

# مدل‌سازی روند رهایش لیمونن از نانوساختار آمیلوز در سامانه شبیه‌سازی‌شده‌ی گوارشی با استفاده از سامانه استنتاج فازی - عصبی (ANFIS)

محمد گنجه<sup>۱</sup>، سید مهدی جعفری<sup>۲\*</sup>، یحیی مقصودلو<sup>۲</sup>، علی محمد تمدن<sup>۳</sup>،  
مهرداد نیاکوثری<sup>۴</sup>

۱- دانش آموخته دکترای مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- استاد دانشکده صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۳- دانشیار دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شیراز

۴- استاد بخش صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

(تاریخ دریافت: ۹۶/۰۴/۰۴ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۵/۲۲)

## چکیده

نانوریزپوشانی ترکیبات دارای ارزش تغذیه‌ای و تکنولوژیکی و رهایش هدفمند آنها در مکان و زمان مناسب در درون محصول غذایی و یا شرایط گوارشی یکی از مباحث مهم در زمینه‌ی تولید محصولات غذایی فراسودمند و همچنین در رسانش مواد زیست‌فعال با استفاده از مواد غذایی بوده است. با توجه به پیچیدگی‌های سامانه‌های غذایی و گوارشی، تعیین روشی برای ارزیابی و پیش‌بینی میزان رهایش ماده‌ی زیست‌فعال ریزپوشانی شده در محل و زمان مورد نظر از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این پژوهش با استفاده از روند رهایش لیمونن از نانوساختارهای آمیلوز در شرایط دستگاه گوارش مورد بررسی قرار گرفته و سپس با استفاده از سامانه استنتاج فازی-عصبی تطبیقی (ANFIS) به مدل‌سازی روند رهایش لیمونن پرداخته شد. در طراحی این مدل، پارامترهای غلظت لیمونن، غلظت آمیلوز، زمان اعمال تنش فراصوت و زمان گرماخانه‌گذاری در شرایط شبیه‌سازی‌شده‌ی روده به عنوان ورودی و میزان رهایش بعنوان خروجی در نظر گرفته شد و برای بهینه‌سازی مدل از انواع و تعداد مختلف توابع عضویت و سیکل‌های یادگیری متعددی به شکل آزمون و خطا استفاده شد. با بررسی مدل‌های مختلف، مدل شامل تابع عضویت مثلثی با ۴ تابع برای هر یک از ورودی‌های به عنوان مدل بهینه انتخاب شد. ضریب همبستگی بالای ۰/۹۹ و مقدار میانگین مربعات خطای حدود ۰/۴۵ در مدل بهینه، بیانگر دقت قابل قبول این روش در پایش میزان رهایش در شرایط گوارشی می‌باشد. با توجه به سهولت، سادگی و دقت قابل قبول این مدل‌های هوشمند می‌توان آن‌ها را راهکاری مناسب برای ارزیابی رهایش کنترل شده در فرایندهای غذایی و گوارشی عنوان کرد.

کلید واژگان: نانوریزپوشانی، رهایش، مدل‌سازی، سامانه استنتاج فازی-عصبی تطبیقی

\*مسئول مکاتبات: smjafari@gau.ac.ir

## ۱- مقدمه

با توجه به اهمیت تغذیه‌ای و تکنولوژیکی ترکیبات ارزشمند غذایی و دارویی و مواد معطره، و از طرفی حساسیت اکثر این مواد به عوامل محیطی و فرایندی، استفاده از راهکاری برای محافظت از آنها در سامانه‌های غذایی از چالش‌های مهم در صنعت غذا می‌باشد [۱]. تکنیکی که در دهه‌های اخیر برای غلبه بر این مشکل پیشنهاد شده است، پوشش داده این مواد حساس با استفاده از مواد دیواره‌ای تحت عنوان ریزپوشانی است. ریزپوشانی فرآیندی است که در آن ذرات کوچک مواد جامد، مایع یا گاز به وسیله لایه نازکی احاطه و خشک می‌شوند. ترکیبات دیواره می‌توانند محتویات خود را در زمان مشخص و تحت شرایط ویژه به مقدار مورد نیاز آزاد نمایند [۲]. در صنعت غذا، طیف گسترده‌ای از مواد مانند ترکیبات مولد عطر و طعم، رنگدانه‌ها، ویتامین‌ها، آنزیم‌ها، مواد معدنی، اسیدهای چرب و مواد شیرین‌کننده را می‌توان ریزپوشانی کرد [۳]. کربوهیدرات‌ها (نشاسته‌های هیدرولیز شده و اصلاح شده، مشتقات سلولز و سیکلودکسترین‌ها)، پروتئین‌ها (پروتئین‌های آب پنیر، کازئینات‌ها و ژلاتین) و صمغ‌ها (صمغ عربی، آگار، سدیم آلزینات، کاراگینان) از جمله مهم‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده دیواره در مواد ریزپوشانی شده غذایی می‌باشند [۴].

در گذشته ریزپوشانی بیشتر برای پوشاندن طعم نامطلوب برخی از ترکیبات و یا تبدیل مواد مایع به جامد جهت تسهیل حمل و نقل و نگهداری استفاده می‌شد اما در سال‌های اخیر رهایش کنترل شده اجزای ریزپوشانی شده در مکان یا زمان مورد نظر هدف بیشتر محققین در این زمینه بوده است [۵]. از جمله عواملی که میزان رهایش را تحت تاثیر قرار می‌دهند می‌توان به فرمولاسیون استفاده شده برای تهیه ماده‌ی ریزپوشانی شده، ماده-ی دیواره و غلظت آن و همچنین شرایط دمایی و حضور یا عدم حضور آنزیم‌ها اشاره کرد [۶]. با این وجود همواره در ترکیب محصولات غذایی و همچنین محیط‌هایی که برای رهایش ماده‌ی

زیست فعال ریزپوشانی شده مدنظر است (مانند دستگاه گوارش یا فرمولاسیون ماده غذایی)، عوامل متعددی وجود دارند که روند رهایش ماده‌ی ریزپوشانی شده را تحت تاثیر قرار می‌دهند. در بیشتر موارد آگاهی از مجموع عوامل تاثیرگذار بر ماده‌ی ریزپوشانی شده در سیستم مورد نظر برای رهایش غیرممکن است. با توجه به اهمیتی که امکان پیش‌بینی مقدار و زمان رهایش ماده‌ی ریزپوشانی شده در مکان هدف دارد، استفاده از روشی برای مدل‌سازی و پیش‌بینی روند رهایش که وابستگی زیادی به عوامل موثر در فرایند نداشته باشد و با اعمال نتایج محدود آزمایشگاهی بتواند آموزش‌های لازم برای دستیابی به مدلی با دقت قابل قبول را فراهم آورد، ضروری به نظر می‌رسد.

مدل‌های تجربی تعریف شده برای پیش‌بینی و مدل‌سازی روند رهایش، معمولاً در شرایط آزمایشگاهی خاص و با در نظر گرفتن عوامل مشخص تعریف می‌شوند و دقت قابل قبول برای پیش‌بینی رهایش در سیستم‌های پیچیده‌ی غذایی را ندارند [۷]. این مدل‌های تجربی، معمولاً با ثابت فرض کردن ضرایب انتشار و ساده‌سازی به دست می‌آیند [۸]. بر همین اساس و با توجه به پیچیدگی و تعدد عوامل تاثیرگذار در سامانه‌های غذایی و گوارشی و عدم توانایی روش‌های معمول در تجزیه و تحلیل این روابط، استفاده از تکنیک‌های مدرن مانند شبکه‌های عصبی و منطق‌فازی و همچنین روش‌های ترکیبی آن‌ها مانند سامانه استنتاج فازی عصبی تطبیقی ۱ (ANFIS) مورد توجه قرار گرفته است [۷]. سامانه استنتاج فازی عصبی تطبیقی قابلیت ایجاد نگاشت ۲ ورودی - خروجی بر اساس اطلاعات محدود آزمایشگاهی بدست آمده را دارد و این اطلاعات را به شکل قوانین اگر آنگاه فازی، برای آموزش شبکه‌های عصبی و ایجاد سامانه‌ای هوشمند با حداکثر دقت بکار می‌گیرد [۹، ۱۰]. پارامترهای شبکه شامل توابع عضویت فازی و پارامترهای وزن شبکه‌های عصبی هستند که طی مرحله آموزش، طوری تنظیم

1. Adaptive neuro fuzzy inference system
2. Mapping

تهیه شدند. نمک‌های پتاسیم کلرید، هیدروکسید سدیم، پتاسیم-دی‌هیدروژن فسفات و هیدروکسید پتاسیم و همچنین اسید کلریدریک از شرکت مرک آلمان خریداری شدند. در تمام مراحل نیز از آب دویار تقطیر استفاده گردید.

## ۲-۲- تهیه نانوذرات آمیلوز حاوی لیمون

جهت تهیه نانوذرات آمیلوز حاوی لیمون محلول ۰/۱ مولار هیدروکسید پتاسیم در آب دیونیزه تهیه شده و سپس نشاسته ذرت آمیلوز بالا در نسبت‌های ۲ و ۴ درصد به آن افزوده گردید و ضمن هم‌زدن مداوم به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. سپس روغن پوست پرتقال به میزان ۵ و ۱۰ درصد نسبت به میزان نشاسته ذرت آمیلوز بالا استفاده شده به سوسپانسیون حاصل افزوده گردید و به مدت ۱ دقیقه هم‌زدن ادامه یافت. سوسپانسیون اولیه حاصل با استفاده از سیستم فراصوت (مدل UP100، شرکت هشر، کشور آلمان) با توان ۱۰۰ وات و فرکانس ۳۰ کیلوهرتز در مدت‌زمان‌های ۹ یا ۱۸ دقیقه مورد فرایند قرار گرفته و نانوذرات آمیلوز حاوی لیمون تهیه گردید [۱۵]. نسبت‌های مربوط به درصد نشاسته و لیمون و همچنین زمان اعمال تنش فراصوت پس از مراحل متعدد آزمون و خطا برای دستیابی به ذراتی در اندازه نانو با حداکثر راندمان انتخاب گردیدند. بر این اساس فرمولاسیون‌های تعریف‌شده شامل ۸ تیمار مختلف بود که به شرح جدول ۱ می‌باشد. نانوامولسیون‌های به‌دست‌آمده در این مرحله با استفاده از خشک‌کن انجمادی (مدل دنا وکیوم-ساخت ایران) به پودرهای سفید و یکدستی تبدیل شدند. طبق آنالیزهای انجام شده بر روی نانوذرات تولیدی اندازه ذرات کمتر از ۵۰ نانومتر و کارایی کپسولاسیون و کارایی بارگیری به ترتیب ۲۸-۸۵ و ۱/۶۳-۰/۳۸ درصد داشتند. با توجه به این که در این پژوهش از روغن پوست پرتقال استفاده می‌شد، ابتدا باید میزان ماده موثره آن (لیمون) تعیین می‌شد که بدین منظور از دستگاه GC-FID (مدل ۳۴۲۰A شرکت BIEFEN، کشور آلمان) استفاده شد و بر اساس نتایج به‌دست‌آمده بیش از ۹۲ درصد نمونه استفاده شده از دی‌لیمون تشکیل شده بود.

می‌شوند که میانگین مجذور مربعات خطا بین خروجی مدل و خروجی واقعی حداقل شود [۱۱]. مدل انفیس توسط محققینی مانند [۱۲] و [۱۳] به عنوان روش مناسبی برای مدل‌سازی سیستم‌های غیر خطی معرفی شده‌اند. در این روش در طی آموزش پارامترها به صورت خودکار بهینه می‌شوند از این رو توابع عضویت، روابط غیر خطی را با کارایی بالا مدل کنند [۱۴]. جزئیات ساختار و روش یادگیری انفیس توسط محققین زیادی [۹] و [۱۰] بررسی و بحث شده است. از روش انفیس برای مدل‌سازی روند رهایش بتاکاروتن از ماده‌ی دیواره‌ی کاراگینان/NaCMS استفاده شده است [۷]. نتایج بدست آمده با این مدل، همبستگی بسیار مناسبی را با مقادیر آزمایشگاهی نشان دادند و روش انفیس راهکاری با دقت بالا، ساده و سریع برای مدل‌سازی فرایندهایی که به رهایش کنترل‌شده نیاز می‌باشد، معرفی گردید [۷].

در این پژوهش با استفاده از سامانه استنتاج فازی عصبی تطبیقی به مدل‌سازی روند رهایش لیمون از نانو ساختار آمیلوز در شرایط شبیه‌سازی‌شده‌ی گوارشی پرداخته می‌شود. با توجه به کمبود مطالعات صورت گرفته در این حوزه و نیازی که برای ورود به اینگونه تکنیک‌های هوشمند در این زمینه که متاثر از عوامل متعدد است و با مدل‌های تجربی چندان نمیتوان نگاهت دقیقی از سامانه داشت، این پژوهش می‌تواند الگو و آغازی برای مطالعات بیشتر در زمینه کاربرد هوش مصنوعی در رهایش کنترل شده محسوب شود.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد شیمیایی و ترکیبات مصرفی

نشاسته ذرت آمیلوز بالا<sup>۳</sup> (HACS) با ۷۰ درصد آمیلوز و آنزیم پانکراتین از شرکت سیگما آلدریج (St. Louis, MO, USA) و روغن پوست پرتقال از شرکت کنسانتره مرکبات رامسر ایران

3. High Amylose Corn Starch

**Table 1** Encapsulation treatments with 100 W ultrasound

HACS concentration (%)	4	4	4	4	2	2	2	2
Limonene concentration (%)	10	10	5	5	10	10	5	5
Ultrasound time (min)	18	9	18	9	18	9	18	9

سیستم با ۳ میلی لیتر بافر شبیه سازی شده ی روده ای تازه جایگزین می گردید. بافرهای منتقل شده به خشک کن انجمادی در محلول هگزان حل شدند و بعد از همزدن و سانتیفیوژ شدن میزان لیمونن آزاد شده با استفاده از اسپکتروفوتومتر در طول موج ۲۵۲ نانومتر تعیین می گردید [۱۷].

#### ۲-۴- مدل سازی به روش انفیس

در آموزش ساختار انفیس از روش هیبرید که ترکیب روش حداقل مربعات و روش پس انتشار می باشد استفاده شده و حد خطا که برای ایجاد یک معیار توقف آموزش مورد استفاده قرار می گیرد بر روی صفر تنظیم گردید. برای بهینه سازی مدل از انواع و تعداد متفاوتی تابع عضویت استفاده شد تا تعداد و نوع بهینه آن مشخص شود [۱۴]. غلظت آمیلوز، غلظت لیمونن، زمان اعمال تیمار فراصوت و زمان گرمخانه گذاری در شرایط شبیه سازی- شده ی روده ای به عنوان ۴ ورودی و میزان رهائش لیمونن به عنوان خروجی در مدل انفیس مشخص گردید. از سیستم استنتاج فازی نوع سوگنو استفاده شد و جهت یافتن مدل بهینه، توابع عضویت مثلثی، دوزنقه ای و گوسی با ۲، ۳ و ۴ تابع عضویت برای هر ورودی مورد بررسی قرار گرفته و کارایی مدل های به دست آمده به وسیله مقادیر ضریب همبستگی ( $R^2$ ) و میانگین مجذور مربع خطا (MSR) که به ترتیب با استفاده از روابط ۱ و ۲ تعیین می شوند، ارزیابی گردیدند.

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^N (X_{pi} - X_{ei})^2}{\sum_{i=1}^N (X_{pi} - \bar{X})^2}$$

$$MSE = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (X_{pi} - X_{ei})^2$$

در این معادلات  $X_{pi}$  متغیر پیش بینی شده توسط شبکه  $X_{ei}$  مقدار واقعی حاصل از انجام آزمایشات و  $\bar{X}$  میانگین مقادیر آزمایشگاهی و  $N$  تعداد کل مشاهدات است.

#### ۲-۳- بررسی روند رهائش لیمونن از نانوذرات

##### آمیلوز در شرایط آزمایشگاهی (in vitro)

به منظور بررسی روند رهائش لیمونن از درون نانوذرات آمیلوز در شرایط گوارشی از محلول های شبیه سازی شده ی روده و معده استفاده شد. برای تهیه ی محلول شبیه سازی شده ی معده  $(SGF)^4$ ، ۲ گرم پتاسیم کلرید در ۷ میلی لیتر اسید هیدروکلرید حل شد و با آب مقطر pH آن حدود  $1.2 \pm 0.5$  تنظیم شد [۱۶]. برای تهیه محیط شبیه سازی شده ی روده<sup>۵</sup> از محلول هیدروکسید سدیم (۱۹۰ میلی لیتر) استفاده شد و بعد از افزودن ۶/۸ گرم پتاسیم دی هیدروژن فسفات به آن، ۵ میکرو لیتر از آنزیم پانکراتین اضافه شد و pH محلول روی  $7.4 \pm 0.1$  تنظیم گردید [11]. جهت بررسی روند رهائش، ۵ میلی لیتر از نانوحامل های تولید شده حاوی لیمونن در درون کیسه دیالیز (۱۲۰۰۰ دالتون ساخت شرکت سیگما الدریچ) قرار گرفته و در درون محلول شبیه سازی- شده ی روده و معده غوطه ور گردید. به منظور ارزیابی میزان رهائش در شرایط معده ای، ۲۵ میلی لیتر از بافر شبیه سازی شده ی معده به همراه کیسه دیالیز حاوی نانو ذرات به مدت ۲ ساعت در دمای  $37 \pm 1$  درجه سلسیوس گرمخانه گذاری گردید و سپس میزان اسپکتروفوتومتری (Model VIS-7220G/UV-9200Rayleigh) - کشور چین) اندازه گیری گردید.

به روش مشابه تعیین روند رهائش در شرایط روده با جایگزینی محلول شبیه سازی شده ی روده ای به جای محلول شبیه سازی شده- ی معده و غوطه ورسازی کیسه دیالیز حاوی نانوذرات به درون آن صورت گرفت. در مورد شرایط روده ای گرمخانه گذاری به مدت ۶ ساعت در دمای  $37 \pm 1$  درجه سلسیوس ادامه یافت و در فواصل زمانی ۱ ساعته ۳ میلی لیتر از محلول بافر برداشته شده و به خشک کن انجمادی منتقل می گردید. محلول برداشته شده از

4. Simulated gastric fluid  
5. Simulated intestinal fluid

## ۳- نتایج و بحث

## ۳-۱- تعیین مدل بهینه فازی-عصبی برای

## رهایش لیمونن از نانوذرات آمیلوز

جهت دستیابی به مدل بهینه‌ی مورد نظر برای ارزیابی و پیش-بینی میزان رهایش، با در نظر گرفتن ورودی‌های تعریف شده، میزان رهایش متناظر به هر یک از شرایط اعمالی غلظت لیمونن،

غلظت آمیلوز، زمان اعمال تیمار فراصوت و زمان گرماخانه-گذاری در شرایط شبیه‌سازی شده‌ی روده، برای مدل‌های مختلف مشخص گردید. با توجه به جدول ۲ و مقادیر ضریب همبستگی و میانگین مربعات خطای ارائه شده برای متغیر خروجی، نوع و تعداد توابع عضویت بهینه برای متغیرهای ورودی تعیین شد. بدین ترتیب تابع عضویت مثلثی با ۴ تابع عضویت برای هر یک از ورودی‌ها (۴ ۴ ۴ ۴) به عنوان مدل بهینه انتخاب گردید.

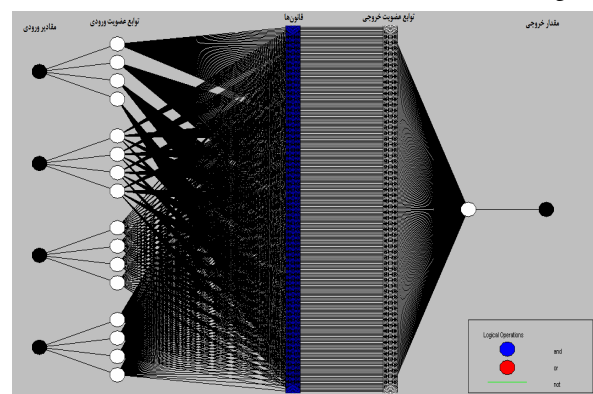
**Table 2** The comparison of type and number of membership functions of input variables on the prediction accuracy of limonene release from nanoparticles

The type of membership functions of input variables	The number of membership functions of input variables	R <sup>2</sup>	MSE
Triangular	2 2 2 2	0.986	0.75
Trapezoidal	2 2 2 2	0.965	1.81
Gaussian	2 2 2 2	0.968	1.02
Triangular	3 3 3 3	0.956	0.92
Trapezoidal	3 3 3 3	0.978	1.83
Gaussian	3 3 3 3	0.995	0.92
Triangular	4 4 4 4	0.998	0.45
Trapezoidal	4 4 4 4	0.939	0.82
Gaussian	4 4 4 4	0.945	0.79

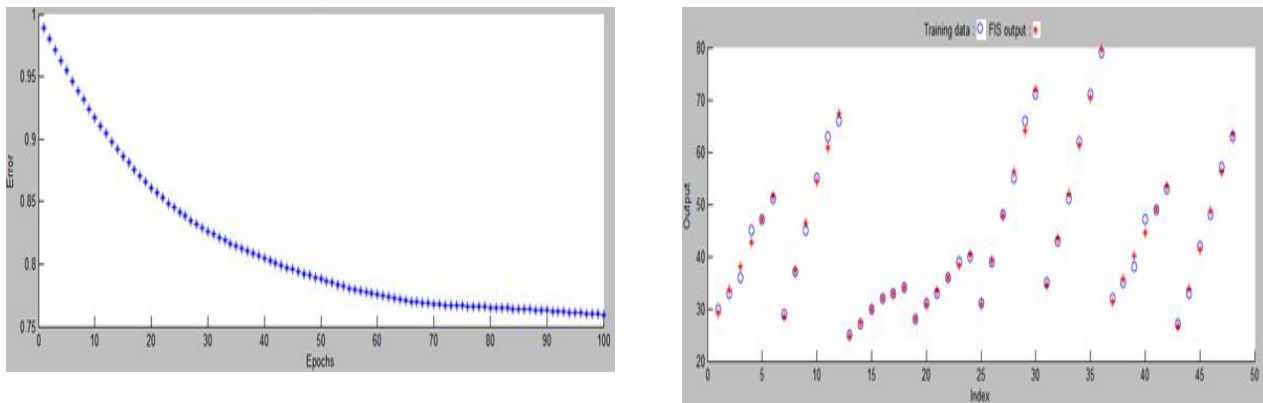
در شکل ۲ نیز مقایسه‌ی مقادیر آزمایشگاهی با مقادیر خروجی مدل بهینه و همچنین مقدار خطای مدل بهینه نشان داده شده است.

همانطور که در این نمودارها مشخص است همبستگی مناسبی بین داده‌های خروجی مدل بهینه و مقادیر آزمایشگاهی وجود دارد و این امر بیانگر دقت مناسب مدل ایجاد شده برای پیش‌بینی و مدل‌سازی رهایش لیمونن از نانوساختار آمیلوز می‌باشد. در جدول ۳ اطلاعات کامل، شامل تعداد توابع عضویت برای هر ورودی، تعداد قوانین، تعداد دوره‌های آموزش و نوع توابع عضویت ورودی و خروجی و جزئیات دیگر لیست شده است.

براساس نتایج بدست آمده، اغلب مدل‌ها از دقت تخمین مناسبی جهت پیش‌بینی خروجی‌های مورد نظر برخوردار بودند. ساختار نهایی مدل بهینه استنتاج فازی عصبی تطبیقی انتخاب شده در شکل ۱ آورده شده است.



**Fig 1** Structure of ANFIS model sample with 4 inputs and 4 membership functions for each input



**Fig 2** Comparison of the obtained experimental data and predicted values by ANFIS model (a) and errors (b) for selected ANFIS model

**Table 3** Selected ANFIS optimized model parameters

Intended parameter	Type or value of parameter
Number of membership functions for amylose concentration	4
Number of membership functions for ultrasound tension time	4
Number of membership functions for limonene concentration	4
Number of membership functions for incubation time	4
Type of inputs membership function	Triangular
Rules number	256
Type of output membership function	Linear
Defuzzification method	Wtaver
Aggregation method	Sum
Number of nodes	551
Number of training periods	11
Number of linear parameters	256
Number of non-linear parameters	48
Total parameters	304

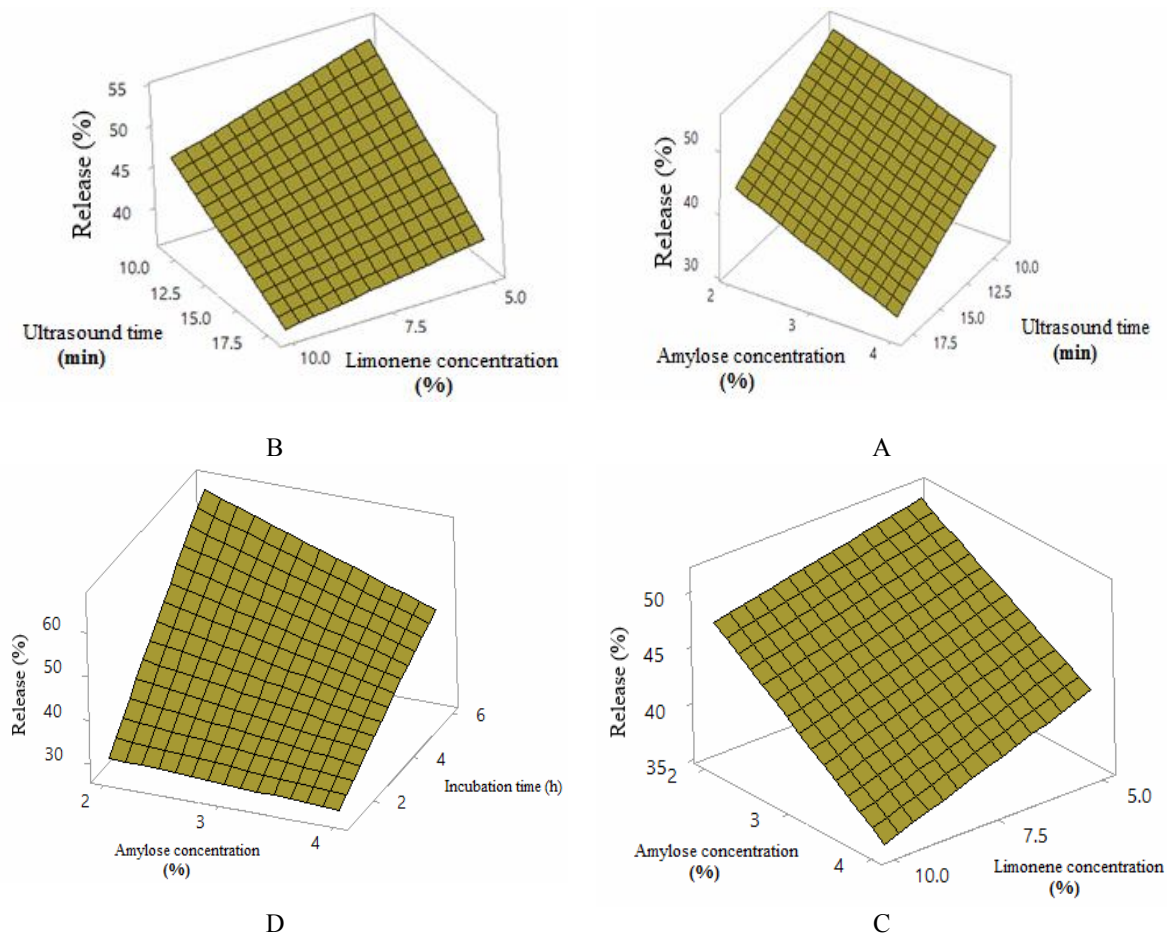
برای ارزیابی نوع و چگونگی تاثیر سه پارامتر ورودی (غلظت آمیلوز، غلظت لیمونن و زمان اعمال تیمار فراصوت) بر روند رهایش، از نمودارهای سه بعدی که به طور همزمان تاثیر دو

۲-۳- ارزیابی روند رهایش لیمونن از نانو ذرات آمیلوز در شرایط روده‌ای

باشد (شکل ۳ الف و ج)). با در نظر گرفتن اثر ترکیبی غلظت آمیلوز و زمان فراصوت، بالاترین میزان رهایش در کمترین غلظت آمیلوز و کمترین زمان اعمال تنش فراصوت رخ داده است (شکل ۳ الف). در شکل ۳ ب) تاثیر همزمان غلظت لیمونن و زمان اعمال تنش فراصوت بر میزان رهایش مورد بررسی قرار گرفته است. بیشترین میزان رهایش در حداقل غلظت لیمونن و حداقل زمان اعمال تنش فراصوت بوده است. افزایش غلظت لیمونن روند رهایش را کاهش داده است. همانگونه که شکل ۳ ب) مشخص است تاثیر غلظت لیمونن در مقایسه با غلظت زمان تنش مکانیکی کمتر است و کاهش رخ داده با شیب کمتر رخ داده است. این امر از مقادیر  $F$  گزارش شده در جدول ۴ نیز به وضوح مشخص است (مقادیر  $F$  برابر با  $97/21$  و  $466/43$  به ترتیب برای غلظت لیمونن و زمان اعمال تنش فراصوت). کاهش بودن افزایش غلظت لیمونن بر روند رهایش در شکل ۳ ج) نیز مشخص است. تاثیر غلظت لیمونن و آمیلوز بر میزان رهایش روندی تقریباً مشابه را داشته است و بالاترین میزان رهایش در حداقل غلظت آنها رخ داده است (شکل ۳ ج)). به نظر میرسد غلظت بالاتر این دو ماده امکان تشکیل کمپلکس درون ماریپیچی را نسب به کمپلکس بین ماریپیچی تشدید می‌کنند و این امر باعث حداقل شدن سرعت رهایش در بیشترین غلظت آنها می‌شود [۲۲].

زمان گرماخانه‌گذرای در شرایط شبیه‌سازی‌شده‌ی روده نیز به شدت بر روند رهایش اثر تشدید کننده دارد که کاملاً مطابق انتظار و در جدول ۴ ( $F$  برابر با  $1343/23$ ) نیز مشهود است. به دلیل تاثیر بسیار بالای زمان گرماخانه‌گذاری نسبت به سه متغیر دیگر (غلظت آمیلوز و لیمونن و زمان اعمال تنش فراصوت) به آوردن یکی از نمودارهای متقابل این فاکتور با غلظت آمیلوز اکتفا شده است و از ارائه نمودارهای متقابل زمان انکوباسیون با لیمونن و زمان اعمال تنش فراصوت صرف‌نظر شده است.

متغیر را بر پارامتر خروجی ارائه می‌دهد استفاده شد (شکل ۳). همانگونه که در شکل ۳ الف مشاهده می‌شود افزایش زمان فراصوت رهایش کمتر لیمونن ریزپوشانی شده را در پی داشته است. در واقع افزایش زمان فراصوت از ۹ به ۱۸ دقیقه باعث افزایش به هم پیوستگی نانوذرات تولیدی و بزرگتر شدن اندازه نانوذرات می‌گردد که این امر تاثیر آنزیم‌های پانکراتین و عوامل موثر دیگر بر رهایش را کاهش می‌دهد و رهایش کندتری را موجب می‌شود [۱۸]. از طرفی با افزایش اندازه، در اثر به هم فشردن ذرات با اندازه‌های کوچکتر، مولکول‌های لیمونن درگیر در بین ماریپیچ‌های آمیلوز که به راحتی امکان رهایش را داشتند نیز در درون این ذرات بزرگتر محبوس می‌شوند و این امر روند کندتر رهایش تیمارهای با تحمل بیشتر تنش فراصوت را تشدید می‌کند [۱۹]. افزایش غلظت آمیلوز نیز در روندی مشابه کاهش میزان رهایش را در پی داشته است (شکل ۳ الف). این روند کاهش را می‌توان به جایگاه به دام افتادن مولکول‌های لیمونن در ساختار آمیلوز مرتبط دانست. در واقع با افزایش غلظت آمیلوز تعداد محل‌های آبرگیز آماده‌ی به دام اندازی لیمونن افزایش می‌یابد و نسبت مولکول‌های به دام افتاده در درون ماریپیچ‌ها به آنهایی که بین حلقه‌های ماریپیچ‌ها به دام افتاده‌اند افزایش می‌یابد [۲۰]. این امر به معنی سخت‌تر شدن دسترسی و رهایش این مولکول‌های لیمونن می‌باشد که منجر به روند نزولی در سرعت رهایش می‌گردد [۲۱]. از طرفی با افزایش غلظت آمیلوز، نسبت گروه‌های هیدروکسیل یونیزه شده در سطح ماریپیچ‌های آنها نیز افزایش می‌یابد که این امر به مفهوم افزایش نیروهای رانشی الکترومغناطیسی با افزایش پتانسیل زتای سوسپانسیون است. افزایش این نیروهای الکترواستاتیکی نیز می‌تواند عاملی برای تشدید تشکیل کمپلکس‌های درون ماریپیچی آمیلوز-لیمونن نسبت به کمپلکس‌های بین زنجیره‌ای باشد، که همانگونه که ذکر شد می‌تواند اثر کاهش بر روند رهایش داشته



**Fig 3** Effects of ultrasound time and amylose concentration (A), ultrasound time and limonene concentration (B), limonene concentration and amylose concentration (C) and amylose concentration and incubation time (D) on release rate of limonene from amylose nanoparticles in SCF condition

**Table 4** Analysis of variance (ANOVA) for effect of independent variables on release of limonene from nanoparticles

	F	p
Amylose concentration	382.69	0.0005
Limonene concentration	97.21	0.0003
Ultrasound time	466.43	0.0009
Incubation time in SCF condition	1340.23	0.017

سامانه استنتاج فازی عصبی تطبیقی (انفیس) بررسی شده است. نتایج به دست آمده نشان داد که، سامانه انفیس ابزار مفیدی برای پیش‌بینی و یافتن نگاشت غیرخطی میان پارامترهای مورد نظر است. همه مدل‌ها کارایی خوبی با مقادیر  $R^2$  بیش از ۰/۹۳ داشته

#### ۴- نتیجه‌گیری

در این پژوهش، امکان پیش‌بینی میزان ره‌ایش لیمونن از نانوذرات آمیلوز در شرایط شبیه‌سازی شده‌ی روده‌ای با استفاده از



- characterization. *Food and Bioproducts Processing*, 96, 264-277.
- [7] Hezaveh, H., Muhamad, I. I., Noshadi, I., Shu Fen, L., & Ngadi, N. (2012). Swelling behaviour and controlled drug release from cross-linked  $\kappa$ -carrageenan/NaCMC hydrogel by diffusion mechanism. *Journal of microencapsulation*, 29(4), 368-379.
- [8] Amsden, B. (1998). Solute diffusion within hydrogels. Mechanisms and models. *Macromolecules*, 31(23), 8382-8395.
- [9] Jang, J.-S. (1993). ANFIS: adaptive-network-based fuzzy inference system. *IEEE transactions on systems, man, and cybernetics*, 23(3), 665-685.
- [10] Akcayol, M. A. (2004). Application of adaptive neuro-fuzzy controller for SRM. *Advances in Engineering software*, 35(3), 129-137.
- [11] Jain, S. K., Jain, A., Gupta, Y., & Ahirwar, M. (2007). Design and development of hydrogel beads for targeted drug delivery to the colon. *AAPS PharmSciTech*, 8(3), E34-E41.
- [12] Buragohain, M., & Mahanta, C. (2008). A novel approach for ANFIS modelling based on full factorial design. *Applied Soft Computing*, 8(1), 609-625.
- [13] Consenza, B., & Galluzzo, M. (2009). Development of a predictive type-2 neurofuzzy controller. *Chemical Engineering Transactions*, 17, 1203-1208.
- [14] Farzaneh, V., Bakhshabadi, H., Gharekhani, M., Ganje, M., Farzaneh, F., Rashidzadeh, S., & Carvalho, I. S. (2017). Application of an adaptive neuro\_fuzzy inference system (ANFIS) in the modeling of rapeseeds' oil extraction. *Journal of Food Process Engineering*.
- [15] Lesmes, U., Barchechath, J., & Shimoni, E. (2008). Continuous dual feed homogenization for the production of starch inclusion complexes for controlled release of nutrients. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(4), 507-515.
- [16] Tan, C., Zhang, Y., Abbas, S., Feng, B., Zhang, X., & Xia, S. (2014). Modulation of the carotenoid bioaccessibility through liposomal encapsulation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 123, 692-700.
- و دارای میانگین مجذور مربع خطای مطلوبی بودند (۱/۸۳-۰/۴۵). همچنین مطالعه تاثیر متغیرهای مورد نظر بر روی میزان رهایش در شرایط روده‌ای نیز بیانگر اهمیت توجه به نحوه تولید نانوذرات بود. افزایش زمان اعمال تیمار فراصوت باعث افزایش به هم پیوستن نانوذرات تولیدی و پوشاندن مولکول‌های لیمونن به دام افتاده در سطح می‌گردد، که این امر دسترسی انزیم‌های گوارشی به آنها را محدودتر کرده و رهایش کندتری را باعث می‌شود. از طرفی بیشترین میزان رهایش در کمترین غلظت لیمونن و آمیلوز رخ داده است که میتواند بیانگر تشکیل کمتر پیوندهای درون ماریچی بین این دو ترکیب باشد. با توجه به پیچیدگی و تعدد عوامل تاثیر گذرا بر روند رهایش در شرایط گوارشی، استفاده از این تکنیک‌های مدرن در این حوزه می‌تواند بسیار اثر بخش باشد و نه تنها برای ارزیابی رهایش گوارشی بلکه با مطالعات بیشتر در تعیین میزان رهایش در محصولات غذایی مختلف در شرایط انبارمانی و یا توزیع نیز مورد استفاده قرار گیرد.

## ۵- منابع

- [1] Ezhilarasi, P., Karthik, P., Chhanwal, N., & Anandharamakrishnan, C. (2013). Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 6(3), 628-647.
- [2] Jafari, S. M., Assadpoor, E., Bhandari, B., & He, Y. (2008). Nano-particle encapsulation of fish oil by spray drying. *Food Research International*, 41(2), 172-183.
- [3] Baldwin, E. A., Hagenmaier, R., & Bai, J. (2011). *Edible coatings and films to improve food quality*: CRC Press.
- [4] Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y., & Bhandari, B. (2008). Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. *Drying Technology*, 26(7), 816-835.
- [5] Lakkis, J. M. (2008). *Encapsulation and controlled release technologies in food systems*: John Wiley & Sons.
- [6] Hasanvand, E., Fathi, M., Bassiri, A., Javanmard, M., & Abbaszadeh, R. (2015). Novel starch based nanocarrier for vitamin D fortification of milk: Production and

- [20] Conde-Petit, B., Escher, F., & Nuessli, J. (2006). Structural features of starch-flavor complexation in food model systems. *Trends in food science & technology*, 17(5), 227-235.
- [21] Andrieux, K., Forte, L., Lesieur, S., Paternostre, M., Ollivon, M., & Grabielle-Madlmont, C. (2009). Solubilisation of dipalmitoylphosphatidylcholine bilayers by sodium taurocholate: a model to study the stability of liposomes in the gastrointestinal tract and their mechanism of interaction with a model bile salt. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 71(2), 346-355.
- [22] Immel, S., & Lichtenthaler, F. W. (2000). The hydrophobic topographies of amylose and its blue iodine. *Flexible and Rigid Non-glucose Cyclooligosaccharides: Synthesis, Structure, and Properties*, 52(1), 27.
- [17] Singh, S., & Muthu, M. S. (2007). Preparation and characterization of nanoparticles containing an atypical antipsychotic agent. *Nanomedicine*, 2(2), 233-240.
- [18] Bigucci, F., Luppi, B., Cerchiara, T., Sorrenti, M., Bettinetti, G., Rodriguez, L., & Zecchi, V. (2008). Chitosan/pectin polyelectrolyte complexes: selection of suitable preparative conditions for colon-specific delivery of vancomycin. *European journal of pharmaceutical sciences*, 35(5), 435-441.
- [19] Englyst, H. N., Kingman, S., & Cummings, J. (1992). Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European journal of clinical nutrition*, 46, S33-50.

## Modeling the release behavior of limonene from the amylose nanostructures within the simulated digestive system by using adaptive-network-based fuzzy inference system (ANFIS)

Ganjeh, M. <sup>1</sup>, Jafari, S. M. <sup>2\*</sup>, Maghsoudlo, Y. <sup>2</sup>, Tamadon, A. M. <sup>3</sup>, Niakosari, M. <sup>4</sup>

1. Ph.D. Graduate of Food Materials and Process Design Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
2. Professor, Faculty of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
3. Associate Professor, Faculty of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences
4. Professor, Department of Food Science, Agriculture College of Shiraz University

(Received: 2017/06/25 Accepted: 2017/08/13)

The nanoencapsulation and targeted delivery of nutritional ingredients in the right location and appropriate time within the digestive tract is one of the key elements in fabricating functional food products and to deliver the bioactive components incorporated in these foodstuff. With respect to the complexities of the food network and the gastrointestinal system, it seems necessary to determine a method in order to evaluate and predict the release level of the wrapped bioactive component in the desired location and time. In this study, the release behavior of limonene from amylose nanostructures were examined considering the circumstances of the digestive system and next the adaptive-network-based fuzzy inference system was used to model the release behavior of limonene. In the design of this model, limonene concentration, amylose concentration, the time of the execution of ultrasonic stress plus the incubation time were considered as the input parameters in the circumstances of the simulated small intestine. Also, the release level was chosen as the output parameter and in order to optimize the models several membership functions together with numerous learning cycles were implemented in the form of shooting method. By the evaluation of different models, triangular membership function with 4 functions for each of the inputs was selected as the optimum model. The high value of the coefficient of determination (0.99) plus the mean square error of 0.45 in the optimized model implies the acceptable accuracy of this method to monitor the release level in the digestive circumstances. With respect to the simplicity and the acceptable accuracy of these intelligent models, they can be suggested as appropriate solutions to evaluate the controlled release behavior within the food network and the digestive system as well.

**Key words:** Nanoencapsulation, Release, Modeling, Adaptive neuro-fuzzy inference system.

---

\* Corresponding Author Email Address: smjafari@gau.ac.ir