ریز پوشانی عصاره رنگدانه ای جلبک دریایی.Sargassum sp با هدف بهبود پایداری و تقویت اثر آنتی‌اکسیدانی آن بر روغن ماهی

نازنین صادقی[۱]، سید مهدی اجاق[۲*]، بهاره شعبانپور[۳]، شیرین حسنی[۴]

۱- دانش آموخته کارشناس ارشد فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲- دانشیارگروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشکاه تربیت مدرس، نور
۳- استادگروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
٤- دانش آموخته دکتری فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ دریافت: ۹۶ /۱۰/۰۸ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۱/۱۹)

چکیده

در این تحقیق، ابتدا باهدفشناسایی اولیه ترکیبات عصاره جلبک دریایی سارگاسوم، (*Sargassum* sp.)، شاخص‌هایی مثل میزان ترکیبات کاروتنوئیدی، فنلی و فلاونوئیدی کل به روش اسپکتروفتومتری اندازه گیری شدند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک استخراج شده نیز باآزمونمهارراديکال‌هایآزاد (DPPH) مورد بررسی قرار گرفت.سپس ریز پوشانی عصاره جلبک با پوشش‌های مرکب از مالتودکسترین (M) و کنسانتره آب پنیر (WPC) توسط خشک‌کن انجمادی انجام گرفته و تأثیر این فرآیند بر بهبود پایداری عصاره‌ها و متعقبا بهبود فعالیت آنتی اکسیدانی آنهابر روغن ماهی بااندازه‌گیریدوشاخص پراکسید و پارا آنیزیدین طی ۱۵ روز نگهداری ارزیابی گردید. ارزیابی‌ها حاکی از وجود مقادیر متوسط ۰/۳۲ mg/g، ۸٤/۱۹ mg GA/Eg و mg ٤/۰۳ GA/Eg به ترتیب از ترکیبات کاروتنوئیدی، فنل و فلاوونوئید در عصاره بود. همچنین طبق نتایج، امولسیون تهیه شده از مخلوط عصاره جلبکی و WPC+M کاملاً پایدار بوده و میزان ویسکوزیته و اندازه ذرات آن به ترتیب در حدود٦٧٠ ± ٤ MPa.s و٦٢/٤١ ± ٥٦٥/٣٠ nm محاسبه گردید. طی دوره ۱۵ روز نگهداری، روغن ماهی غنی‌شده باعصاره جلبک ریزپوشانی شده و TBHQ کمترین مقادیر پراکسید و پاراآنیزیدین را نشان دادند. بیشترین سطوح شاخص‌های اکسیداسیونی نیز به ترتیب در تیمارهای روغن ماهی و عصاره جلبکی خالصمشاهده گردید. نتایج این مطالعه به خوبی نشان داد ریزپوشانی عصاره جلبک سارگاسوم با دیواره‌ای از WPC+M در بهبود پایداری ویژگی آنتی اکسیدانی آن موثر است.

کلید واژگان: جلبک سارگاسوم، ریزپوشانی، خشک‌کن انجمادی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

*مسئول مکاتبات: mahdi_ojagh@yahoo.com

۱- مقدمه

روغن ماهی کیلکا، منبعی غنی از اسیدهای چرب امگا-۳، ایکوزاپنتانوئیک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید می‌باشد که دارای خواص غذایی-دارویی متعددی ضدسرطانی، کاهش دهنده بیماری‌های قلبی عروقی، جلوگیری از پوکی استخوان و اختلالات عصبی می‌باشد [۱]. اسیدهای چرب غیر اشباع همچنین برای رشد سلول‌ها، سوخت‌وساز بدن و افزایش مقاومت در برابر استرس و تنظیم بیان ژن‌ها مهم هستند [۲] اما، با وجود مزایای ذکر شده، غیر اشباعیت این ترکیبات باعث حساسیت بالای آنها به اکسیداسیون شده و به تبع آن با تغییر طعم، و کاهش کیفیت و ماندگاری همراه است [۳]. اکسیداسیون لیپیدها علاوه بر ایجاد فساد اکسیداتیو در مواد غذایی و کاهش ارزش تغذیه¬ای محصول، باعث بروز بیماری‌ها مختلفی همچون سرطان، بیماری‌های قلبی-عروقی، تصلب شرایین و پیری می‌گردد. آنتی اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که با جذب رادیکال‌های آزاد مانع از تغییر رنگ، بو و تند شدن چربی‌ها می‌شود و نقش مهمی در جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها دارند [٤]. به این منظور آنتی اکسیدان‌های سنتزی بسیاری مانند بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA)، بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) و بوتیل هیدروکینون (TBHQ) به صورت تجاری مورد استفاده قرار می‌گیرند؛ اما با توجه به روشن شدن اثرات مضر ترکیبات شیمیایی سنتزی و گرایش مردم به سمت مواد غذایی طبیعی، یافتن آنتی اکسیدان‌های طبیعی جایگزین، بسیار مورد توجه محققین قرار گرفته است [٥]. لذا استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی جهت افزایش ماندگاری مواد غذایی ارزشمند اما حساس به اکسیداسیون و افزایش امنیت غذایی جامعه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. درسال_های اخیر ترکیبات آنتی اکسیدانی گیاهی مانند ترکیبات فنولی و ویتامین‌ها به دلیل اثرات سودمند فراوان بر سلامت انسان و جلوگیری از فعالیت‌های اکسیداسیونی، توجه زیادی را به خود اختصاص داده-اند. مطالعات پیشین نشان دادند که منشا بسیاری از مواد دارویی و درمانی در اثر متابولیسم ثانویه در گیاها است که منجر به تولید ترکیبات فنولی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی میکروبی می شود. در همین راستا جلبک‌ها و عصاره آن‌ها در تحقیقاتی مشابه به منظور دستیابی به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند [٦، ۷].جلبک‌ها منابع سرشاری از ویتامین‌ها، مواد معدنی، ترکیبات زیستی فعال و پلی‌ساکاریدهای مختلفی می‌باشد. جلبک‌ها همچنین منابع غنی از انواع رنگدانه‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر فوکوزانتین، کلروفیل a و b، بتاکاروتن، زانتوفیل‌ها، فلاوونوئیدها و کارتنوئیدها می‌باشد[۸]، که در این میان ترکیبات فنولیک از خاصیت آنتی اکسیدانی فوق‌العاده‌ای برخوردارند. از طرفی با توجه به حساسیت بالای این رنگدانه‌ها به نور و گرما، استفاده از روش ریز پوشانی جهت افزایش پایداری این ترکیبات و هممچنین جلوگیری از بروز طعم، رنگ و بو خاص این ترکیبات در فرآورده‌های غذایی، روشی مناسب و کارآمد می‌باشد [۹]. به منظور ریزپوشانی ترکیبات غذایی-دارویی و حساس، انتخاب یک پوشش مناسب مهمترین فاکتور است که از میان گروه بزرگی از پلیمرهای طبیعی و مصنوعی انتخاب می-شود.مالتودکسترین ترکیبی است که به دلیل توانایی تشکیل شبکه در روش‌های مختلف ریزپوشانی به عنوان ماده دیواره‌ای مورد توجه است. بالا بودن ضریب ریزپوشانی توسط مالتودکسترین، پایین بودن گرانروی محلول آن‌ها حتی در غلظت‌های بالا، در دسترس بودن آن‌ها در اوزان مولکولی مختلف و پایین بودن قیمت آن‌ها و حفاظت مناسب در برابر اکسیداسیون از عوامل مهم در استفاده از این ترکیبات در فرآیند ریزپوشانی است. با این وجود برخی ویژگی‌های آن نظیر فعالیت بین سطحی مورد نیاز جهت راندمان بالای ریزپوشانیضعیف است. بنابراین جهت رفع این مشکل، معمولا در ترکیب با مواد بیوپلیمری دیگری همچون پروتئین‌هایی مانند کنستانتره پروتئین آب پنیر مورد استفاده قرار می گیرند[۳، ۹]. گزارش شده است که عصاره متانولی جلبک‌های دریایی *Sargassum polycystum* و *Laurencia obtusa* پتانسیل مناسبی به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی داشته و خصوصیات ضدباکتریایی قوی دارند [۱۰]. همچنین، خواص آنتی اکسیدانی جلبک دریایی *Sargassum* spp. در تحقیقاتی که پیش از این صورت گرفته گزارش شده است[۱۱]. با توجه به اینکه تاکنون هیچ گزارشی مبنی بر شناسایی ترکیبات و همچنین ارزیابی اثر آنتی اکسیدانی عصاره جلبک *Sargassum* spp. در حالت ریز پوشانی بر پایداری اکسایشی روغن ماهی در منابع علمی ذکر نشده است، لذا تحقیق حاضر با هدف بررسی میزان

ترکیبات موثر در فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره استونی جلبک دریایی قهوه‌ای *Sargassum ilisifulium* و همچنین ارزیابی قدرت آنتی‌اکسیدانی آن به صورت آزاد و ریزپوشانی شده در پایداری اکسیداتیو روغن ماهی کیلکا در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل‌هیدروکینون (TBHQ) انجام گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

گونه جلبک سارگاسوم (*Sargassum ilisifulium*) از منطقه ساحلی شهرستان بوشهر در آذر ماه سال ۱۳۹۵ جمع آوری گردید. روغن ماهی کیلکا(فاقد هرگونه افزودنی و آنتی اکسیدان) از اداره شیلات بندر انزلی تهیه شد. آنتی اکسیدان مصنوعی TBHQ از شرکت Sigma-Aldrich و سایر مواد شیمیایی مورد استفادهازشرکت Merck خریداری شدند.

۲-۱- آماده سازی نمونه جلبک

جلبک‌های دریایی جمع‌آوری شده جهت از بین رفتن گل‌ولای و میکروارگانیسم‌های چسبیده به آن، ابتدا با آب دریا و سپس با آب شیرین شست‌وشو داده شدند و به آزمایشگاه فرآوری منتقلو تا شروع آزمایشات در دمای ۲۰°C-نگهداری شدند.

۲-۲- استخراج رنگدانه از جلبک

مقدار ٦ kg جلبک در آون با دمای ٤٠ °C به مدت ٢٤ ساعت خشک گردید. نمونه‌های خشک شده جلبک در آسیاب پودر شده و جهت استخراج رنگدانه با استون ۱۰۰٪ با نسبت ۱۰ به ۱ (وزنی/حجمی) مخلوط شدند. مخلوط حاصل به منظور جدا شدن رنگدانه به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰g سانتریفیوژ گردید. عصاره سپس از فیلتر کاغذی عبور داده شده و نمونه‌ها با استفاده از روتاری در دمای ۳۰ °C تغلیظ شدند؛ همچنین، برای حذف آب اضافه از سولفات سدیم بدون آب به میزان ۲ g استفاده گردید. در نهایت رنگدانه‌های حاصل، در حالت خشک در ظرف شیشه‌ای پرشده با گاز بی‌اثر نیتروژن، در دمای ۱۵- °C و در شرایط کاملا تاریک تا زمان استفاده نگهداری شدند[۹].

۲-۳- شناسایی و تعیین کمی ترکیبات عصاره رنگدانه جلبک

۲-۳-۱- کلروفیل کل، کلروفیل a و b، و کاروتنوئید کل

عصاره جلبکی ابتدا به مدت ۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت حاصل به میکروتیوب دیگری انتقال داده شد. غلظت کلروفیل کل، a و b در سوپرناتانت با اندازه-گیری تراکم نوری در طول موج‌های ٦٤٥ و ٦٦٣ nm و برای کاروتنوئیدها در طول موج ٤٧٠ nm با دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری و نهایتا با فرمول‌های زیر محاسبه گردیدند [۱۱].

$$\text{Total chl (mg/l)} = 8.02 \times OD_{663} + 20.21 \times OD_{645}$$

$$\text{Chl a (mg/l)} = 19.3 \times OD_{663} - 0.86 \times OD_{645}$$

$$\text{Chl b (mg/l)} = 19.3 \times OD_{645} - 3.6 \times OD_{663}$$

$$\text{Carotenoids (mg/l)} = 100\ (OD_{450}) - 3.27\ (\text{Chl a}) - 104\ (\text{Chl b}) / 227$$

۲-۳-۲- ترکیبات فنل

ابتدا ۰/۵ml عصاره جلبکی با ۱۰۰ میکرولیتر از معرف فولین سیوکالتیو ۱۰٪ مخلوط شده و سپس ٤ml کربنات سدیم یک مولار اضافه گردید. در نمونه شاهد از استون به جای عصاره جلبکی استفاده شده و برای صفر کردن دستگاه اسپکتروفوتومتر به کار گرفته شد. محلول‌ها ابتدا ۱۵ دقیقه در تاریکی قرار گرفته و سپس در طول موج ۷٦۵nm خوانده شدند. منحنی استاندارد نیز با استفاده از دامنه غلظتی از صفر تا ۲۵۰mg/L گالیک اسید حل شده در متانول:آب (۵۰:۵۰ حجمی/حجمی) تهیه شد [۱۲]. میزان ترکیبات فنلی، معادل گالیک اسید، در یک میلی‌لیتر عصاره جلبکی گزارش شد.

۲-۳-۳- ترکیبات فلاوونوئیدی

برای اندازه‌گیری فلاوونوئیدها ابتدا ۰/۵ml از عصاره جلبکی با ۱/۵ml متانول، ۰/۱ml آلومینیوم کلرید ۱۰٪، ۰/۱ml استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ml آب مقطر به یکدیگر اضافه شدند. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی قرار داده شده و بلافاصلهدر دستگاه اسپکتروفوتومتر با طول موج ٤٥٠nm قرائت گردید. میزان جذب دستگاه برای نمونه شاهد (به جای عصاره جلبکی از استون به تنهایی استفاده شد) نیز مانند روش ذکر شده انجام گرفت. منحنی استاندارد با آماده‌سازی محلول‌های کوئرستین در دامنه غلظت ۱۲/۵ تا ۱۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر در متانول و پس از قرائت عدد جذب محاسبه گردید [۱۲]. میزان

فلاوونوئیدها، معادل کوئسترین، در یک میلی‌لیتر از عصاره جلبکی گزارش شد.

۲-٤- سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی با DPPH

به منظور بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی از روش مهار کنندگی رادیکال آزاد ۲و ۲- دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) به روش اسپکتروفتومتری استفاده شد. محلول DPPHدر زمان ترکیب با ماده دهنده اتم هیدروژن، فرم احیای رادیکال تشکیل داده که همراه با کاهش رنگ آن همراه است. این واکنش سبب از بین رفتن رنگ بنفش شده که شاخص آن تشکیل باند جذبی در ۵۲۰nm است. در این مطالعه، برای ارزیابی میزان فعالیت آنتی-اکسیدانی عصاره استونی جلبک سارگاسوم، ۲ml از ۱۰۰ DPPH میکرومولار محلول در متانول با ۲ml از عصاره جلبکی مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری گردید. جذب نمونه بلافاصله در طول موج ۵۲۰nm با دستگاه اسپکتروفوتومتر سنجش شده و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی با فرمول زیر محاسبه گردید [۱۳].

$$\% \text{ DPPH} = (AD\text{-}AS/AS) \times 100$$

که در اینجا، ADدرصد جذب نمونهو AS درصد جذب شاهد در ۵۲۰ nm است.

۲-۵- تهیه نانوامولسیون

ابتدا جهت تهیه امولسیون ترکیب مواد دیواره‌ای با نسبت (۵۰:۵۰) مالتودکسترین و کنستانتره پروتئین آب پنیر در آب دیونیزه حل گردید، g ۱ توین۸۰ به عنوان امولسی‌فایر به مخلوط اضافه شد. غلظت کل ماده جامد حل شده ٤۰٪ در نظر گرفته شد.سپس عصاره رنگدانه جلبک به نسبت ۱:٤ به محلول اضافه و باهموژنایزر التراتورکس به مدت ۱۰ دقیقه و در دورrpm ۱۵۰۰۰ کاملاً هموژن شده و امولسیونی یکنواخت به دست آمد [۱٤].

۲-٦- آزمون‌های مرتبط با سنجش خواص نانوامولسیون

۲-٦-۱- ثبات امولسیون

مقدارml ۱۰ از نمونه امولسیون به درون استوانه مدرج انتقال داده شد و به مدت ۲٤ ساعت در دمای اتاق نگهداری گردید. پس از ۲٤ ساعت لایه کرمی کدر و غیر شفاف در بالا و لایه سرمی شفاف (یا کدر) در پایین لوله آزمایش باچشم تفکیک شد. پس از ۲٤ ساعت، ارتفاع فاز پایینی (سرم) در نمونه اندازه‌گیری شده و نتایج به‌صورت شاخص کرمی شدن با استفاده از رابطه زیر تعیین گردید [۱۵].

$$\% \, Separation = \left(\frac{H1}{H0}\right) \times 100$$

که در اینجا، H0 بیانگر ارتفاع اولیه امولسیون و H1 ارتفاع لایه سرم تشکیل شده است.

۲-٦-۲- تعیین ویسکوزیته

ویسکوزیته ظاهرینمونه‌های امولسیون بلافاصله پس از تهیه آن‌ها با استفاده از ویسکومتر چرخشی بروکفیلد (مدل $RVDV\text{-}II^{+}$، کشور آمریکا) بر حسب mPa.s اندازه‌گیری شد. ویسکوزیته در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، در سرعت برشی $٤۰s^{-1}$ تعیین شد. در انجام آزمون از دوک SC4-31 به عنوان پروب سنجش استفاده گردید [۱٦].

۲-۷- خشک‌کردن انجمادی

امولسیون تهیه شده ابتدا به مدت ۲٤ ساعت در دمای °C ۷۰- منجمد شده و پس از آن در خشک‌کن انجمادی در فشار تقلیل یافته خشک گردید. فرآیند خشک شدن امولسیون منجمد در خشک‌کن انجمادی ۷۲ ساعت به طول انجامید. توده‌های اسفنجی حاصله پس از ته‌نشین شدن الک شده و به اندازه‌های دلخواه و با رطوبت کمتر از ۱۰٪ در آون چینی به آرامی پودر شدند. پودر رنگدانه به طور مستقیم در دمای °C ۱۵- تا زمان انجام آزمون-های فیزیکوشیمیایی نگهداری گردید.

۲-۸- آزمون‌های مرتبط با بررسی خواص پودر تولیدی

۲-۸-۱- اندازه‌گیری رطوبت

میزان رطوبت نمونه‌ها با استفاده از روش ارائه شده توسط استاندارد ملی ایران به شماره ۲-۲۵۹ (۱۳۹۱) تعیین گردید [۱٦]. بدین منظور، مقدارg ۲ از پودر حاصل در آون با دمای °C ۱۰۵ به مدت یک شبانه‌روز قرار داده شد و سپس میزان رطوبت با فرمول زیر محاسبه گردید:

$$H = \frac{(m0 - m1)}{m0} \times 100$$

که در اینجا، m0 = جرم نمونه بر حسب گرم قبل از آون‌گذاری، m1 = جرم نمونه خشک‌شده بر حسب گرم پس از آون‌گذاری و رسیدن به وزن ثابت، و H = درصد رطوبت می‌باشد.

۲-۸-۲- اندازه ذرات پودر و شاخص بس پاشیدگی[1] (PDI)

جهت بررسی اندازه و پراکندگی ذرات ریزکپسول‌های تولید شده از دستگاه مخصوص اندازه‌گیری ذرات (دستگاه انکسار نور لیزر؛ مدلZetasizer nano، ساخت شرکت Malvern، انگلستان) استفاده شد. به طور خلاصه، مقدار g ۱ از پودر در ۱ میلی‌لیتر ۲-پروپانول حل شده، و سپس چند قطره از محلول حاصل به مخزن اندازه‌گیری دستگاه اضافه گردید. اندازه‌گیری ذرات براساس تفرق نور لیزر و با چندین مرتبه مکش آب مخزن حاوی نمونه‌ها انجام گرفت [۱۷].

۲-۹- بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک ریزپوشانی شده

توانایی آنتی‌اکسیدانی نانوکپسول‌های تولید شده در محافظت از روغن ماهی نسبت به اکسیداسیون ارزیابی گردید. به طور خلاصه، مقادیر ۱/۲۵ و ۲/۵ درصد از نانوکپسول‌های عصاره جلبک به روغن ماهی کیلکا (خلوص ۹۹٪؛ شرکت پارس کیلکا مازندران) اضافه شده و در دمای اتاق (۲۵ °C) به مدت ۱۵ روز نگهداری گردید. میزان شاخص‌های پراکسید و پاراآنیزیدین به عنوان فاکتورهای دخیل در اکسیداسیون به فواصل زمانی ۳ روز در میان اندازه‌گیری شد. لازم به ذکر است که نتایج این آزمون‌ها با قابلیت آنتی‌اکسیدانی یک آنتی‌اکسیدان سنتزی (TBHQ؛ شرکت Sigma-Aldrich) و عصاره خام ریزپوشانی‌نشده (عصاره جلبکی غیر کپسوله) مقایسه گردید.

۲-۹-۱- محاسبه میزان شاخص پراکسید (PV)

برای تعیین میزان پراکسید، نمونه‌هایی به وزن ۱۰۰mg توزین و به آنها ml ۹/۸ مخلوط کلروفرم : متانول (به نسبت ۷:۳) اضافه شد. سپس ml ۰/۱ محلول ۰/۰۲ مولار کلریدفرو در اسید کلریدریک ۱۰٪ اضافه شد. نمونه‌ها پس از هم‌زدن، سه دقیقه به حال خود رها و سپس به آنها ml ۰/۱ محلول ۳۰ درصد تیوسیانات آمونیوم اضافه گردید. آنگاه جذب نور در طول موج nm ۵۰۰ قرائت گردید. در نهایت، عدد پراکسید بر اساس رابطه زیر محاسبه شد [۱۸]:

$$PV = \frac{C \times (V - V_0) \times 12.69 \times 78.8}{m}$$

که در اینجا، PV میزان پراکسید، C غلظت سدیم تیوسولفات (مول/لیتر)، V و V0 به ترتیب بیانگر حجم مصرفی (میلی‌لیتر) تیوسولفات توسط نمونه‌ها و بلانک است، و m نیز میزان روغن (گرم) می‌باشد.

۲-۹-۲- اندازه‌گیری شاخص آنیزیدین

ابتدا، پاراآنیزیدین (g ۰/۲۵) در اسید استیک (ml ۱۰۰) محلول گردید. مقدار g ۰/۷- ۰/۵ نمونه روغن را به دقت در یک بالن ml ۲۵ توزین کرده (m)، محلول پاراآنیزیدین-اسید استیک به آن اضافه شده، و سپس توسط ایزواکتان به حجم رسانده و کاملاً مخلوط گردید. جذب محلول حاصل (ایزواکتان + روغن) در طول موج nm ۳۵۰ در مقابل ایزواکتان (شاهد) قرائت گردید (A_b). مقدار ml ۵ از محلول روغن در ایزواکتان به یک لوله آزمایش و ml ۵ ایزواکتان، به یک لوله آزمایش دیگر منتقل گردید. یک میلی‌لیتر محلول پاراآنیزیدین به هر یک از دو لوله آزمایش اضافه کرده و به‌خوبی مخلوط شد. پس از ۱۰ دقیقه نگهداری در تاریکی، جذب محلول نمونه (ایزواکتان+ روغن+ پاراآنیزیدین) در برابر شاهد (ایزواکتان+ پارا آنیزیدین) قرائت گردید (A_s). در انتها، شاخص آنیزیدین براساس فرمول زیر محاسبه گردید [۱۹].

$$AV = \frac{[25 \times (1.2\,As - Ab)]}{m}$$

که در اینجا، AV بیانگر مقدار آنیزیدین است.

۲-۱۰-تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری با نرم افزار SPSSانجام گردید که در آن جهت بررسی اختلاف بین داده‌های حاصله از فیلم‌ها، از تجزیه واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) استفاده شد. همچنین جهت تعیین وجود تفاوت معنی دار بین مقادیر میانگین

2. poly disparity index

تیمارهای مختلف از آزمون Duncanدر سطح $p<۰/۰۵$ استفاده شد. تمام آزمایش‌ها با حداقل ۳ تکرار انجام گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ترکیبات عصاره جلبکی

ترکیبات شیمیایی و رنگدانه‌ای عصاره استونی جلبک سارگاسوم در جدول ۱ ارائه شده است. مقادیر نشان داده شده بیانگر مزیت‌های آنتی‌اکسیدانی گونه جلبکی می‌باشد، که بر این اساس اهمیت فرآیند ریزپوشانی بر آن را افزایش می‌دهد. گزارش شده است که جلبک دریایی سارگاسوم خواص آنتی‌اکسیدانی قوی داشته، و در سال‌های اخیر علاقه زیادی به استفاده از عصاره آن یا ترکیبات مؤثره این جلبک در سیستم صنایع غذایی ایجاد شده است [۱۱، ۲۰، ۲۱]. قابلیت آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک سارگاسوم را می‌توان به این حقیقت نسبت داد که گونه‌های سارگاسوم از انواع جلبک‌های جزر و مدی بوده و در معرض دامنه وسیعی از اشعه‌های خورشیدی و به خصوص پرتو UV-B (۳۲۰-۲۸۰ nm) و UV-A (۴۰۰-۳۲۰ nm) قرار دارند [۲۲]. بنابراین، این ارگانیسم‌های دریایی به آنتی‌اکسیدان‌های داخلی برای محافظت در برابر آسیب‌های غشای سلولی به دلیل آسیب به غشای فسفولیپیدها و متعاقباً نشت مواد درونی به بیرون از سلول-ها [۲۳] و همچنین اکسیداسیون چربی‌ها در اثر UV نیاز دارند [۲٤]. در این پژوهش مشخص گردید که عصاره جلبکی سارگاسوم حاوی منابع آنتی‌اکسیدانی از جمله کاروتنوئیدها، فنل-ها و فلاوونوئیدها است و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مناسبی دارد (براساس مقدار TBHQ). مقدار ترکیبات فنل و فلاوونوئید کل در این مطالعه به ترتیب حدود ۸٤ و ٤ mg GA/Eg برآورد شد. مشخص شده است که ترکیبات فنل غالب‌ترین متابولیت‌های ثانویه در جلبک‌های سارگاسوم هستند [۲۵]؛ اما به هرحال مقادیر این ترکیبات به کیفیت و شدت نور، شوری، غلظت مواد غذایی و فصل سال بستگی دارد [۲٦]. پلی‌فنل‌ها می‌توانند رادیکال‌های آزاد همچون رادیکال‌های پروکسی که یکی از کلیدی‌ترین واکنش‌دهنده‌های زنجیره میانی هستند را به دام انداخته، و در نتیجه باعث خاتمه چرخه واکنش‌های فساد اکسیداسیونی می‌شوند [۲۷]. با در نظر گرفتن کاروتنوئیدها، مطالعات اندکی برای مشخص نمودن ترکیبات مختلف و غلظت آنها در جلبک سارگاسوم انجام شده است. با این وجود، گزارش شده است که فوکوزانتین، از مهمترین ترکیبات رنگدانه‌ای در سارگاسوم، قابلیت زیادی در محافظت سلول‌ها نسبت به پرتو UV-B داشته است [۲۰].

Table 1 The chemical composition of Sargassum sp. Extract

compositionchemical	Consistency
Chlorophyll a	0.65 ± 0.05 mg/g
Chlorophyll b	0.44 ± 0.05 mg/g
Total chlorophyll	1.10 ± 0.3 mg/g
Total carotenoids	0.32 ± 0.06 mg/g
Total phenol	84.19 ± 6.62 mg GA/Eg
Total flavonoid	4.03 ± 0.28 mg GA/Eg
DPPH	9.63 ± 0.45 µg/ml

.Data are expressed as mean ± standard deviation

۳-۲- آزمون‌های ثبات امولسیون

در آزمایش حاضر مشاهده گردید که امولسیون‌های تهیه شده با ترکیب دیواره‌ای WPC+M به صورت ۱۰۰٪ پایدار بوده و حالت دو فازی در امولسیونایجاد نگردید. شاخص کرمی شدن یا شاخص ثبات امولسیون از جمله فاکتورهایی است که عموماً برای بررسی کیفیت امولسیون‌های تهیه شده از ترکیبات مختلف قبل از فرآیند ریزپوشانی برآورد می‌گردد [۱۵، ۲۸]. ذکر شده است که ظرفیت امولسیون‌کنندگی مالتودکسترین در مقایسه با سایر ترکیبات مورد استفاده مانند صمغ‌ها و ترکیبات پروتئینی پایین است [۱۵]. لازم به ذکر است که ذرات پروتئینی تأثیر به سزایی در بهبود خواص امولسیون‌های پیش‌نیاز ریزپوشانی روغن‌ها و چربی‌ها ایفا می‌کنند [۲۹]. با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان ذکر نمود که ترکیب WPC+M موجب تولید امولسیون‌های کاملاً پایداری از عصاره جلبکی می‌گردد.

مقدار شاخص ویسکوزیته امولسیون٤mPa.s ± ٦۷۰ محاسبه گردید. مطالعات پیشین نشان دادند که پروتئین‌ها نقش به سزایی در ثبات و ویسکوزیته امولسیون ایفا می‌کنند [۳۰].WPC از گروه‌های متنوع پروتئین‌ها تشکیل شده و عملکرد زیادی در سیستم‌های غذایی دارد. پروتئین‌های این ماده ساختار کروی داشته و در مقابل حرارت رفتار ژلاتینه شدن را بروز می‌دهند [۳۱]. بر این اساس گزارش‌های متعددی ذکر کرده‌اند که WPC

می‌تواند خصوصیات عملکردی غذاها از جمله ویسکوزیته امولسیون را بهبود بخشند [۳۰، ۳۲].

۳-۳-شاخص‌های فیزیکوشیمیایی پودرهای حاصل از خشک کن انجمادی

در این مطالعه از روش خشک‌کردن انجمادی به منظور تهیه میکروکپسول‌ها استفاده شد. خشک‌کردن انجمادی از سودمندترین و مناسب‌ترین روش‌ها برای خشک‌کردن و ریزپوشانی ترکیبات حساس به حرارت محسوب می‌شود. در مطالعات انجام شده توسط Buffo و Reineccius [۳۳] با هدف مقایسه روش‌های مختلف خشک‌کردن اعم از غلطکی، کابینتی، پاششی و انجمادی برای ریزپوشانی عصارهپرتقال مشخص شد که پودر تهیه شده به روش خشک‌کردن انجمادی دارای خصوصیات مطلوب‌تری نسبت به پودر حاصل از سایر روش‌ها بوده است. محققان Minemoto و همکاران [۳٤] با بررسی روند اکسیداسیون متیل لینولئات ریزپوشانی‌شده با دو روش خشک‌کردن در هوای داغ و خشک‌کردن انجمادی گزارش نمودند که خشک‌کردن انجمادی تأثیرات به مراتب بهتری داشته است؛ ریزپوشانی با خشک‌کن انجمادی موجب کندتر شدن سرعت اکسیداسیون و افزایش مدت نگهداری شده است [۳٤].

در این تحقیق میزان رطوبت، راندمان ریزپوشانی و اندازه ذرات در پودرهای حاصل از خشک‌کردن انجمادی امولسیون عصاره جلبکی حاوی ترکیب WPC+M به ترتیب به میزان ۰/۳۲ ± ۲/۱۳ درصد، ۲/۳۳ ± ۷۹/۱۰ درصد و ٦۲/٤۱ ± ٥٦٥/۳۰ nm در جدول ۲ و شکل ۱ مشخص است. سطح رطوبت ترکیبات ریزپوشانی‌شده به تعداد گروه‌های پیوند دهنده با آب در مولکول-های آن‌ها بستگی دارد. رطوبت پودرهای حاصل بین ۲ تا ۲/۵ درصد اندازه‌گیری شد که مشابه با نتایج مطالعه Pereira و همکاران [۳۵] می‌باشد. بر اساس Bhandari [۳٦]، در شرایط مناسب، رطوبت پودرهای ریزپوشانی‌شده بایستی کمتر از ۵٪ باشد. بنابراین مشخص است که فرآیندهای مربوط به خشک‌کردن انجمادی در این پژوهش به درستی عمل نموده و مطابق با استانداردهای موجود بوده است. ذکر شده است که رطوبت از جمله فاکتورهایی است که در پایداری پودرهای ریزپوشانی‌شده نقش تعیین‌کننده دارد، چرا که مقدار بالای رطوبت موجب به هم‌چسبیدگی ذرات، تسریع رشد میکروبی و اکسیداسیون می-گردد [۳۷]. همچنین، گزارش شده است میزان رطوبت از عوامل تأثیرگذار بر اندازه ذرات است. Tonon و همکاران [۳۸] عدم یکسانی شکل و اندازه پودرها را ناشی از تفاوت در میزان رطوبت پودر حاصله دانستند.

Table 2 Physicochemical characteristics of encapsulated Sargassum sp. extract

Wall material	Physicochemicalcharacteristics		
	Moisture (٪)	Particle size (nm)	Encapsulation efficiency (%)
Maltodextrin+whey protein concentrate	2.13 ± 0.32	565.30±62.41	79.10± 9.33

٤-۳- فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک ریزپوشانی شده

مقادیر اندازه‌گیری‌شده از شاخص‌های پراکسید و پاراآنیزیدین نمونه‌های روغن ماهی حاوی آنتی‌اکسیدان‌های مختلف شامل عصاره جلبک ، عصاره جلبک ریزپوشانی‌شده با WPC+M، و آنتی‌اکسیدان تجاریTBHQ در طول نگهداری به مدت ۱۵ روز در جدول‌های ۳ و ٤ ارائه شده است. با توجه به نتایج حاضر می‌توان دریافت که مدت زمان نگهداری تأثیر معنی‌داری بر مقادیر پراکسید و پاراآنیزیدین داشته است ($p< ۰/۰۵$)؛ به طوری که با گذشت زمان، مقادیر این شاخص‌هادر تمامی تیمارها

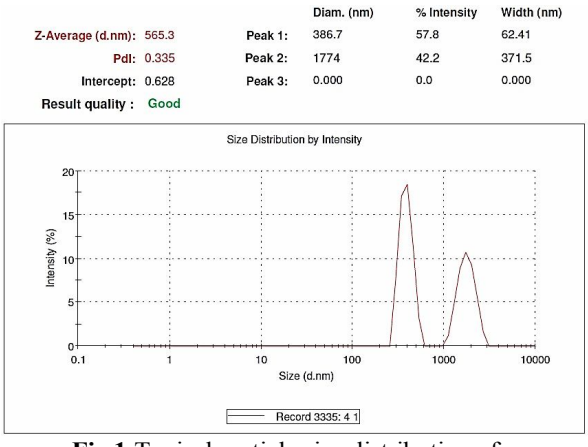

Fig 1 Typical particle size distribution of encapsulated Sargassum sp. extract with composed wall materials of maltodextrin (M) and whey protein concentrate (WPC).

افزایش یافت. از طرف دیگر، میزان پراکسید در اولین زمان نمونه‌برداری بین تمامی تیمارها در دامنه مشابهی قرار داشت؛ اما تیمار شاهد (روغن ماهی به تنهایی) بیشترین مقدار این شاخص را در انتهای روز ۱۵ نسبت به سایر تیمارها نشان داد. روند مشابهی در رابطه با تغییرات مقادیر پاراآنیزیدین بین تیمارها و روزهای نمونه‌برداری مشاهده گردید، با این تفاوت که میزان شاخص اخیر حتی در اولین روز نمونه‌برداری بین تیمارها اختلاف معنی‌دار داشته و بیشترین مقدار در تیمار شاهد اندازه‌گیری شد. به طور کلی، بهترین تیمارها از لحاظ قابلیت آنتی‌اکسیدانی و محافظت از روغن ماهی در برابر اکسیداسیون (با در نظر گرفتن مقادیر پراکسید و پاراآنیزیدین)، تیمارهای غنی‌شده با پودر WPC+MیاTBHQ بودند.همچنین، با توجه به نتایج مشخص است که درصد افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها به روغن ماهی نیز بر قابلیت آنتی‌اکسیدانی آنها اثر معنی‌دار داشته، و مقدار ۲/۵٪ عملکرد بهتری در محافظت از روغن ماهی در برابر اکسیداسیون داشته است.

Table 3 Changes in the peroxide value of different treatments during storage at 25°C for 15 days.

Treatment	Time (days)					
	0	3	6	9	12	15
Control	$2.16\pm^{aD}0.08$	$4.60\pm^{aC}0.02$	$4.74\pm^{aC}0.72$	$9.55\pm^{aB}0.55$	$11.33\pm^{aA}0.03$	$10.07\pm^{aB}0.08$
Oil-2.5% extract	$2.11\pm^{abD}0.02$	$2.17\pm^{bD}0.59$	$2.39\pm^{cdD}0.28$	$3.13\pm^{cC}0.26$	$6.35\pm^{cB}0.57$	$8.63\pm^{bA}0.43$
Oil-5% extract	$2.05\pm^{bD}0.04$	$2.19\pm^{bD}0.27$	$2.57\pm^{bcdD}0.37$	$3.89\pm^{bC}0.29$	$7.11\pm^{bA}0.33$	$6.59\pm^{cB}0.30$
Oil-2.5 E-extract	$2.08\pm^{abD}0.07$	$1.95\pm^{bDE}0.13$	$1.89\pm^{dE}0.07$	$4.18\pm^{bC}0.08$	$4.62\pm^{eB}0.06$	$4.79\pm^{deA}0.08$
Oil-5%E-extract	$2.12\pm^{abD}0.08$	$2.28\pm^{bD}0.18$	$3.20\pm^{bC}0.36$	$3.91\pm^{bB}0.11$	$5.21\pm^{dA}0.09$	$5.03\pm^{deA}0.33$
Oil-2.5% TBHQ	$2.07\pm^{abC}0.06$	$1.84\pm^{bC}0.10$	$2.23\pm^{cdC}0.28$	$3.79\pm^{bB}0.30$	$4.23\pm^{eAB}0.28$	$4.44\pm^{eA}0.38$
Oil-5% TBHQ	$2.07\pm^{abD}0.03$	$2.14\pm^{bD}0.17$	$2.79\pm^{bcC}0.21$	$3.14\pm^{cC}0.16$	$4.38\pm^{eB}0.28$	^{tt}

E: Encapsulated; Different lowercase letters (a, b, c,..) in each column represent significant differences between treatments and Different capital letters (A, B, C,..) in each row represent significant differences between times; Data are expressed as mean ± standard deviation (n = 3).

Table 4 Changes in the anisidine value of different treatments during storage at 25°C for 15 days.

Treatment	Time (days)					
	0	3	6	9	12	15
Control	$3.00\pm^{aF}0.20$	$8.38\pm^{aE}1.55$	$12.09\pm^{aD}0.36$	$17.11\pm^{aC}0.30$	$24.48\pm^{aB}0.37$	$31.90\pm^{aA}0.71$
Oil-2.5% extract	$2.52\pm^{cdD}0.10$	$3.32\pm^{bD}0.44$	$5.57\pm^{bCD}0.70$	$8.12\pm^{cdeC}1.02$	$12.17\pm^{bcB}3.78$	$15.85\pm^{bcA}2.90$
Oil-5% extract	$2.38\pm^{eE}0.06$	$4.76\pm^{bDE}0.92$	$6.51\pm^{bD}0.43$	$10.59\pm^{bcC}2.88$	$16.08\pm^{bB}1.09$	$18.96\pm^{bA}1.04$
Oil-2.5 E-extract	$2.82\pm^{abE}0.08$	$3.93\pm^{bD}0.44$	$6.03\pm^{bC}0.27$	$7.59\pm^{deB}0.28$	$8.53\pm^{cdB}1.24$	$12.20\pm^{deA}0.62$
Oil-5%E-extract	$2.70\pm^{bcE}0.05$	$5.81\pm^{bD}0.50$	$6.35\pm^{bD}1.52$	$10.88\pm^{bC}0.89$	$12.89\pm^{bcB}0.17$	$15.36\pm^{cdA}1.76$
Oil-2.5% TBHQ	$2.43\pm^{eC}0.23$	$4.92\pm^{bBC}3.01$	$4.91\pm^{bBC}0.69$	$6.97\pm^{eB}0.35$	$7.03\pm^{dB}2.72$	$11.62\pm^{eA}3.26$
Oil-5% TBHQ	$2.37\pm^{eD}0.07$	$4.01\pm^{bCD}0.45$	$5.86\pm^{bC}1.44$	$9.54\pm^{bcdB}1.58$	$11.13\pm^{cdB}3.72$	$15.04\pm^{cdeA}0.88$

E: Encapsulated; Different lowercase letters (a, b, c,..) in each column represent significant differences between treatments and Different capital letters (A, B, C,..) in each row represent significant differences between times; Data are expressed as mean ± standard deviation (n = 3).

از شاخص پراکسید برای اندازه‌گیری وضعیت اکسیداسیونی چربی‌ها و روغن‌ها (اکسیداسیون اولیه) بعد از فرآوری و در طی نگهداری استفاده می‌شود. در مطالعه حاضر مشخص شد که به طور کلی شاخص پراکسید همه تیمارها با افزایش مدت زمان ماندگاری افزایش یافته است. بهرحال، این افزایش پراکسید در تیمار شاهد (روغن ماهی) بیشتر از سایر تیمارها اندازه‌گیری شد. این نتایج قابل انتظار بود چرا که پراکسید از مهمترین شاخص-های اکسیداتیو مواد غذایی است و بیشتر بودن آن در نمونه‌های شاهد نشان از اکسیده‌شدن بیشتر آن می‌باشد [۱۴]. بهبود مقاومت به شرایط اکسیداسیون مواد غذایی به دنبال ریزپوشانی در مطالعات گذشته نیز گزارش شده است [۱۵، ۳۹]. مطابق با نتایج این مطالعه، Ahn و همکاران [۴۰] گزارش نمودند که عصاره گیاهانی مانند رزماری و پرتقال باعث کاهش اکسیداسیون روغن آفتاب‌گردان می‌شوند. پراکسیدها ترکیباتی ناپایدار بودهو به سایر ترکیباتهمچون آلدهیدها و کتون‌ها تبدیل می‌شود[۴۱]. این امر نشان می‌دهد این امکان وجود داشت که در صورت نگهداری بیشتر روغن ماهی، روند افزایشی تولید پراکسیدها به حالت نزولی تبدیل گردد؛ نتایجی که در بعضی از نمونه‌ها تا روز ۱۵ نیز

مشاهده گردید. مطالعات پیشین نشان دادند که نوع ماده دیواره می‌تواند نقش مهمی در شدت ثبات اکسیداتیو محصول داشته باشد [٤٢]. بنابراین، با توجه به محدودیت مالتودکسترین در فرآیند امولسیون‌کنندگی، و نقش مؤثر خصوصیات امولسیون بر ویژگی پودرهای حاصل، نتیجه می‌شود که اضافه نمودن WPC تأثیر به سزایی بر کاهش اکسیداسیون پودرها داشته است. با بررسی نتایج مشخص است که عملکرد روغن ماهی حاوی عصاره‌های جلبکی ریزپوشانی‌شده با WPC و تیمارTBHQ نسبت به اکسیداسیون بهتر از تیمارهای دیگر بودند. بر این اساس می‌توان بیان نمود عصاره جلبک سارگاسوم ریزپوشانی‌شده بسیار عملکردی بوده و قابلیت مناسبی به عنوان آنتی‌اکسیدان برای محافظت از روغن ماهی دارد.

از شاخص آنیزیدین برای اندازه‌گیری محصولات ثانویه اکسیداسیون (آلدهیدها، کتون‌ها و سایر مواد) استفاده می‌گردد [٤٣]. معرف آنیزیدین با محصولات حاصل از اکسیداسیون همانند آلدهیدها (به طور اساسی ۲-آلکان‌ها و ۲و٤-دی‌آنال‌ها) واکنش داده و ترکیب زرد رنگی را تولید می‌کند. از این رو، مقدار این شاخص نشان دهنده افزایش مقدار اکسیداسیون است. مقدار اکسیداسیون چربی تحت تأثیر عواملیهمانند فعالیت آبی، وجود اکسیژن و وجود آنتی‌اکسیدان می‌باشد [٤٤].در مطالعه حاضر، همانند پراکسید، نتایج مشابهی در رابطه با آنیزیدین مشاهده شد. کمترین مقادیر این فاکتور در تیمارهای آنتی‌اکسیدان TBHQ و عصاره ریزپوشانی‌شده با WPC+M مشاهده گردید. نتایج حاضر با توجه به یافته‌های محققان پیشین همسو با سایر تحقیقات به نظر می‌رسد چرا که مشخص شده است حضور همزمان مواد کربوهیدراته و پروتئینه در ساختار دیواره باعث بهبود خواص امولسیون‌کنندگی و ثبات اکسیداتیو ترکیبات غذایی می‌گردد [٤٥].

٤- نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره استونی جلبک دریایی سارگاسوم حاوی مقادیر قابل توجهی از کاروتنوئیدها، ترکیبات فنل و فلاوونوئیدها است که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. امولسیون تهیه شده از عصاره جلبکی با پوشش مالتودکسترین و کنستانتره آب پنیر به صورت ۱۰۰٪ پایدار بوده و دارای ویسکوزیته بالایی بود. عملیات ریزپوشانی در سیستم خشک‌کن انجمادی صورت پذیرفت و متوسط مقادیر رطوبت و اندازه ذرات پودرهای حاصل به ترتیب ۲/۱۳٪ و۵۶۵/۳۰ nm محاسبه گردید.بررسی مقایسه‌ای بین عصاره جلبک کپسوله و غیر کپسوله حاکی از تأثیرگذاری معنی‌دار عصاره جلبکی ریزپوشانی-شده با ترکیب دیواره‌ای WPC+Mدر روند اکسیداسیون روغن بوده که عملکردی مشابه با آنتی‌اکسیدان سنتزی داشت. بنابراین، می‌توان بیان نمودنانوکپسول‌های عصاره جلبک سارگاسوممی-توانند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی به طور موفقیت‌آمیز در سیستم‌های مدل غذایی مورد استفاده قرار گیرند.

٥- منابع

[1] Riediger, N. D., Othman, R. A., Suh, M., and Moghadasian, M. H. 2009. A systemic review of the roles of n-3 fatty acids in health and disease. Journal of the American Dietetic Association, 109: 668-679.

[2] Jordan, R. G. 2010. Prenatal omega - 3 fatty acids: review and recommendations. Journal of Midwifery andWomen's Health, 55: 520-528.

[3] Wanasundara, U. N., and Shahidi, F. 1998. Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils. Food Chemistry, 63: 335-342.

[4] Fennema, O. R. 1996. Food Chemistry 3rd. New York: Marcel Decker, 1: 996.

[5] Suhaj, M. 2006. Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. Journal of Food Composition and Analysis, 19: 531-537.

[6] Athukorala, Y., Lee, K. W., Song, C., Ahn, C. B., Shin, T. S., Cha, Y. J.,and Jeon, Y. J. 2003. Potential antioxidant activity of marine red alga *Grateloupiafilicina* extracts. Journal of Food Lipids, 10: 251-265.

[7] Heo, S. J., Lee, G. W., Song, C. B., and Jeon, Y. J. 2003. Antioxidant activity of enzymatic extracts from brown seaweeds. Algae, 18: 71-81.

[8] Hosokawa, M., Okada, T., Mikami, N., Konishi, I., and Miyashita, K. 2009. Bio-functions of marine carotenoids. Food Science and Biotechnology, 18: 1-11.

[9] Indrawati, R., Sukowijoyo, H., Wijayanti, R. D. E., and Limantara, L. 2015. Encapsulation

[19] Nasrin, T. A. A., and Anal, A. K. 2015. Enhanced oxidative stability of fish oil by encapsulating in culled banana resistant starch-soy protein isolate based microcapsules in functional bakery products. Journal of Food Science and Technology, 52: 5120-5128.
[20] Heo, S. J., and Jeon, Y. J. 2009. Protective effect of fucoxanthin isolated from *Sargassum siliquastrum* on UV-B induced cell damage. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 95: 101-107.
[21] Dore, C. M. P. G., Alves, M. G. D. C. F., Will, L. S. E. P., Costa, T. G., Sabry, D. A., de Souza Rêgo, L. A. R., and Leite, E. L. 2013. A sulfated polysaccharide, fucans, isolated from brown algae *Sargassum vulgare* with anticoagulant, antithrombotic, antioxidant and anti-inflammatory effects. Carbohydrate polymers, 91: 467-475.
[22] Aguilera, J., Bischof, K., Karsten, U., Hanelt, D., and Wiencke, C. 2002. Seasonal variation in ecophysiological patterns in macroalgae from an Arctic fjord. II. Pigment accumulation and biochemical defence systems against high light stress. Marine Biology, 140: 1087-1095.
[23] Burritt, D. J., Larkindale, J., and Hurd, C. L. 2002. Antioxidant metabolism in the intertidal red seaweed *Stictosiphonia arbuscula* following desiccation. Planta, 215: 829-838.
[24] Yuan, Y. V., Bone, D. E., and Carrington, M. F. 2005. Antioxidant activity of dulse (*Palmaria palmata*) extract evaluated in vitro. Food Chemistry, 91: 485-494.
[25] Steinberg, P. D. 1992. Geographical variations in the interaction between marine herbivores and brown algal secondary metabolites. Ecological roles of marine natural products, 51-92.
[26] Plouguerné, E., Le Lann, K., Connan, S., Jechoux, G., Deslandes, E., and Stiger-Pouvreau, V. 2006. Spatial and seasonal variation in density, reproductive status, length and phenolic content of the invasive brown macroalga Sargassum muticum (Yendo) Fensholt along the coast of Western Brittany (France). *Aquatic Botany*, *85*(4): 337-344.
[27] Naczk, M., and Shahidi, F. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of Chromatography A, 1054: 95-111.
[28] Soottitantawat, A., Yoshii, H., Furuta, T., Ohkawara, M., and Linko, P. 2003. of brown seaweed pigment by freeze drying: characterization and its stability during storage. Procedia Chemistry, 14: 353-360.
[10] Anggadiredja, J., and Andyani, R. 1997. Antioxidant activity of *Sargassum polycystum* (Phaeophyta) and *Laurencia obtusa* (Rhodophyta) from Seribu islands. Journal of Applied Phycology, 9: 477-479.
[11] Lim, S. N., Cheung, P. C. K., Ooi, V. E. C., and Ang, P. O. 2002. Evaluation of antioxidative activity of extracts from brown seaweed, *Sargassum siliquastrum*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 3862-3866.
[12] Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J., and Shahabimajd, N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. African Journal of Biotechnology, 5: 1142-1145.
[13] Sun-Waterhouse, D., Xue, D., and Wadhwa, S. 2013. Effects of added phenolics on the lipid deterioration and antioxidant content of deep-fried potato fritters. Food and Bioprocess Technology, 6: 3256-3265.
[14] Velasco, J., Dobarganes, C., Holgado, F., and Márquez-Ruiz, G. 2009. A follow-up oxidation study in dried microencapsulated oils under the accelerated conditions of the Rancimat test. Food Research International, 42: 56-62.
[15] Carneiro, H. C., Tonon, R. V., Grosso, C. R., and Hubinger, M. D. 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.
[16] Iranian National Standardization Organization. 2013. Saffron - Test methods Iranian National Standardization, No.259-2, 5th.
[17] Hojjati, M., Razavi, H., Rezaei, K., and Gilani, K. 2013. Effect of wall components on characteristics of natural canthaxanthin microencapsulated using spray-drying. Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology, 8(3): 45-54.
[18] Wang, Y., Liu, W., Chen, X. D., and Selomulya, C. 2016. Micro-encapsulation and stabilization of DHA containing fish oil in protein-based emulsion through mono-disperse droplet spray dryer. Journal of Food Engineering, 175: 74-84.

Microencapsulation by spray drying: influence of emulsion size on the retention of volatile compounds. Journal of Food Science, 68: 2256-2262.
[29] Bae, E. K., and Lee, S. J. 2008. Microencapsulation of avocado oil by spray drying using whey protein and maltodextrin. Journal of Microencapsulation, 25: 549-560.
[30] Rodea-González, D. A., Cruz-Olivares, J., Román-Guerrero, A., Rodríguez-Huezo, M. E., Vernon-Carter, E. J., and Pérez-Alonso, C. 2012. Spray-dried encapsulation of chia essential oil (*Salvia hispanica* L.) in whey protein concentrate-polysaccharide matrices. Journal of Food Engineering, 111: 102-109.
[31] Morr, C. V., and Ha, E. Y. W. 1993. Whey protein concentrates and isolates: processing and functional properties. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 33: 431-476.
[32] Benichou, A., Aserin, A., and Garti, N. 2002. Protein-polysaccharide interactions for stabilization of food emulsions. Journal of Dispersion Science and Technology, 23: 93-123.
[33] Buffo, R., and Reineccius, G. 2001. Comparison among assorted drying processes for the encapsulation of flavors. Perfumer and Flavorist, 26: 58-67.
[34] Minemoto, Y., Adachi, S., and Matsuno, R. 1997. Comparison of oxidation of methyl linoleate encapsulated with gum arabic by hot-air-drying and freeze-drying. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45: 4530-4534.
[35] Pereira, H. V. R., Saraiva, K. P., Carvalho, L. M. J., Andrade, L. R., Pedrosa, C., and Pierucci, A. P. T. R. 2009. Legumes seeds protein isolates in the production of ascorbic acid microparticles. Food Research International, 42: 115-121.
[36] Bhandari, B. 2008. Spray drying and powder properties. Food drying science and technology: Microbiology, chemistry, applications, 215-248.
[37] Ezhilarasi, P. N., Karthik, P., Chhanwal, N., and Anandharamakrishnan, C. 2013. Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. Food and Bioprocess Technology, 6: 628-647.
[38] Tonon, R. V., Brabet, C., and Hubinger, M. D. 2008. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. Journal of Food Engineering, 88: 411-418.
[39] Ghorbanzade, T., Jafari, S. M., Akhavan, S., and Hadavi, R. 2017. Nano-encapsulation of fish oil in nano-liposomes and its application in fortification of yogurt. Food Chemistry, 216: 146-152.
[40] Ahn, J. H., Kim, Y. P., Seo, E. M., Choi, Y. K., and Kim, H. S. 2008. Antioxidant effect of natural plant extracts on the microencapsulated high oleic sunflower oil. Journal of Food Engineering, 84: 327-334.
[41] Gotoh, N., and Wada, S. 2006. The importance of peroxide value in assessing food quality and food safety. Journal of the American Oil Chemists' Society, 83: 473-474.
[42] Yoshii, H., Soottitantawat, A., Liu, X. D., Atarashi, T., Furuta, T., Aishima, S., and Linko, P. 2001. Flavor release from spray-dried maltodextrin/gum arabic or soy matrices as a function of storage relative humidity. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2: 55-61.
[43] Sun-Waterhouse, D., Wang, W., and Waterhouse, G. I. 2014. Canola oil encapsulated by alginate and its combinations with starches of low and high amylose content: effect of quercetin on oil stability. Food and Bioprocess Technology, 7: 2159-2177.
[44] Cho, E. J., Yokozawa, T., Rhyu, D. Y., Kim, H. Y., Shibahara, N., and Park, J. C. 2003. The inhibitory effects of 12 medicinal plants and their component compounds on lipid peroxidation. The American journal of Chinese medicine, 31(06): 907-917.
[45] Shepherd, R., Robertson, A., and Ofman, D. 2000. Dairy glycoconjugate emulsifiers: casein–maltodextrins. Food Hydrocolloids, 14: 281-286.

Microencapsulation of Sargassum sp. extract in order to improve stability and reinforcement of its antioxidant effect on fish oil

Sadeghi, N. [1], Ojagh, S. M. [2*], Shabanpour, B. [3], Hasani, Sh. [4]

1. M.Sc. Student of Sea Food Processing, Gorgan University of Agriculture Sciences and Natural Resources,Gorgan, Iran
2. Associate Prof., Department of seafood processing, faculty of marine sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
3. Prof., Dept., of Sea Food Processing, Gorgan University of Agriculture Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
4. Ph.D. Student of Sea Food Processing,Gorgan University of Agriculture Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

(Received: 2017/12/297 Accepted:2018/04/08)

In the present study, in order to identifying the composition of Sargassum sp. Extract, total carotenoid, phenolic and flavonoid compounds were measured by spectrophotometric method. The antioxidant activity of extract was evaluated by free radical inhibitory test (DPPH). Nanoencapsulation of the Sargassum sp. Extract was performed by freeze drying methodwith composed wall materials of maltodextrin (M) and whey protein concentrate (WPC) and the effects of nanocapsules on oxidation stability Sargassum sp. Extract and subsequently improvement its antioxidant effect on fish oil were assessed by determining of peroxide and para-anisidine during 15 days storage. The evaluations showed the mean values of 0.32 mg/g, 84.19 mg GA/Eg and 4.03 mg GA/Eg of carotenoids, phenols and flavonoids in the Sargassum sp. Extract, respectively. The emulsion prepared from mixture of algae extract and M+WPC was completely stable, and its viscosity and particle size was measured at 670 ± 4 mPa.sand 59.530±62.4 nm, respectively., Fish oil enriched with encapsulated Sargassum sp. Extract and TBHQ showed lowest level of peroxide value and para-anesidine among all treatmentsduring 15 days storage. The highest levels of oxidation indexes were shown in fish oil and pure algae extract, respectively. The results of this study obviously showed that the encapsulation of extract of *Sargassum sp.*with composed wall materials of maltodextrin (M) and whey protein concentrate (WPC) was effective on improvement of its antioxidant properties stability.

Keywords: *Sargassum* algae, Microencapsulation, Freeze drying, Antioxidant activity

* Corresponding Author:Email Addresss: mahdi_ojagh@yahoo.com