

تاثیر کرایوپرکتانت، آنزیم ترانس گلوتامیناز و سرعت دور هموژنایزر در ریزپوشینه کردن روغن بزرک به روش توده‌ای شدن مرکب

آرزو قربانپور^{۱*}، علی نصیرپور^۲، سید امیرحسین گلی^۲، محمد طیبی^۳

۱- دانش اموخته کارشناسی ارشد دانشگاه صنعتی اصفهان

۲- استادیار دانشگاه صنعتی اصفهان

۳- دانش اموخته دانشگاه صنعتی اصفهان

(تاریخ دریافت: ۹۴/۰۳/۰۷ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۰/۱۲)

چکیده

بررسی بیماری‌های همه‌گیر نشان می‌دهد که اسیدهای چرب بلند زنجیر چندغیراشباعی امگا۳ اثرات مفیدی در سلامتی و ممانعت و درمان بیماری‌ها، بخصوص بیماری‌های قلبی-عروقی دارند. به دلیل حساسیت بالای این اسیدهای چرب به اکسیدشدن و داشتن بوی نامناسب، غنی سازی غذاها با این ترکیبات، تاثیر نامطلوبی بر خصوصیات حسی غذاها ی غنی شده دارد. ثابت شده است که ریزپوشینه کردن، روشی مناسب برای محافظت از اکسید شدن و کاهش بو و مزه نامناسب آنها است. در این مطالعه از روغن دانه بزرک حاوی ۵۵٪ لینولنیک اسید استفاده گردید می‌باشد. ریزپوشانی این روغن با روش توده‌ای شدن مرکب بررسی شد. از طرح سطح پاسخ با سه متغیر (سرعت دور هموژنایزر ۱۵۰۰۰-۵۰۰۰ دور در دقیقه، درصد وزنی لاکتوز و حضور و عدم حضور آنزیم ترانس گلوتامیناز) جهت بهینه سازی فرایند ریزپوشینه کردن استفاده شد. درصد وزنی لاکتوز ۲٪ و سرعت دور هموژنایزر ۱۰۰۰۰ و در حضور آنزیم ترانس گلوتامیناز به عنوان شرایط بهینه تعیین گردید. میکروکپسول بهینه، با بهره‌وری ۹۵٪ به منظور تاثیر ریزپوشینه کردن بر اکسیداسیون ساخته شد. میکروکپسول‌ها به مدت ۲۱ روز در دمای اتاق نگهداری گردید و عددپراکسید و اندیس تیوباریوتیک روغن ریزپوشینه شده در مقابل روغن ریزپوشینه نشده در طول این مدت اندازه‌گیری گردید.

کلید واژگان: امگا۳، ترانس گلوتامیناز، توده‌ای شدن مرکب، روغن بزرک، ریزپوشینه

* مسئول مکاتبات: a.ghorbanpor@ag.iut.ac.ir

۱- مقدمه

امروزه افزایش تقاضا در مصرف غذاهای سلامت بخش و مغذی باعث ترغیب پژوهشگران عرصه صنعت غذا جهت تولید غذاهای فراسودمند گردیده است. روغن بزرک روغن غیر اشباعی که از گیاه بزرک گونه *Linum usitatissimum* و غنی از اسید چرب امگا ۳ از نوع الفالینولینیک اسید که ۵۷٪ از کل اسیدهای چرب آن را تشکیل می‌دهد استخراج می‌گردد. محتوی بالای اسیدهای چرب امگا ۳ و تاثیر آن در جلوگیری از بسیاری از بیماری‌های قلبی-عروقی، سرطان و غیره باعث استفاده گسترده این روغن در محصولات فراسودمند گردیده است [۱]. از موانع استفاده این روغن بو و طعم نامطلوب و حساس بودن آن به اکسیژن است. بسیاری از محققان به منظور افزایش سلامت مصرف کنندگان محصولات غذایی مختلفی از جمله نان [۲]، بستنی [۳]، غذاهای اکستروود شده [۴] را با روغن بزرک غنی سازی نمودند. تکنولوژی ریزپوشانی کردن به علت عملکردی که در علم داروسازی، پزشکی، شیمی، صنعت غذا و کشاورزی داشته در دهه‌های اخیر توجه محققان را به خود جلب نموده است [۵]. در حال حاضر خشک کردن پاششی امولسیون رایج‌ترین روش ریزپوشانی روغن بزرک است اما روش توده‌ای شدن مرکب، ریزپوشینه‌های پایدارتر و با روغن بالاتری در مقایسه با خشک کردن پاششی تولید می‌کند که این روش اخیراً مورد توجه قرار گرفته است [۶]. توده‌ای شدن مرکب اصطلاحی است که به جدا شدن خودبه‌خودی فاز مایع-مایع که هنگامی که بارهای پلی‌الکترولیتیکی مخالف با هم مخلوط می‌گردند، اطلاق می‌شود. البته همه پلی‌الکترولیتیک‌ها این رفتار را نشان نمی‌دهند بلکه به شرایطی از قبیل pH بار توده روی پلی‌مرها و غلظت کلونیدها دما و غیره بستگی دارد [۷]. ریزپوشینه کردن با روش توده‌ای شدن مرکب به وسیله گوین شناخته شد [۸]. ریزپوشینه کردن روغن بیشتر به منظور جلوگیری از اکسید شدن و بوی نامطبوع روغن مورد استفاده قرار می‌گیرد. بهره‌وری و میزان آزادسازی این روش بستگی به ترکیبات و ساختار تشکیل دهنده دیواره دارد. دیواره می‌تواند از برخورد مواد درون با اکسیژن، نور و سایر اجزاء جلوگیری کند. اجزاء دیواره ریزپوشینه‌های روغن باید ویژگی‌های امولسیون-کنندگی، حلالیت در آب، ویسکوزیته پایین و قابلیت خشک-شوندگی داشته باشند. [۹]

۲- مواد و روش ها

دانه بزرک از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد پودر ژلاتین نوع A با درجه بلوم ۲۶۰-۲۶۵ از شرکت ژلینا تهران تهیه شد. این پودر دارای رنگ زرد متمایل به قهوه ای بود. صمغ عربی نیز از شرکت دایجونگ کره تهیه گردید. آنزیم ترانس گلوتامیناز از شرکت Yiming Biological Products کشور چین تهیه شد. پودر لاکتوز از نوع خوراکی آن تهیه شد.

۲-۱- استخراج روغن از دانه بزرک

به منظور استخراج روغن از دانه بزرک، روش حلال سرد استفاده گردید. ابتدا ۱۰۰ گرم دانه بزرک آسیاب شد و سپس پودر دانه بزرک و حلال هگزان به نسبت ۱ به ۲ با هم مخلوط شد و اختلات ۲ مرتبه به مدت ۶ ساعت در دمای محیط به وسیله هم‌زن مکانیکی انجام شد. فیلتراسیون ابتدا با کاغذ صافی انجام گرفت. سپس به منظور حذف حلال، حلال و روغن در دستگاه روتاری تحت خلأ قرار گرفتند و دمای ۴۰-۵۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد، تا آسیب دیدن ترکیبات به حداقل برسد. در نهایت به کمک گاز ازت حلال باقیمانده حذف شد و روغن در ظروف شیشه‌ای تیره‌رنگ در یخچال نگهداری شد. پروفیل اسیدهای چرب استخراج شده از دانه بزرک نشان داد این روغن حاوی ۵۷٪ لینولینیک، ۱۵٪ لینولینیک، ۱۷٪ اولئیک، ۵٪ استئاریک و پالمیتیک است.

۲-۲- طراحی فرمولاسیون

فرمولاسیون نمونه با ترکیبی از سه جزء اصلی روغن بزرک، ژلاتین، صمغ عربی و دو جزء متغییر لاکتوز، آنزیم ترانس گلوتامیناز آماده شد. درصد وزنی اجزاء بر اساس یک سری آزمایشات مقدماتی طوری انتخاب شد که نسبت اجزاء اصلی (روغن بزرک، ژلاتین و صمغ) برابر و ۱:۱:۱ و محدوده وزنی لاکتوز از ۰-۲ گرم در ۳۰۰ میلی‌لیتر از کل محلول و وجود (۰/۰۴۵ در میلی لیتر ۳۰۰ محلول) یا عدم وجود آنزیم و متفاوت بودن دور هموژنایزر از ۵۰۰۰-۱۵۰۰۰ دور در دقیقه تعیین گردید. فرمولاسیون‌های خروجی در جدول ۱ آورده شده است.

۲-۳- آماده سازی میکروکپسول

روش استفاده شده برای پوشینه‌کردن براساس روش یوو و همکاران (۲۰۰۵) و نسبت روغن به ژلاتین و صمغ عربی ۱:۱:۱ استفاده شد [۱۰]. بکار بردن محافظ‌های سرمایی با درصدهای

از تزریق به دستگاه در شدت عبور ۸۰-۶۵٪، اندازه ذرات میکروکپسول بررسی شد.

۲-۶- اندازه گیری عددپراکسید میکروکپسول

ها

برای اندازه‌گیری عدد پراکسید میکروکپسول‌ها ابتدا ۰/۵ گرم پودر را با ۵ میلی‌لیتر آب مخلوط کرده و به مدت ۳۰ دقیقه هم زده می‌شود تا کاملاً حل شود سپس ۳۰۰ میکرولیتر از آن را برداشته و با ۱/۵ سی سی مخلوط ایزواکتان-ایزوپروپانول (۱:۲) مخلوط شد. ۳ بار ۱۰ ثانیه شدید هم زده و سپس در دور ۱۰۰۰ به مدت ۴ دقیقه سانتریفوژ شدند. فاز روئی را برداشته و به وسیله گاز ازت حلال جدا گردید و روغن بدست آمده توزین شد. سپس ۹/۸ میلی لیتر کلروفرم-متانول (۱:۴) به روغن اضافه گردید و به مدت ۵ ثانیه مخلوط شد، سپس ۱ قطره آمونیوم تیوسیانات ۳۰٪ به نمونه اضافه گردید و ۵ ثانیه هم زده شد. پس از آن یک قطره محلول آهن (II) کلرید ۰/۳۵٪ به محلول اضافه و هم زده شد. پس از ۵ دقیقه نگهداری در دمای اتاق جذب نمونه در طول موج ۵۰۰ نانومتر در برابر شاهد که محلولی حاوی همی معرف‌ها به غیر از نمونه بود، قرائت شد.

برای رسم نمودار استاندارد از محلول‌های آهن (III) کلرید حاوی ۲/۵ تا ۵۰ میکرو گرم آهن (III) استفاده گردید، که شیب نمودار استاندارد ۴۱/۵۲ بود. برای به دست آوردن عدد پراکسید (میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن) از فرمول زیر استفاده شد [۱۲].

شیب نمودار استاندارد \times (جذب نمونه - جذب شاهد) = عدد پراکسید

$$55/84 \times 2 \times \text{وزن نمونه گرم}$$

که در آن ۵۵/۸۴ وزن اتمی آهن می باشد.

۲-۷- اندازه گیری اندیس تیوباریتوریک اسید

همانند روش قبل پس از شکستن میکروکپسول‌ها روغن درون آن را استخراج و وزن می‌کنیم و سپس نمونه را در مقدار کمی از ۱- بوتانل حل کرده و پس از مخلوط شدن کامل روغن در حلال، به حجم رسانده می‌شود. بوسیله یک پیت ۵ میلی لیتر از محلول TBA به آن اضافه کرده، درب لوله آزمایش را بسته و مخلوط کرده و در حمام آب ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده می‌شود. بعد از ۱۲۰ دقیقه، لوله آزمایش را از حمام خارج کرده و زیر شیر آب سرد گرفته تا

وزنی مختلف، عملکرد هموژنایزر برای هر فرمول متفاوت بوده و ایجاد اتصالات عرضی با آنزیم برای بعضی از فرمول‌ها بکار رفته است.

ابتدا کل ژلاتین فرمولاسیون در نه قسمت آب هیدراته شد (۱۰٪ وزنی/وزنی) و دمای آن تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد افزایش داده شد. محلول صمغ عربی در باقیمانده آب فرمولاسیون در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در یک بشر ۶۰۰ میلی‌لیتر آماده شد. آنزیم نیز با نسبت ۰/۰۴۵ در ۳۰۰ میلی‌لیتر به صورت ۱۰٪ با آب دیونیزه مخلوط می‌شود. در ادامه روغن بزرک (۲۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد) در محلول ژلاتین با هم‌زدن در دوره‌های مختلف هموژنایزر به مدت ۳ دقیقه به صورت امولسیون O/W (روغن در آب) درآمد و به طور کامل با محلول صمغ عربی با دور همزن دور در دقیقه ۶۰۰ مخلوط و سپس در فرمولاسیون‌های با آنزیم، آنزیم اضافه گردید و به مدت ۱۰ دقیقه محلول در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. pH آن با افزودن اسیداستیک ۰/۵۰٪ (حجمی/حجمی) روی ۴/۲ تنظیم شد، و در ادامه دمای سیستم به آرامی (۵ درجه سانتی‌گراد در هر ۱۰ دقیقه) تا ۴-۷ درجه سانتی‌گراد کاهش داده شد و هم‌زدن متوقف شد. در نهایت لاکتوز را به صورت پودر به آن اضافه کردیم. هنگام تشکیل دو فاز، فاز آبی را جدا و ژل را تا دمای ۳۰- درجه سانتی‌گراد و فشار ۰/۸ هکتوپاسکال به روش خشک‌کن انجمادی خشک و سپس به منظور تولید پودری ریز آسیاب و الک گردید.

۲-۴- اندازه گیری بهره وری ریزپوشینه کردن

برای اندازه‌گیری بهره‌وری ریزپوشینه‌کردن ۱۰ گرم پودر دوبار به نسبت ۱ به ۱۰ به مدت ۱۵ دقیقه با هگزان در یک فلاسک در بسته هم زده شد؛ میکروکپسول‌ها با کاغذ واتمن شماره ۴۲ جدا و حلال باقیمانده با گاز ازت جدا شد [۱۱].

$$a/b \times 100 = \text{بهره‌وری ریزپوشینه کردن}$$

در معادله (۱) a میزان روغن پوشینه‌شده، b کل روغن مورد استفاده می‌باشد.

۲-۵- بررسی اندازه و شکل میکروکپسول‌ها

به منظور بررسی اندازه میکروکپسول‌ها قبل و بعد از خشک‌کردن انجمادی، از دستگاه آنالیز اندازه ذرات استفاده شد به این ترتیب که مقدار ۰/۱۵ گرم سوسپانسیون یا ژل در ۱۵۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ درصد (حجمی/وزنی) سدیم دو دسیل سولفات به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد هم‌زده شد و پس

۲-۳- تصاویر میکروکپسول ها با میکروسکوپ

نوری

در شکل ۲ تصاویر میکروکپسول‌ها را بعد از اتمام فرآیند پوشینه‌کردن با میکروسکوپ نوری نشان می‌دهد. در این تصاویر میکروکپسول‌های که در تشکیل آن‌ها آنزیم حضور داشته منظم‌تر و دیواره محکم‌تر به نظر می‌رسد. میکروکپسول‌ها، روغن آزاد و میکروکپسول خالی در تصاویر مشخص است.

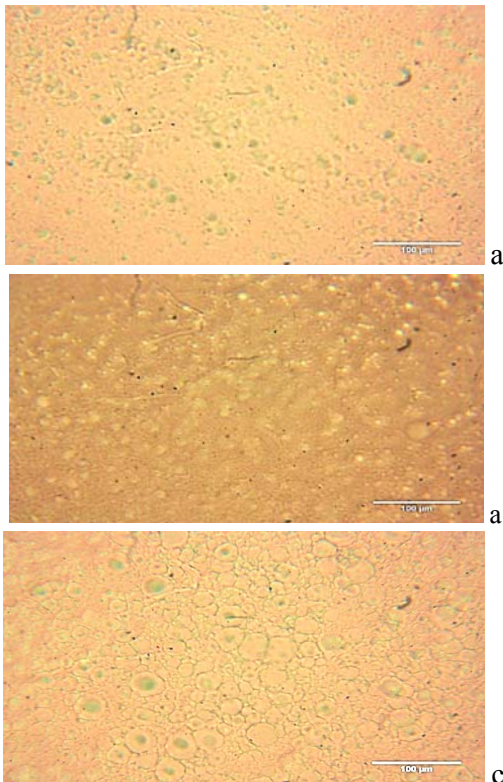


Fig 2 Optical microscopy images of formulations
A) F 0, 10000, 1, b) F 045/0, 10000, 2
C) F 0, 5000, 2

۳-۳- تصاویر میکروکپسول ها با میکروسکوپ

الکترونی روبشی

تصاویر میکروکپسول‌ها بعد از خشک‌کردن انجمادی با میکروسکوپ الکترونی روبشی در شکل ۳ نشان می‌دهد که در حضور آنزیم اتصالات عرضی ایجاد شده و منافذ بسته می‌شوند و تخلخل وجود ندارد.

دمای مخلوط تهیه شده به دمای محیط برسد. در پایان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۰ نانومتر بوسیله دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده می‌شود. سل باید از جنس شیشه باشد. همزمان با نمونه، کلیه عملیات برای شاهد بدون نمونه نیز انجام می‌گیرد. جذب خوانده شده را در فرمول ۳ قرار داده و عدد TBA محاسبه می‌شود.

$$50 \times (\text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد}) = \text{اندیس تیوباریوتیک}$$

وزن نمونه گرم

از میکروسکوپ نوری نیز برای بررسی شکل میکروکپسول‌ها قبل از خشک‌کردن انجمادی آن‌ها استفاده شد.

تصاویر سه بعدی پودر میکروکپسول‌ها با میکروسکوپ الکترونی روبشی تهیه گردید. FT-IR به منظور پی‌بردن به تشکیل پیوند شیمیایی جدید در پودر میکروکپسول‌ها انجام گردید.

۳- نتایج و بحث

۱-۳- تشکیل میکروکپسول ها

در این تحقیق از ژلاتین و صمغ عربی به عنوان دیواره اصلی میکروکپسول‌ها استفاده گردید. هنگام مخلوط نمودن روغن به ژلاتین امولسیون پایداری تشکیل و با اضافه کردن صمغ عربی و با تنظیم pH و دما به سوسپانسیونی دوفازه (توده‌ها و فاز رویی) تبدیل گردید. شکل ۱ تصویر دوفازی سیستم را بعد از اتمام پوشینه‌کردن نشان می‌دهد که فاز زیری میکروکپسول‌ها و فاز رویی سوپرناتانت است.

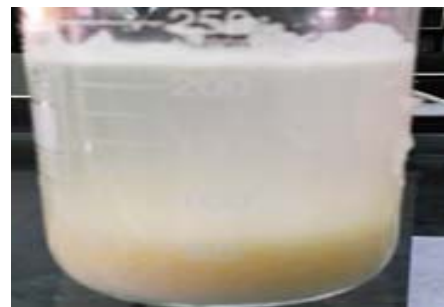


Fig 1 Picture two-phase system at the end of microcapsulation

در جدول ۱ فرمولاسیون‌های خروجی نرم‌افزار، مقادیر بهره‌وری فرآیند پوشینه‌کردن و اندازه ذرات امولسیون و میکروکپسول‌ها برای هر فرمولاسیون آورده شده است

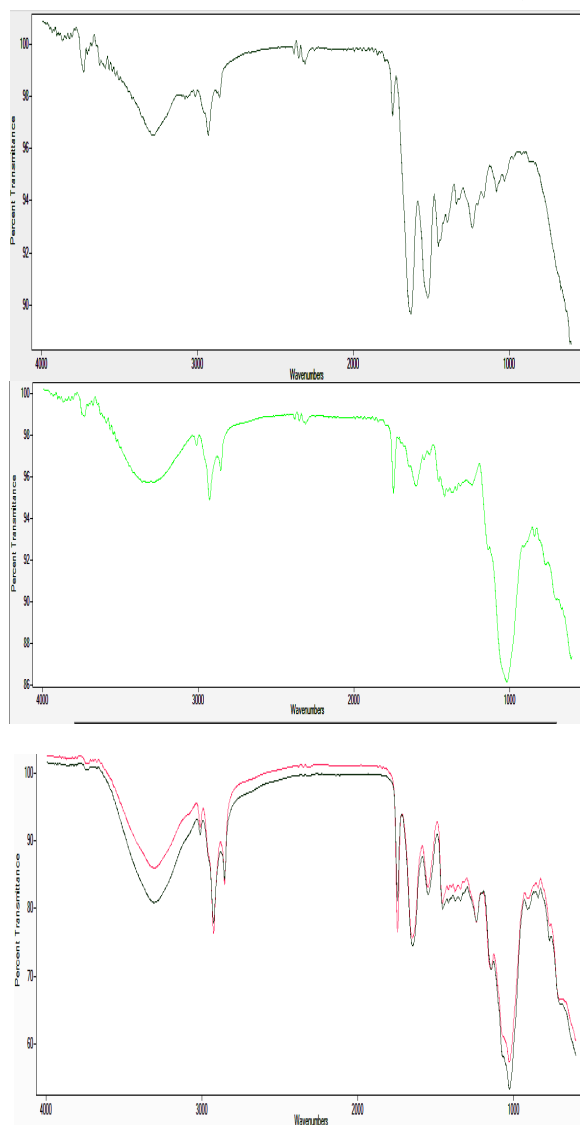


Fig 4 charts FTIR (a) Gelatin (b) Gum Arabic (c) formula with the enzyme (top) and without any enzyme (bottom)

. مدل مکعب خاص با رابطه ۱ برای بهره‌وری و مدل درجه دوم با رابطه ۲ و ۳ برای اندازه ذرات میکروکپسول قبل و بعد از فریزدرایر مورد تأیید قرار گرفت (R2) برای بهره‌وری ۰/۹۶ و برای اندازه قبل و بعد از فریز درایر به ترتیب ۰/۷۵ و ۰/۸۲) درصد وزنی صمغ عربی، ژلاتین و روغن بزرک ثابت (۱:۱:۱) است. A و B و C به ترتیب مقدار کرایوپرکتانت، سرعت دور همزنایزر و حضور آنزیم است.

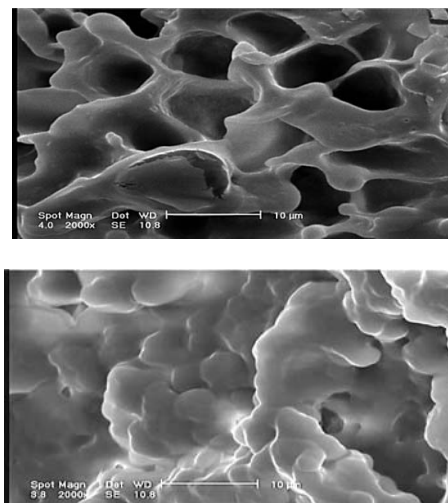


Fig 3 SEM image of microcapsules with the formula: the homogenizer 10,000, with lactose (a) without enzyme

۳-۴- نمودارهای FTIR

طیف‌های ژلاتین، صمغ عربی و میکروکپسول‌های تشکیل شده از آن‌ها در حضور و عدم حضور آنزیم در شکل ۴ نشان داده شده است. اعداد پیک توده مرکب هنگام تشکیل میکروکپسول با پیک‌های ژلاتین که شامل ۱۵۴۴، ۱۶۳۸/۹۴، ۱۷۴۳/۰۲، ۲۹۳۲/۰۵ می‌باشند و صمغ عربی در پیک ۱۰۲۳/۹۲ مطابقت دارد که نشان دهنده عدم تشکیل پیوند شیمیایی جدید در تشکیل توده‌های مرکب ژلاتین و صمغ عربی است. بنابراین تنها پیوند تشکیل شده بین ژلاتین و صمغ پیوند الکترواستاتیک است.

این نتایج با مطالعات پاتریک و همکاران در سال ۲۰۱۳ مبنی بر ریزپوشینه‌کردن روغن ماهی با روش توده‌ای مرکب با استفاده از ژلاتین، سدیم دو سیل سولفات و سدیم کربوکسی متیل سلولز مطابقت دارد [۱۳]. نتایج مطالعات ژو و همکاران در سال ۲۰۱۳ با بکار بردن آنزیم ترانس گلوتامیناز در ترمیم پروتئین‌های ابریشم با بررسی نمودار FTIR پروتئین قبل و بعد از استفاده از آنزیم ترانس گلوتامیناز نشان داد که ترانس گلوتامیناز بر روی ساختمان اصلی پروتئین تأثیر ندارد که تا حد زیادی با یافته‌های بدست آمده از تحقیق حاضر مشابه است [۱۴].

$$\begin{aligned}
 & ۱۹۲/۴۵+۳۸/۷A \quad (درصد) = ۸۶۵۰ + ۳/۶۰A + ۱۲/۸۰B + ۳/۷C \\
 & -۴۲/۳۴ B -۷۶/۰۱C -۸۳/۸۶AB -۶۴/۳۵AC +۴۶/۷۲BC \\
 & -۲/۲۰AB - ۰/۸۰AC - ۲/۱۸BC +۱/۰۶A2 - ۱۹/۷B2 \\
 & = ۳۸۵/۶۴+۲۹/۳۷A -۷۶/۷۵B -۴۹/۳۱AB \\
 & \text{قبل از خشک کن انجمادی (بدون آنزیم)}
 \end{aligned}$$

Table 1 Output formulations software, productivity and process microcapsules before and after the freezerdryer

Row	formulations	microcapsules size after freeze dryer ** (microns)	microcapsules size before freeze dryer ** (microns)	productivity (%)
1	F 2, 15000, 0/045,	84	3/51	78.0 ± 86
2	F 0, 5000, 0	73/71	390/3	65.1 ± 42
3	F 2, 5000, 0/045	164/46	20/63	96.0 ± 66
4	F 2, 15000, 0	127/36	161/25	90.0 ± 87
5	F 0, 15000, 0	156/01	396	55.1 ± 77
6	F 0, 5000, 0/045	132/17	18/6	84.0 ± 56
7	F 0, 15000, 0	156/01	193/15	65.1 ± 77
8	F 2, 10000, 0/045	40	3/2	49.0 ± 95
9	F 0, 15000, 0/045	255/74	263/12	59.0 ± 86
10	F 2, 15000, 0/045	70/09	3/51	45.1 ± 79
11	F 0, 15000, 0/045	255/74	263/12	76.1 ± 77
12	F 2, 15000, 0	178/91	398/92	97.0 ± 76
13	F 1, 10000, 0	261/18	558/12	34.1 ± 81
14	F, 10000, 0/045	41/68	19/9	85.1 ± 59
15	F 0/05, 10000, 0/045	21/26	3/4	96.0±90
16	F 2, 5000, 0	529/89	496/89	85.1 ± 55
17	F 1, 5000, 0	549/83	413/8	1/65 ± 50

Fa, b, c formulation weight% of lactose, the percentage by weight of dispersant, where respectively enzyme against a, b, c is.

** The volume average particle diameter of the microcapsules according to Micron

۳-۵- مدل سازی بهره وری فرآیند ریز پوشینه

کردن

Table 2 special cube model analysis of variance and coefficients components and interactions for productivity process them microcapsulation

Sources of changes	Efficiency		size before freeze dryer		size after freeze dryer	
	P- value	The estimated coefficient	P- value	The estimated coefficient	P- value	The estimated coefficient
A- cryoprotectant	<0/0001	86/50	0/0013	224/56	0/0053	192/45
B- Homogenizer	0/0179	3/60	0/5827	-16/27	0/1645	38/67
C- enzyme TG	<0/0001	12/80	0/7398	-9/05	0/1062	-42/34
AB	0/0064	3/77	<0/0001	-161/09	0/0057	-76/01
AC	0/1180	-2/20	0/1306	-49/31	0/0110	-83/86
BC	0/5075	-0/80	0/1239	-45/64	0/0250	-64/35
۲A	0/0852	-2/18	0/0286	67/71	0/0125	72/46
۲B	0/7412	1/06				
	0/0002	-19/74				

P- value greater than 0/1 and less than 0/05 and represent significant phrases and lack of effect on the productivity model is microcapsule.

افزایش بهره‌وری می‌گردد [۱۶]. گروس و همکاران (۲۰۰۶) نیز اثر آنزیم ترانس گلوتامیناز بر راندمان ریزپوشینه‌کردن را بررسی و مشاهده کردند که به دلیل اتصالاتی که ترانس گلوتامیناز در ژلاتین ایجاد می‌کند راندمان را افزایش داده است [۱۷].

هنگامی که سرعت هموژنایزر افزایش می‌یابد قطرات کوچک روغن به وسیله ژلاتین و صمغ در نتیجه انرژی مکانیکی بیشتر و مساحت سطح قطرات بیشتر به دام می‌افتند. اما با افزایش بیش از حد دور هموژنایزر کپسول‌های چند هسته‌ای به چندین بسته از قطرات کوچک روغن تبدیل می‌شوند و راندمان اندکی پایین می‌آید.

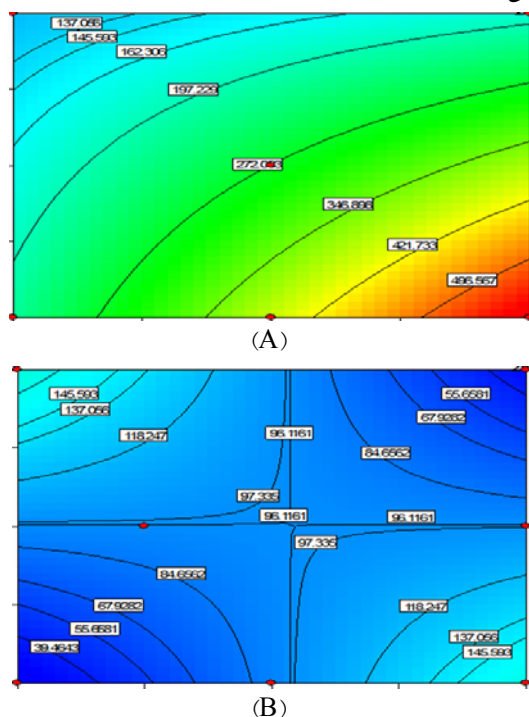


Fig 6 Interaction homogenizer and lactose microcapsule size before freeze-dry-now in formulas (a) without any enzyme (b) in the presence of enzymes

در فرمول‌هایی که بدون حضور آنزیم است با افزایش دور هموژنایزر و کاهش لاکتوز اندازه ذرات کاهش پیدا کرده و بیشترین اندازه در بیشترین مقدار لاکتوز و کمترین دور هموژنایزر بوده است. بدلیل این‌که لاکتوز خود با تشکیل لایه-ای بر روی ذرات باعث افزایش اندازه ریزپوشینه‌ها می‌گردد. همچنین هرچه سرعت دور هموژنایزر بیشتر شود، اندازه ذرات را ریزتر تر می‌گرداند، اما در حضور آنزیم مشاهده شد نقاطی که بیشترین دور هموژنایزر با بیشترین درصد وزنی لاکتوز

۳-۶- تاثیر درصد وزنی لاکتوز، سرعت دور هموژنایزر و حضور آنزیم بر بهره‌وری و اندازه میکروکپسول‌ها قبل و بعد از خشک‌کن انجمادی

در شکل ۵ اثر متقابل هموژنایزر و لاکتوز در حضور و عدم حضور آنزیم بر بهره‌وری ریزپوشینه‌کردن آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش دور هموژنایزر البته تا حد ۱۰۰۰۰ بهره‌وری افزایش پیدا کرده و لاکتوز تأثیر کمی در افزایش بهره‌وری داشته است. همچنین در حضور آنزیم بهره‌وری افزایش پیدا کرد، احتمالاً به دلیل ایجاد اتصالات عرضی توسط آنزیم و محصور نمودن بیشتر روغن می‌باشد.

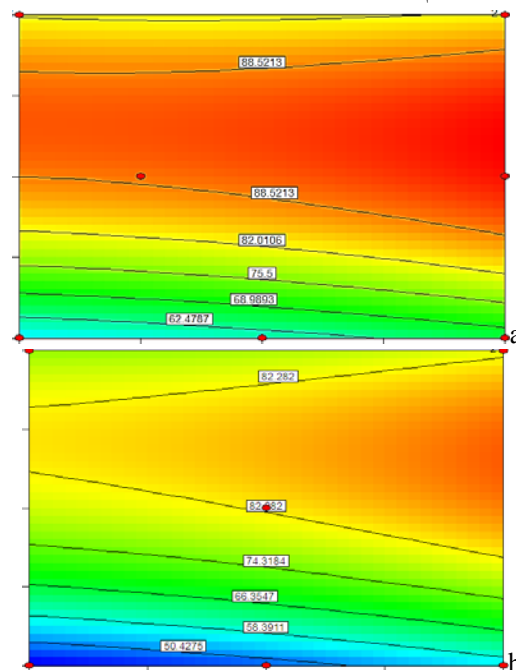


Fig 5. The effect on the productivity, speed homogenizer and lactose microcapsulate the process ((a) in the presence of the enzyme (b) the absence of the enzyme)

آلوم و همکاران (۲۰۱۰) با ریزپوشینه‌کردن روغن دانه سویا به روش توده‌ای شدن مرکب و با مقایسه تأثیر گلوکار آلدئید و آنزیم ترانس گلوتامیناز به عنوان اتصال دهنده‌های عرضی مشاهده کردند در حضور ترانس گلوتامیناز بیشترین بهره‌وری بدست آمده است [۱۵].

لیو و همکاران (۲۰۱۰) نیز در ریزپوشانی روغن بزرک با این روش نشان دادند که افزایش دور هموژنایزر تا حد ۹۰۰۰ باعث

یوو و همکاران (۲۰۰۵) دریافتند سرعت کم هموزنایزر باعث تولید میکروکپسول‌های بزرگ یک هسته‌ای غیرهمگون که دارای هسته روغنی بزرگی هستند. در حالی که سرعت بالا باعث تولید میکروکپسول‌های بزرگ چند هسته‌ای که با تعداد زیادی از هسته‌های روغنی درون پوسته پلیمری می‌شود [۱۰]. همان طور که برای اندازه میکروکپسول قبل از خشک-کن انجمادی توضیح داده شد. نتایج این قسمت مطابق با نتایج بررسی اندازه میکروکپسول قبل از خشک کن انجمادی می‌باشد.

۳-۶ بهینه‌سازی

با توجه به تحلیل نمودارها مبنای بهینه سازی، به حداقل رساندن اندازه ذرات ریزپوشینه و ماکزیم درصد بهره‌وری می‌باشد. به طوری که ریزپوشینه‌ها دارای حداکثر روغن بزرگ درون هسته بوده و اندازه کوچکتر تا با غنی سازی مواد غذایی با ریزپوشینه احساس دهانی مطلوبی داشته باشد. لذا شرایط بهینه برای ریزپوشینه‌ها، فرمولی با سرعت دور هموزنایزر ۱۰۰۰۰ و بالاترین درصد وزنی لاکتوز و در حضور آنزیم تعیین گردید. در این شرایط درصد بهره‌وری ۹۵، درصد وزنی لاکتوز ۲ و در حضور آنزیم ترانس گلوتامیناز بود.

۳-۷- پایداری اکسیداسیون فرمول بهینه در

مقایسه با نمونه شاهد

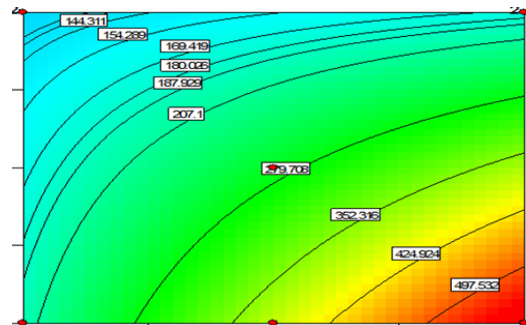
به منظور ارزیابی پایداری اکسیداسیون، ریزپوشینه‌های روغن بزرگ به مدت ۲۱ روز در دمای اتاق درون پلیت های درب باز نگهداری شدند [۱۹].

یکی از اهداف ریزپوشینه‌کردن روغن بزرگ محافظت آن در برابر اکسیداسیون است، که باعث بو و طعم نامطلوب و از دست رفتن خواص تغذیه‌ای روغن می‌شود. محصولات اولیه اکسیداسیون مانند پراکسیدها که این مواد به سرعت به آلدئیدها و کتون‌ها تبدیل می‌گردند و سپس این مواد به مالون‌آلدئید می‌گردند. اندیس پراکسید نشانگر تولید پراکسیدها می‌باشد و اندیس تیوبایوتیک نشانگر تولید مالون‌آلدئید و پیشرفت اکسیداسیون است.

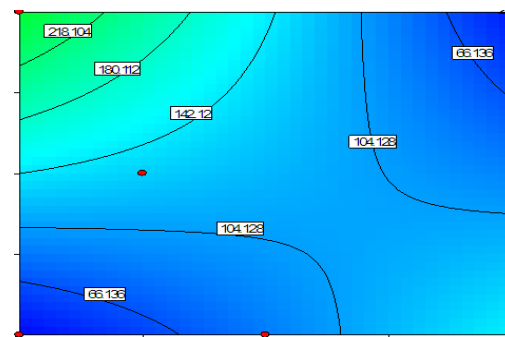
اندیس پراکسید روغن بزرگ قبل و بعد از ریزپوشانی تغییری نداشت که نشان دهنده این است ریزپوشانی تاثیری روی اندیس پراکسید ندارد. در طول دوره نگهداری ریزپوشینه‌های روغن بزرگ و روغن شاهد (روغن بزرگ ریزپوشینه نشده) در

است و همچنین نقاطی کمترین درصد وزنی لاکتوز و کمترین دور هموزنایزر دارند، اندازه کوچکتر بدست آمده است. در مقابل بیشترین درصد لاکتوز با کمترین دور هموزنایزر و همچنین کمترین درصد وزنی لاکتوز با بالاترین دور هموزنایزر اندازه ذرات بزرگ‌تری نشان است.

هنگام استفاده از دور بالای هموزنایزر ذرات ریز در حضور آنزیم امکان اتصال به هم را دارند و به هم می‌چسبند و اندازه بزرگ‌تری می‌گردد. اما در دور پایین ذرات درشت هستند و امکان اتصال نیز کمتر است. اما هنگام استفاده از لاکتوز چون مانند لایه‌ای اطراف ذرات را می‌گیرد مانع اتصال دوباره می‌گردد. بنابراین با داشتن بیشترین درصد لاکتوز با بیشترین دور هموزنایزر کوچکترین اندازه را خواهیم داشت. همچنین با افزایش درصد لاکتوز و کاهش دور هموزنایزر اندازه ذرات بزرگتر می‌گردد.



(A)



(B)

Fig 7 interactions weight percent lactose and formula-speed homogenizer away without the presence of an enzyme (a) formulations in the absence of enzyme (b)

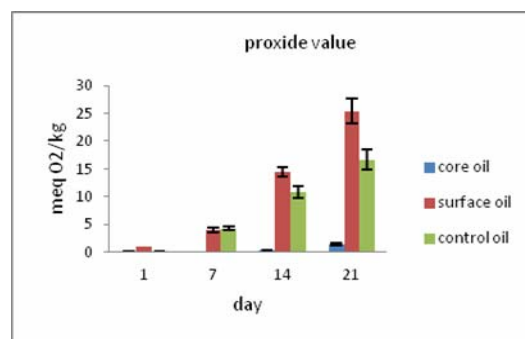
چو و همکاران (۲۰۰۳) با ریزپوشینه‌کردن روغن ماهی و بکار بردن آنزیم ترانس گلوتامیناز به منظور اتصالات عرضی با ساخت امولسیون در دور هموزنایزر ۹۵۰۰۰ دور در دقیقه اندازه میکروکپسول نهایی به ۳۰-۶۰ میکرون رسید [۱۸].

دیواره افزایش می‌یابد و در ادامه با افزایش سرعت دور هموژنایزر، کاهش درصد وزنی لاکتوز و بدون حضور آنزیم اندازه میکروکپسول‌ها بدلیل تشکیل توده‌ی کمتر روی میکروکپسول‌ها و ریزتر شدن آن‌ها کاهش پیدا کرده است و در حضور آنزیم در فرمول‌های با بیشترین درصد وزنی لاکتوز و بیشترین سرعت دور هموژنایزر، همچنین نقاطی که کمترین درصد وزنی لاکتوز و کمترین سرعت دور هموژنایزر کمترین اندازه را دارند. به دلیل اینکه سرعت بالای دور هموژنایزر اندازه ذرات ریزتر در حضور آنزیم امکان اتصال دارند. اما با افزایش لاکتوز این اتصالات کمتر می‌گردد. در مورد هدف اصلی از ریزپوشینه کردن که جلوگیری از اکسید شدن است نتایج حاصل از اندیس پراکسید و تیوباریوتیک نشان داد که ریزپوشینه کردن موفق به محافظت در برابر اکسید شدن گردیده است.

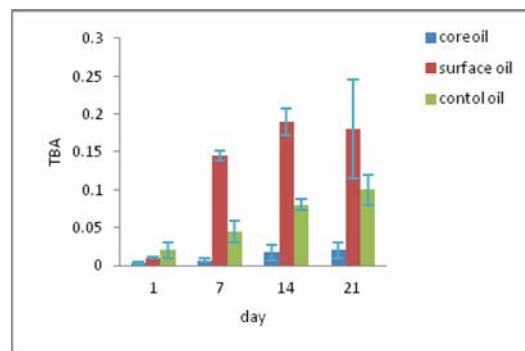
۵- منابع

- [1] Helena C.F. Carneiro, Renata V. Tonon, Carlos R.F. Grosso, Miriam D. Hubinger(2013). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Journal of Food Engineering*. 115. 443–451
- [2] Deaguiar, A.C., Boroski, M., Monteiro, A.R.G., DE Souza, N.E. and Visentainer, J.V. (2011). Enrichment of whole wheat flaxseed bread with flaxseed oil. *J. Food Process. Preserv.* 34, 605–609.
- [3] Goula, A.M. and Adamopoulos, G. (2004). Spray drying of tomato pulp: Effect of feed concentration. *Dry. Technol.* 22, 2309–2330.
- [4] Makala, H. (2007). Effect of enriching model meat products with oils, abundant in polyunsaturated fatty acids on the selected quality parameters. *Elec. J. Polish Agric. Univ.* 10,15–23.
- [5] Thirundas R, Gadhe K.S and Hashmi Syed I. (2012). Optimization Of Wall Materiall Concentration In Prepration Of Flaxseed Oil Powder Using Respons Surface Metodology. *Journal of Food Processing and Preservation.* 1745-4549
- [6] Tamjidi F, Nasirpour A and Shahedi M. (2012). Mixture Design Approach for Evaluation of Fish Oil Microencapsulation in Gelatin-Acacia Gum Coacervates. *Journal of*

دمای اتاق اندیس پراکسید و تیوباریوتیک روغن شاهد افزایش پیدا کرد اما روغن درون ریزپوشینه‌ها سرعت کمتری و روغن سطح ریزپوشینه‌ها به علت تماس بیشتر با اکسیژن سرعت بالاتری داشته است. لیو و همکاران در سال ۲۰۱۰ نیز با ریزپوشینه کردن روغن بزرک با صمغ عربی و ژلاتین و نگهداری به مدت ۲۵ روز دریافتند که عددپراکسید روغن شاهد نسبت به روغن ریزپوشینه شده سرعت بالایی داشته است [۱۶]. تیرونداس و همکاران در سال ۲۰۱۲ با ریزپوشینه کردن روغن بزرک با صمغ عربی، مالتودکسترین و پودر شیر خشک به این نتیجه رسیدند که عددپراکسید روغن سطح ریزپوشینه‌ها نسبت به روغن درون به سرعت افزایش یافته است [۵].



A



B

Fig 8 Changes peroxide and TBARS flaxseed oil and microcapsules and control the length of storage for 21 days

۴- نتیجه گیری

با توجه به نتایج حاصل از این بررسی با افزایش سرعت دور هموژنایزر و افزایش درصد وزنی لاکتوز و در حضور آنزیم بهره‌وری فرآیند به دلیل افزایش تعداد ذرات و افزایش توده

- Microencapsulation by complex coacervation of fish oil using gelatin/SDS/NaCMC. *Food Sci*, 23, 17-25.
- [14] Zhu, Z., L. Liu and D. Gong. (2013). Transglutaminase-mediated restoration of historic silk and its ageing resistance. *Herit Sci*, 1-13.
- [15] Alvim, I. D., C. Grosse, and F. Raimundo. (2010). Microparticles obtained by complex coacervation: influence of the type of reticulation and the drying process on the release of the core material. *Food Sci*, 1069-1076.
- [16] Liu, S., Low., N. Michael and T. Nickerson. (2010). Entrapment of Flaxseed Oil Within Gelatin-Gum Arabic Capsules. *Am Oil Chem Soc*, 809-815.
- [17] Grosso, C. R., M. H. Zanin., M. I. Ré, and A. S. Prata. (2006). Effect of Glutaraldehyde or Transglutaminase as Crosslinking Agent in the Release of Coacervated Microparticles. *Food Eng*, .
- [18] Cho, Y. H., H. K. Shim and J. Park. (2003). Encapsulation of Fish Oil by an Enzymatic Gelation Process Using Transglutaminase Cross-linked Proteins. *Food Sci*, 2717-2723.
- [19] Barrow, J. C. and F. Shahidi, (2007). *Marine nutraceuticals and functional foods*. CRC Press.London.pp, 23-154.
- Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials 62: 444-449
- [7] Patrick E.P, Abbas S , LvY, Ntsama I.S.B , Zhang X. (2013). Microencapsulation by complex coacervation of fish oil using gelatin/SDS/NaCMC *Journal of Food Sciences*. 23: 17-25.
- [8] Gouin, S. 2004. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science & Technology* 15(7-8):330-347
- [9] Young, S. L., X. Sarda, and M. Rosenberg. 1993. Microencapsulating Properties of Whey Proteins. 1. Microencapsulation of Anhydrous Milk Fat. *Journal of Dairy Science* 76(10):2868-2877.
- [10] Yeo Y, Bellas. E. (2005). Yeo Y, Bella E, Firestone W, L. Complex coacervates for thermally sensitivity controlled release of flavor compounds. *Agr Food Chem*, 7518-7525
- [11] Tamjidi, F., A. Nasirpour, and M. Shahedi. (2012). Physicochemical and sensory properties of yogurt enriched with microencapsulated fish oil. *Food Sci Technol*, 381-390.
- [12] Shantha, N., and E. Decker. (1994). Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *US National Library of Medicine National Institutes of Health*, 421-4.
- [13] Patrick, K. E., S. L, Y. Abbas, I. S. Ntsama and X. Zhang. (2013).

Effect of cryoprotectant, transglutaminase enzyme and homogenizer rate on microencapsulation flaxseed oil by complex coaservation

Ghorbanpour, A.^{1*}, Nasirpour, A.², Goli, S. A. H.², Tayebi, M¹

1. M.Sc. graduated, College of Agriculture, Isfahan University of Technology

2. Assistant Professor of Food Science and Technology, College of Agriculture, Isfahan University of Technology

(Received: 2015/05/28 Accepted: 2016/01/02)

Epidemiological investigations show that long chain (LC) ω_3 PUFAs have beneficial effects on health and prevention and therapy of many diseases, especially cardiovascular types. Due to high oxidation susceptibility and undesirable aroma of these fatty acids, enrichment of foods with those sources, has an unfavorable effect on sensory properties. It has been shown that microencapsulation, protects these components from oxidation. In this study, that contain flaxseed oil contained 57% LC ω_3 PUFAs was microencapsulated using complex coaservation technique. A RSM design based on three factors (homogenizer rate, lactose presentages) in present and absent of transglutaminase was used to determine optimum condition to achieve maximum value of microencapsulation efficiency (ME). optimum condition regarding maximum Me was homogenizer rate 10000, 2% lactose and present transglutaminase. Formed Microcapsules had an encapsulation efficiency of 95% and showed a protective effect against the production primary and final oxidative products compared to nonencapsulated oil during 21 days of at room temperature storage.

Key word: Complex coaservation, Flaxseed, Microcapsulation, Omega3, Transglutaminase

* Corresponding Author E-Mail Address: a.ghorbanpor@ag.iut.ac.ir