Materials on Physicochemical Properties of Microencapsulated Fish Oil by Spray Drying. *Food Bioprocess Technol*, 2014. 7(1): p. 2354-2365.
- [31] Talón, E., Lampi, A.-M., Vargas, M., Chiralt, A., Jouppila, K., & González-Martínez, C. Encapsulation of eugenol by spray-drying using whey protein isolate or lecithin: Release kinetics, antioxidant and antimicrobial properties. *Food Chemistry*, 2019. 295(15): p. 588-598.
- [32] Fang, Z., Xu, X., Cheng, H., Li, J., Guanga, C. e., & Liang, L. Comparison of whey protein particles and emulsions for the encapsulation and protection of  $\alpha$ -tocopherol. *Journal of Food Engineering*, 2019. 247(1): p. 56-63.

- [45] Duan, J., Y. Jiang, and Y. Zhao, Chitosan-Whey Protein Isolate Composite Films for Encapsulation and Stabilization of Fish Oil Containing Ultra Pure Omega-3 Fatty Acids. *Journal of Food Science*, 2011. 11(1): p. 25-35.
- [46] Roshanpour, s. Tavakoli, Javad. Beigmohammadi, Faranak. Alaei, Shima. Improving antioxidant effect of phenolic extract of *Mentha piperita* using nanoencapsulation process. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2021. 15(1): p. 23-32.
- [47] Farhoosh, The effect of operational parameters of the Rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf-life prediction of soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 2007. 205-209(3): p. 84.
- Application to sunflower oil preservation. *LWT*, 2019. 113(1): p. 108290.
- [42] Encina, C., Márquez-Ruizb, G., aHolgado, F., Giménez, B., Vergarad, C., & Roberta, P. Effect of spray-drying with organic solvents on the encapsulation, release and stability of fish oil. *Food Chemistry*, 2018. 263(1): p. 283-291.
- [43] Hosseinialhashemi, M., Tavakoli, Javad. Rafati, Alireza. Ahmadi, Fatemeh. The application of *Pistacia khinjuk* extract nanoemulsion in a biopolymeric coating to improve the shelf life extension of sunflower oil. *Food Science & Nutrition*, 2020. 9(2): p. 920-928.
- [44] Dana, D., M, M., Blumenthal, I., & Saguy, S. The protective role of water injection on oil quality in deep fat frying conditions. *European Food Research and Technology*, 2003. 217(2): p. 104-109.



## Use of beta-carotene encapsulated with whey protein and casein and its effects on the shelf life of canola oil during storage

Malekhossini, S. S.<sup>1</sup>, Shirazinejad, A.<sup>2\*</sup>, Hashemi, S. M. B.<sup>3</sup>

1. PhD student, Department of Food Science and Technology, Sarvestan Branch, Islamic Azad University, Sarvestan, Iran.
2. Assistant Professor Department of Food Science and Technology, Sarvestan Branch, Islamic Azad University, Sarvestan, Iran.
3. Associate Professor Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Fasa University, Fasa, Iran.

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received 2021/03/06  
Accepted 2021/07/11

#### Keywords:

Whey protein,  
Casein,  
Beta-carotene,  
Encapsulation,  
Canola oil.

**DOI:** 10.52547/fsct.18.09.03

\*Corresponding Author E-Mail:  
[drshirazinejad@gmail.com](mailto:drshirazinejad@gmail.com)

### ABSTRACT

Microencapsulation is a suitable technology for incorporating active agents into a carrier. In the present study, the weight ratios of two solutions of casein and whey protein in the ratios of 70:30, 50:50 and 30:70, containing 5% by weight of beta-carotene per 100g of wall material for microencapsulation were studied by spray drying method. The results indicated that samples containing 70% whey protein and 30% casein showed the best physical and chemical parameters. The results showed the efficiency of microencapsulation (70.44%), phenolic compounds (4.11 µg/mg), free radical scavenging (36.86%), dye stability of beta-carotene (75.18%) and FRAP (304.15 µmol of iron/gr). The samples revealed an upward trend during the increase in whey protein concentration. However, the particle size (11.0<sup>a</sup> nm) showed a decreasing trend with increasing whey protein concentration. In the following, the ratio of 30% casein to 70% whey protein was introduced as the best treatment and then added to the canola oil sample in three concentrations (200, 700 and 1200 ppm). The results indicated that the amount of polar compounds, acidic, peroxide in the oil samples during the upward trend time and the stability index has decreased. With increasing the concentration of microcapsules up to 1200 ppm, the polar content, peroxide and acid numbers were significantly lower compared to their lower concentrations. As a results, the acid number, peroxide and polar number of oil containing 1200 ppm in the lowest amount were 1.13%, 7.46 mA/kg of oil and 42.41%, respectively. In general, the results of this study showed that whey protein/casein is one of the important sources that can be used to coat bioactive compounds.