

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

نازنین صادقی^۱، سید مهدی اجاق^{۲*}، بهاره شعبانپور^۳، شیرین حسینی^۴

۱- دانش آموخته کارشناس ارشد فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- دانشیار گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور

۳- استادگروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۴- 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 باهدف شناسایی اولیه ترکیبات عصاره جلبک دریایی سارگاسوم، (*Sargassum sp.*)، شاخص‌هایی مثل میزان ترکیبات کاروتنوئیدی، فنلی و فلاونوئیدی کل به روش اسپکتروفتومتر اندازه گیری شدند. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره جلبک استخراج شده نیز با آزمون مهاررادیکال‌های آزاد (DPPH) مورد بررسی قرار گرفت. سپس ریز پوشانی عصاره جلبک با پوشش‌های مرکب از مالتودکسترین (M) و کنستانتره آب پنیر (WPC) توسط خشک‌کن انجمادی انجام گرفته و تأثیر این فرآیند بر بهبود پایداری عصاره‌ها و متعقبا بهبود فعالیت آنتی اکسیدانی آنها بر روغن ماهی با اندازه‌گیری شاخص پراکسید و پارا آنتیزیدین طی ۱۵ روز نگهداری ارزیابی گردید. ارزیابی‌ها حاکی از وجود مقادیر متوسط 0.32 mg/g و $84/19 \text{ mg GA/Eg}$ و $4/03 \text{ GA/Eg}$ به ترتیب از ترکیبات کاروتنوئیدی، فنل و فلاونوئید 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 حدود $670 \pm 4 \text{ MPa.s}$ و $62/41 \text{ nm}$ $\pm 565/30$ محاسبه گردید. طی دوره ۱۵ روز نگهداری، روغن ماهی غنی شده با عصاره جلبک ریز پوشانی شده و TBHQ کمترین مقادیر پراکسید و پاراآنتیزیدین را نشان دادند. بیشترین سطوح شاخص‌های اکسیداسیونی نیز به ترتیب در تیمارهای روغن ماهی و عصاره جلبکی خالص مشاهده گردید. نتایج این مطالعه به خوبی نشان داد ریز پوشانی عصاره جلبک سارگاسوم با دیواره‌ای از WPC+M در بهبود پایداری ویژگی آنتی اکسیدانی آن موثر است.

کلید واژگان: جلبک سارگاسوم، ریز پوشانی، خشک‌کن انجمادی، فعالیت آنتی اکسیدانی

*مسئول مکاتبات: mahdi_ojagh@yahoo.com

۱- مقدمه

روغن ماهی کیلکا، منبعی غنی از اسیدهای چرب امگا-۳، ایکوزاپنتانویک اسید و دوکوزاهگزانویک 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 تغذیه‌ای 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 [۴]. 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 [۵]. لذا استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی جهت افزایش ماندگاری مواد غذایی ارزشمند اما حساس به اکسیداسیون و افزایش امنیت غذایی جامعه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در سال‌های 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 داده‌اند. مطالعات پیشین نشان دادند که منشا بسیاری از مواد دارویی و درمانی در اثر متابولیسم ثانویه در گیاهان است که منجر به تولید ترکیبات فنولی با خاصیت آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبی می‌شود. در همین راستا جلبک‌ها و عصاره آنها در تحقیقاتی

مشابه به منظور دستیابی به آنتی اکسیدان‌های طبیعی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند [۶، ۷]. جلبک‌ها منابع سرشاری از ویتامین‌ها، مواد معدنی، ترکیبات زیستی فعال و پلی ساکاریدهای مختلفی می‌باشد. جلبک‌ها همچنین منابع غنی از انواع رنگدانه‌های آنتی اکسیدانی نظیر فوکوزانتین، کلروفیل a و b، بتاکاروتن، زانتوفیل‌ها، فلاونوئیدها 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 همچنین 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 می‌شود. 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 گرانشی 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 ریزپوشانی ضعیف است. بنابراین جهت رفع این مشکل، معمولاً در ترکیب با مواد بیوپلیمری دیگری همچون پروتئین‌هایی مانند کنستانتره پروتئین آب پنیر مورد استفاده قرار می‌گیرند [۳، ۹]. گزارش شده است که عصاره متانولی جلبک‌های دریایی *Sargassum polycystum* و *Laurencia obtusa* پتانسیل مناسبی به عنوان آنتی اکسیدان 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

۱-۳-۲- 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 ۶۴۵ و ۶۶۳ nm و برای کاروتنوئیدها در طول موج ۴۷۰ nm با دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری و نهایتاً با فرمول‌های زیر محاسبه گردیدند [۱۱].

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

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

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

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

۲-۳-۲- ترکیبات فنل

ابتدا ۰/۵ml عصاره جلبکی با ۱۰۰ میکرولیتر از معرف فولین سیوکالتیو ۱۰٪ مخلوط شده و سپس ۴ml 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 ۷۶۵nm 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.

۳-۳-۲- ترکیبات فلاونوئیدی

برای اندازه‌گیری فلاونوئیدها ابتدا ۰/۵ml 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 بلافاصله در دستگاه اسپکتروفوتومتر با طول موج ۴۵۰nm 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

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 جمع‌آوری گردید. روغن ماهی کیلکا (فاقد هرگونه افزودنی و آنتی‌اکسیدان) از اداره شیلات بندر انزلی تهیه شد. آنتی‌اکسیدان مصنوعی TBHQ از شرکت Sigma-Aldrich و سایر مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت Merck خریداری شدند.

۱-۲-۲- آماده‌سازی 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.

۲-۲-۲- استخراج رنگدانه از جلبک

مقدار ۶ kg جلبک در آن با دمای ۴۰°C به مدت ۲۴ 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 ۳۰۰۰ 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 ۲g استفاده گردید. در نهایت رنگدانه‌های حاصل، در حالت خشک در ظرف شیشه‌ای پر شده با گاز بی‌اثر نیتروژن، در دمای ۱۵°C- و در شرایط کاملاً تاریک تا زمان استفاده نگهداری شدند [۹].

۳-۲- شناسایی و تعیین کمی ترکیبات

عصاره رنگدانه جلبک

۲۴ ساعت لایه کرمی کدر و غیر شفاف در بالا و لایه سرمی شفاف (یا کدر) در پایین لوله آزمایش با چشم تفکیک شد. پس از ۲۴ ساعت، ارتفاع فاز پایینی (سرم) در نمونه اندازه‌گیری شده و نتایج به صورت شاخص کرمی شدن با استفاده از رابطه زیر تعیین گردید [۱۵].

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

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

۲-۶-۲- تعیین ویسکوزیته

ویسکوزیته ظاهرینمونه‌های امولسیون بلافاصله پس از تهیه آن‌ها با استفاده از ویسکومتر چرخشی بروکفیلد (مدل RVDV- II⁺، کشور آمریکا) بر حسب mPa.s اندازه‌گیری شد. ویسکوزیته در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، در سرعت برشی 4×10^3 تعیین شد. در انجام آزمون از دوک SC4-31 به عنوان پروب سنجش استفاده گردید [۱۶].

۲-۷- خشک کردن انجمادی

امولسیون تهیه شده ابتدا به مدت ۲۴ ساعت در دمای 70°C 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 آن چینی به آرامی پودر شدند. پودر رنگدانه به طور مستقیم در دمای 15°C 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 [۱۶]. بدین منظور، مقدار ۲ g از پودر حاصل در آون با دمای 105°C به مدت یک شبانه‌روز قرار داده شد و سپس میزان رطوبت با فرمول زیر محاسبه گردید:

فلاونوئیدها، معادل کوئستین، در یک میلی‌لیتر از عصاره جلبکی گزارش شد.

۴-۲- سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی با DPPH

به منظور بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی از روش مهار کنندگی رادیکال آزاد ۲ و ۲-دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) به روش اسپکتروفتومتری استفاده شد. محلول DPPH در 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 520nm است. در این مطالعه، برای ارزیابی میزان فعالیت آنتی-اکسیدانی عصاره استونی جلبک سارگاسوم، ۲ ml از ۱۰۰ DPPH میکرومولار محلول در متانول با ۲ ml از عصاره جلبکی مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری گردید. جذب نمونه بلافاصله در طول موج 520nm با دستگاه اسپکتروفتومتر سنجش شده و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی با فرمول زیر محاسبه گردید [۱۳].

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

که در اینجا، AD درصد جذب نمونه و AS درصد جذب شاهد در 520nm است.

۲-۵- تهیه نانوامولسیون

ابتدا جهت تهیه امولسیون ترکیب مواد دیواره‌ای با نسبت (۵۰:۵۰) مالتو دکستروزین و کنستانتره پروتئین آب پنیر در آب دیونیزه حل گردید، ۱ g توپین ۸۰ به عنوان امولسی‌فایر به مخلوط اضافه شد. غلظت کل ماده جامد حل شده ۴۰٪ در نظر گرفته شد. سپس عصاره رنگدانه جلبک به نسبت ۱:۴ به محلول اضافه و با هموژنایزر التراتورکس به مدت ۱۰ دقیقه و در دور 15000rpm کاملاً هموژن شده و امولسیون یکنواخت به دست آمد [۱۴].

۲-۶- آزمون‌های مرتبط با سنجش خواص

نانوامولسیون

۲-۶-۱- ثبات امولسیون

مقدار ۱۰ ml از نمونه امولسیون به درون استوانه مدرج انتقال داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری گردید. پس از

حال خود رها و سپس به آنها ۰/۱ ml محلول ۳۰ درصد تیوسیانات آمونیوم اضافه گردید. آنگاه جذب نور در طول موج ۵۰۰ nm 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 (میلی لیتر) تیوسولفات توسط نمونه‌ها و بلانک است، و m نیز میزان روغن (گرم) می‌باشد.

۲-۹-۲- اندازه‌گیری شاخص آنیزیدین

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

$$AV = \frac{[25 \times (1.2 A_s - A_b)]}{m}$$

که در اینجا، AV بیانگر مقدار آنیزیدین است.

۲-۱۰- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری با نرم افزار SPSS انجام 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

$$H = \frac{(m_0 - m_1)}{m_0} \times 100$$

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 (PDI)

جهت بررسی اندازه و پراکنندگی ذرات ریزکپسول‌های تولید شده از دستگاه مخصوص اندازه‌گیری ذرات (دستگاه انکسار نور لیزر؛ مدل Zetasizer nano، ساخت شرکت Malvern، انگلستان) استفاده شد. به طور خلاصه، مقدار ۱ g از پودر در ۱ میلی لیتر 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 پارآنیزیدین 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 ۱۰۰ mg توزین و به آنها ۹/۸ ml مخلوط کلروفورم : متانول (به نسبت ۷:۳) اضافه شد. سپس ۰/۱ ml سبب ۰/۱ محلول ۰/۰۲ مولار کلریدفرو در اسید کلریدریک ۱۰٪ اضافه شد. نمونه‌ها پس از هم‌زدن، سه دقیقه به

2. poly disparity index

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

۲-۳- 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 امولسیون‌ها ایجاد نگردد. 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 به‌سزایی 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 امولسیون $670 \pm \text{mPa.s}$ محاسبه گردید. مطالعات پیشین نشان دادند که پروتئین‌ها نقش به‌سزایی 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

تیمارهای مختلف از آزمون Duncan در سطح $p < 0.05$ 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 (۲۸۰-۳۲۰ nm) و UV-A (۳۲۰-۴۰۰ nm) قرار دارند [۲۲]. بنابراین، این ارگانسیم‌های 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 [۲۴]. در این پژوهش مشخص گردید که عصاره جلبکی سارگاسوم حاوی منابع آنتی‌اکسیدانی از جمله کاروتنوئیدها، فنل-ها و فلاونوئیدها است و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مناسبی دارد (براساس مقدار TBHQ). مقدار ترکیبات فنل و فلاونوئید کل در این مطالعه به ترتیب حدود ۸۴ و ۴ mg GA/Eg برآورد شد. مشخص شده است که ترکیبات فنل غالب‌ترین متابولیت‌های ثانویه در جلبک‌های سارگاسوم هستند [۲۵]؛ اما به هر حال مقادیر این ترکیبات به کیفیت و شدت نور، شوری، غلظت مواد غذایی و فصل سال بستگی دارد [۲۶]. 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

در این تحقیق میزان رطوبت، راندمان ریزپوشانی و اندازه ذرات در پودرهای حاصل از خشک کردن انجمادی امولسیون عصاره جلبکی حاوی ترکیب WPC+M به ترتیب به میزان $0.32 \pm$ درصد، $2.13 \pm$ درصد، 565.30 ± 62.41 nm و 79.10 ± 9.33 درصد در جدول ۲ و شکل ۱ مشخص است. سطح رطوبت ترکیبات ریزپوشانی شده به تعداد گروه‌های پیوند دهنده با آب در مولکول‌های 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 [۳۶]، در شرایط مناسب، رطوبت پودرهای ریزپوشانی شده بایستی کمتر از ۵٪ باشد. بنابراین مشخص است که فرآیندهای مربوط به خشک کردن 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 ریزپوشانی شده نقش تعیین‌کننده دارد، چرا که مقدار بالای رطوبت موجب به هم چسبیدگی ذرات، تسریع رشد میکروبی و اکسیداسیون می‌گردد [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.

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

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

در این مطالعه از روش خشک کردن انجمادی به منظور تهیه میکروکپسول‌ها استفاده شد. خشک کردن انجمادی از سودمندترین و مناسب‌ترین روش‌ها برای خشک کردن و ریزپوشانی ترکیبات حساس به حرارت محسوب می‌شود. در مطالعات انجام شده توسط Reineccius و Buffo [۳۳] با هدف مقایسه روش‌های مختلف خشک کردن اعم از غلطکی، کابیتی، پاششی و انجمادی برای ریزپوشانی عصاره‌هپرتقال مشخص شد که پودر تهیه شده به روش خشک کردن انجمادی دارای خصوصیات مطلوب‌تری نسبت به پودر حاصل از سایر روش‌ها بوده است. محققان Minemoto و همکاران [۳۴] با بررسی روند اکسیداسیون متیل لینولات ریزپوشانی شده با دو روش خشک کردن در هوای داغ و خشک کردن انجمادی گزارش نمودند که خشک کردن انجمادی تأثیرات به مراتب بهتری داشته است؛ ریزپوشانی با خشک‌کن انجمادی موجب کندتر شدن سرعت اکسیداسیون و افزایش مدت نگهداری شده است [۳۴].

Table 2 Physicochemical characteristics of encapsulated *Sargassum sp.* extract

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

۳-۴- فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک

ریزپوشانی شده

مقادیر اندازه‌گیری شده از شاخص‌های پراکسید و پارآگزیدین نمونه‌های روغن ماهی حاوی آنتی‌اکسیدان‌های مختلف شامل عصاره جلبک، عصاره جلبک ریزپوشانی شده با WPC+M، و آنتی‌اکسیدان تجاری TBHQ در طول نگهداری به مدت ۱۵ روز در جدول‌های ۳ و ۴ ارائه شده است. با توجه به نتایج حاضر می‌توان دریافت که مدت زمان نگهداری تأثیر معنی‌داری بر مقادیر پراکسید و پارآگزیدین داشته است ($p < 0.05$)؛ به طوری که با گذشت زمان، مقادیر این شاخص‌ها در تمامی تیمارها

Z-Average (d.nm):	Diam. (nm)	% Intensity	Width (nm)
565.3	Peak 1: 386.7	57.8	62.41
Pdl: 0.335	Peak 2: 1774	42.2	371.5
Intercept: 0.628	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

Result quality : Good

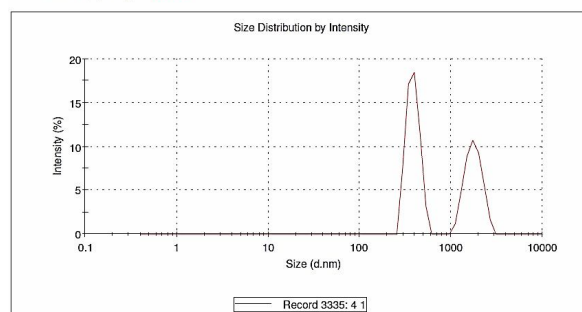


Fig 1 Typical particle size distribution of encapsulated *Sargassum sp.* extract with composed wall materials of maltodextrin (M) and whey protein concentrate (WPC).

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 پارآنیزیدین)، تیمارهای غنی شده با پودر TBHQ یا WPC+M 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.

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 پارآنیزیدین 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

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± ^{ad} 0.08	4.60± ^{ac} 0.02	4.74± ^{ac} 0.72	9.55± ^{ab} 0.55	11.33± ^{aA} 0.03	10.07± ^{ab} 0.08
Oil-2.5% extract	2.11± ^{abD} 0.02	2.17± ^{bd} 0.59	2.39± ^{cdD} 0.28	3.13± ^{bc} 0.26	6.35± ^{cb} 0.57	8.63± ^{ba} 0.43
Oil-5% extract	2.05± ^{bd} 0.04	2.19± ^{bd} 0.27	2.57± ^{bcdD} 0.37	3.89± ^{bc} 0.29	7.11± ^{ba} 0.33	6.59± ^{cb} 0.30
Oil-2.5 E-extract	2.08± ^{abD} 0.07	1.95± ^{bDE} 0.13	1.89± ^{de} 0.07	4.18± ^{bc} 0.08	4.62± ^{cb} 0.06	4.79± ^{deA} 0.08
Oil-5%E-extract	2.12± ^{abD} 0.08	2.28± ^{bd} 0.18	3.20± ^{bc} 0.36	3.91± ^{bb} 0.11	5.21± ^{da} 0.09	5.03± ^{deA} 0.33
Oil-2.5% TBHQ	2.07± ^{abC} 0.06	1.84± ^{bc} 0.10	2.23± ^{cdC} 0.28	3.79± ^{bb} 0.30	4.23± ^{eAB} 0.28	4.44± ^{eA} 0.38
Oil-5% TBHQ	2.07± ^{abD} 0.03	2.14± ^{bd} 0.17	2.79± ^{bcC} 0.21	3.14± ^{cc} 0.16	4.38± ^{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± ^{af} 0.20	8.38± ^{af} 1.55	12.09± ^{ad} 0.36	17.11± ^{ac} 0.30	24.48± ^{ab} 0.37	31.90± ^{aA} 0.71
Oil-2.5% extract	2.52± ^{cdD} 0.10	3.32± ^{bd} 0.44	5.57± ^{bcd} 0.70	8.12± ^{cdC} 1.02	12.17± ^{bcB} 3.78	15.85± ^{bcA} 2.90
Oil-5% extract	2.38± ^{eE} 0.06	4.76± ^{bDE} 0.92	6.51± ^{bd} 0.43	10.59± ^{bcC} 2.88	16.08± ^{bb} 1.09	18.96± ^{ba} 1.04
Oil-2.5 E-extract	2.82± ^{abE} 0.08	3.93± ^{bd} 0.44	6.03± ^{bc} 0.27	7.59± ^{deB} 0.28	8.53± ^{cdB} 1.24	12.20± ^{deA} 0.62
Oil-5%E-extract	2.70± ^{bcE} 0.05	5.81± ^{bd} 0.50	6.35± ^{bd} 1.52	10.88± ^{bc} 0.89	12.89± ^{bcB} 0.17	15.36± ^{cdA} 1.76
Oil-2.5% TBHQ	2.43± ^{cC} 0.23	4.92± ^{bBC} 3.01	4.91± ^{bBC} 0.69	6.97± ^{eb} 0.35	7.03± ^{dB} 2.72	11.62± ^{eA} 3.26
Oil-5% TBHQ	2.37± ^{cd} 0.07	4.01± ^{bcd} 0.45	5.86± ^{bc} 1.44	9.54± ^{bcdB} 1.58	11.13± ^{cdB} 3.72	15.04± ^{edeA} 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).

به شرایط اکسیداسیون مواد غذایی به دنبال ریزپوشانی در مطالعات گذشته نیز گزارش شده است [۳۹، ۱۵]. 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 بوده به سایر ترکیبات همچون 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

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 شاخص‌های اکسیداتیو مواد غذایی است و بیشتر بودن آن در نمونه‌های شاهد نشان از اکسیده‌شدن بیشتر آن می‌باشد [۱۴]. بهبود مقاومت

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٪ و ۵۶۵/۳۰ nm محاسبه گردید. بررسی مقایسه‌ای بین عصاره جلبک کپسوله و غیر کپسوله حاکی از تأثیرگذاری معنی‌دار عصاره جلبکی ریزپوشانی- شده با ترکیب دیواره‌ای WPC+M در روند اکسیداسیون روغن بوده که عملکردی مشابه با آنتی‌اکسیدان سنتزی داشت. بنابراین، می‌توان بیان نمود نانوکپسول‌های عصاره جلبک سارگاسومی- توانند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی به طور موفقیت‌آمیز در سیستم‌های مدل غذایی مورد استفاده قرار گیرند.

۵- 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 and Women'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 *Grateloupia filicina* 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

مشاهده گردید. مطالعات پیشین نشان دادند که نوع ماده دیواره می‌تواند نقش مهمی در شدت ثبات اکسیداتیو محصول داشته باشد [۴۲]. 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 به‌سزایی بر کاهش اکسیداسیون پودرها داشته است. با بررسی نتایج مشخص است که عملکرد روغن ماهی حاوی عصاره‌های جلبکی ریزپوشانی‌شده با WPC و تیمار TBHQ 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 [۴۳]. معرف آنیزیدین با محصولات حاصل از اکسیداسیون همانند آلدهیدها (به طور اساسی ۲-آلکان‌ها و ۲-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 عواملی همانند فعالیت آبی، وجود اکسیژن و وجود آنتی‌اکسیدان می‌باشد [۴۴]. 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 [۴۵].

۴- نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره استونی جلبک دریایی سارگاسوم حاوی مقادیر قابل توجهی از کاروتنوئیدها، ترکیبات فنل و فلاونوئیدها است که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. امولسیون تهیه شده از عصاره جلبکی با پوشش

- [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] Naczki, 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.

- 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 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

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 method with 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.s and 59.530 ± 62.4 nm, respectively. Fish oil enriched with encapsulated *Sargassum* sp. Extract and TBHQ showed lowest level of peroxide value and para-anisidine among all treatments during 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 Address: mahdi_ojagh@yahoo.com