

# تهیه نانوحامل‌های بیوپلیمری کیتوزان / صمغ عربی با روش کوآسرواسیون؛ ارزیابی خصوصیات فیزیکی، ریزساختاری / ملکولی و بررسی اثر آن‌ها بر بهبود پایداری اکسایشی روغن ماهی کیلکا (*Clupeonella cultiventris*)

سید ابراهیم مرادی<sup>۱\*</sup>، عباسعلی مطلبی<sup>۲</sup>، سید مهدی جعفری<sup>۳</sup>، حمیدرضا شاه محمدی<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی دکتری فرآوری محصولات شیلاتی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، مرکز ملی تحقیقات فرآوری آیزیان، بندر انزلی

۲- استاد، بهداشت مواد غذایی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

۳- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۴- استادیار، فرآوری محصولات شیلاتی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

(تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۲/۲۸)

## چکیده

مطالعه حاضر با هدف تولید نانوحامل‌های ترکیبی از کیتوزان و صمغ عربی حاوی روغن ماهی کیلکا و ارزیابی خصوصیات فیزیکی، ریزساختاری/ملکولی و همچنین بررسی پایداری اکسایشی آنها انجام گرفت. بدین منظور نانوحامل‌های روغن ماهی کیلکا به شکل خالص (KO) و نانوامولسیون شده (KONE) با نسبت ۴:۱ هسته: دیواره و با استفاده از نسبت‌های مختلف کیتوزان (CH) و صمغ عربی (AG) (۱:۱، ۱:۲ و ۲:۱) و مالتودکسترین (MD) به عنوان پرکننده به روش کوآسرواسیون تولید شدند. ویژگی‌های مختلف نانوحامل‌های تولیدشده شامل اندازه ذرات امولسیون، کارایی ریزپوشانی، رهایش، XRD و FTIR نانوحامل‌های تولیدی و همچنین شاخص‌های پایداری اکسیداتیو شامل PV و TBA مورد ارزیابی قرار گرفتند. طبق نتایج، کمترین میزان اندازه ذرات و بیشترین میزان کارایی ریزپوشانی در تیمار ترکیبی کیتوزان و صمغ عربی با نسبت ۱:۱ مشاهده گردید. تفاوت معنی‌داری از نظر میزان رهایش بین تیمارها مشاهده نشد و در همه تیمارها الگوی رهایش روند مشابهی نشان داد. نتایج حاصل از FTIR و XRD حضور و ریزپوشانی مطلوب روغن ماهی در نانوحامل‌های بیوپلیمری را تایید کرد. نتایج حاصل از نگهداری پودرها طی ۲۸ روز در دمای ۳۵ درجه نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار مقادیر شاخص‌های PV و TBA بود؛ میزان PV و TBA در تیمار شاهد در روز ۲۸ نگهداری به طور قابل توجهی بیشتر از سایر تیمارها بود که در این رابطه مشاهدات نشان داد پایداری اکسایشی روغن ماهی کیلکا در نانوحامل‌های کیتوزان/صمغ عربی به طور قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت.

کلید واژگان: نانوحامل، روغن ماهی کیلکا، پایداری اکسایشی، FTIR، XRD.

\*مسئول مکاتبات: Ebrahim\_moradi2012@yahoo.com

## ۱- مقدمه

بیماری‌های قلبی-عروقی از مهمترین عوامل مرگ و میر در جوامع بشری می‌باشند و به عنوان یکی از مشکلات بزرگ جهانی مطرح می‌باشند و از این بابت نگرانیها در حال افزایش است [۱-۳]. در این راستا شواهد اپیدمیولوژیکی نشان دادند که چربی‌های با منشأ دریایی بخاطر دارا بودن اسیدهای چرب چند غیر اشباع نظیر ایکوزا پنتانویک اسید و داکوزا هگزانویک اسید دارای اثرات محافظتی در مقابل بیماری‌های قلبی-عروقی می‌باشند [۱، ۲]. از جمله دیگر فوائد این ترکیبات مهم زیستی می‌توان به تأثیر مثبت آنها در توسعه شبکه عصبی و سلامت قلب (خواص ضد التهاب و تنظیم ضربان قلب) و عروق اشاره کرد [۴]. مطالعات پیشین گزارش نمودند که اسیدهای چرب امگا-۳ حاصل از روغن ماهی عملکرد مغز را افزایش داده و می‌توانند از بروز بیماری‌هایی از قبیل اختلالات واکنش‌های ایمنی و ناهنجاری شبکه چشم جلوگیری کنند [۵، ۶]. همچنین رژیم‌های غذایی حاوی روغن ماهی می‌توانند با جلوگیری از تولید پروستاگلاندین‌ها باعث کاهش بروز و انتقال بیماری، بهبود بیماریها و حساسیت‌های تنفسی، کاهش آلزایمر، کاهش التهاب، ارتقاء واکنش‌های ایمنی، کمک به درمان بیماری‌های رماتیسمی و دیابت [۲]، توسعه و رشد جنین، جلوگیری از بروز بیماری‌ها و اختلالات فیزیکی-حرکتی شوند [۷]. با این وجود با توجه به عدم وجود ذائقه مصرف ماهی و فرآورده‌های دریایی در تمامی افراد و نبود دسترسی کافی به این منابع در مناطق مختلف و همچنین به خاطر کمبود منابع دارای این اسیدهای چرب، مصرف آنها بطور کلی پایین است [۷]؛ حتی در کشورهای توسعه یافته مصرف اسیدهای چرب امگا-۳ پایین‌تر از مقدار مورد احتیاج برای مصرف روزانه افراد می‌باشد [۸]. بنابراین امروزه توجهات به تولید محصولات غذایی و نوشیدنی‌های غنی‌شده با روغن ماهی به عنوان راهکاری در جهت بهبود مصرف سرانه اسیدهای چرب امگا-۳ افزایش یافته‌است [۴]. در این راستا افزودن روغن ماهی به فرمولاسیون‌های تغذیه‌ای به دلیل وجود عواملی از قبیل حلالیت پایین در آب، حساسیت بالا به فساد اکسیداتیو و اثرات منفی در خواص حسی محدود شده است [۹، ۱۰]. امروزه ریزپوشانی به عنوان تکنیکی مؤثر در پیشگیری از اکسایش اسیدهای چرب امگا-۳ و کنترل عطر و بوی نامطلوب شناخته شده است. فرآیند ریزپوشانی به عنوان

تکنولوژی بسته بندی مواد جامد، مایع و گاز در حامل‌های کوچک می‌باشد که محتویات خود را به صورت تدریجی در بازه زیاد زمانی رها می‌کنند [۱۱]. تکنیک‌های مورد استفاده برای ریزپوشانی عناصر زیست فعال شامل امولسیون سازی، جدایش فازی (کوآسرواسیون)، خشک کردن پاششی، مایع فوق بحرانی، بستر سیال و اکستروژن می‌باشند. کوآسرواسیون (توده ای شدن) شامل دو نوع کوآسرواسیون ساده و کوآسرواسیون مرکب (ترکیبی) می‌باشد. در کوآسرواسیون ساده از یک نوع بیوپلیمر استفاده می‌شود ولی در کوآسرواسیون مرکب از دو یا چند نوع پلیمر استفاده می‌شود. در واقع کوآسرواسیون ترکیبی فعل و انفعال الکترواستاتیک بین پلیمرهای با بارهای ناهمنام می‌باشد [۱۲].

مواد قابل کاربرد در دیواره ریزحامل‌ها بسته به نوع کاربری و سیستم هدف، قابلیت انتخاب از دامنه وسیعی از ترکیبات طبیعی و سنتزی را دارا می‌باشند [۱۳]. تحقیقات نشان داده‌اند که بیوپلیمرها به علت حلالیت بالاتر در آب و حفاظت بیشتر از محموله نسبت به پوشش‌های لیپیدی دارای ارجحیت می‌باشند، و از طرفی ثابت شده است که کمپلکس بین بیوپلیمرهای پروتئینی و پلی-ساکاریدی، پایداری بیشتری نسبت به بیوپلیمر تنها دارد [۱۴].

کیتوزان  $\beta$ -D-(1,4)-2-amino-2-deoxy-D-galactopyranose یک پلی ساکارید خطی حاصل از استیل زدایی کیتین می‌باشد که بعد از سلولز فراوان ترین پلی ساکارید موجود در طبیعت می‌باشد. کیتوزان به عنوان یک ترکیب غیر سمی، زیست سازگار، زیست فعال، زیست تخریب پذیر شناخته شده است و مطالعات متعددی خواص ضد میکروبی، ضد اکسایشی و ضد قارچی آن را گزارش کرده‌اند [۱۵-۲۰].

صمغ عربی پلی ساکاریدی شاخه دار و ماده تراوش شده از درخت آکاسیا می‌باشد که از واحدهای ساختمانی L-آرابینوز، L-رامنوز، D-گالاکتوز و D-گلوکورونیک اسید تشکیل شده است. این صمغ در آب بسیار محلول بوده و به راحتی در آب حل می‌شود. بر خلاف بسیاری از پلی ساکاریدهای دیگر که در غلظت‌های کم موجب افزایش زیاد ویسکوزیته می‌شوند، افزایش ویسکوزیته در غلظت‌های پایین صمغ عربی کم می‌باشد. از صمغ عربی در سیستم‌های غذایی هم به منزله امولسیون‌کننده و هم پایدارکننده استفاده می‌شود [۲۱، ۲۲].

شد. ترکیب حاصل با اولتراسوند ( Sonopuls HD-4200, Bandelin, Germany) به مدت ۶ دقیقه در شرایط ۸۰٪ قدرت دستگاه و ۴۰ KHz هموزن گردید. امولسیون حاصل بلافاصله برای تعیین اندازه ذرات با روش پراکندگی دینامیکی نور (DLS)<sup>۱</sup> (Horiba, SZ-100, Japan) مورد ارزیابی قرار گرفت.

## ۲-۲- تهیه محلول های بیوپلیمری

نانوامولسیون های بیوپلیمری بر اساس روش De souza و همکاران [۲۶]، با کمی تغییر صورت گرفت. محلول ۱٪ (وزنی/حجمی) کیتوزان (CH) به وسیله حل کردن کیتوزان در اسید استیک و همچنین محلول ۱٪ (وزنی/حجمی) صمغ عربی (AG) با حل کردن این ترکیب در آب مقطر حاصل شد. در این مرحله pH با استفاده از HCL و NaOH بر روی عدد ۷ ثابت شد. محلول ها سپس به مدت ۵ ساعت با استفاده از همزن (۴۰۰ دور در دقیقه) در دمای محیط به هم زده شدند تا محلول هایی یکنواخت حاصل شد. در مرحله بعد به منظور جذب کامل آب، محلول ها به مدت یک شب در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

## ۲-۳- تهیه بیوپلیمر های ترکیبی

روغن ماهی کیلکا در دوشکل خالص (KO) و نانوامولسیون- شده (KONE) به صورت جداگانه به عنوان مواد هسته ای انتخاب شدند و مواد دیواره ای (کیتوزان + صمغ عربی) با نسبت های ۱:۱، ۱:۲ و ۲:۱ مورد استفاده قرار گرفتند. به این ترتیب که ابتدا به مقدار مشخصی (بر اساس میزان نیاز ماده خشک) از محلول های پایه کیتوزان تهیه شده در مرحله قبل روغن ماهی در فرم های ذکر شده به صورت جداگانه افزوده شد. سپس ترکیبات حاصل با کمک همزن ساز (Ultra-IKA digital Turrax T25) به مدت ۲ دقیقه در ۶۰۰۰ دور در دقیقه مورد هموزن قرار گرفتند. سپس به امولسیون های حاوی کیتوزان محلول از پیش ساخته صمغ عربی با رعایت نسبت- های ذکر شده در تیمارهای مختلف افزوده شد و سپس ترکیب حاصل نیز به مدت ۲ دقیقه در دور ذکر شده به هم زده شد. در مرحله بعد به تمامی ترکیب های حاصل شده تا این مرحله محلول مالتودکسترین به عنوان پرکننده به نسبت مساوی افزوده شد و امولسیون های نهایی با هموزنایزر اولتراسونیک به مدت

امروزه ریزپوشانی به عنوان تکنیکی مؤثر در پیشگیری از اکسایش اسیدهای چرب امگا-۳ ساخته شده است. از دیگر مزایای ریزپوشانی می توان به تبدیل روغن مایع به فرم جامد با قابلیت هندلینگ بالاتر (یک پودر سیال و روان جهت استفاده در فرآیندهای صنعتی نسبت به روغن ماهی امکان هندلینگ بیشتری دارد) نام برد [۲۳-۲۵] و از طرفی تبدیل روغن های خوراکی از فرم مایع به جامد یک کاربرد مهم در صنایع غذایی می باشد [۲۴].

دریای خزر به عنوان بزرگترین دریاچه جهان، دارای منابع عظیم و ارزشمندی از انواع ماهیان و آبزیان است. کیلکا یکی از انواع ماهیان موجود در دریای خزر است که امروزه به طور اقتصادی صید می شود. با این حال سالانه قسمت اعظم صید کیلکا به منظور تولید آرد ماهی تحویل کارخانه های آرد ماهی می گردد؛ درحالی که جامعه ما به چربی و پروتئین ماهی به دلیل خصوصیات ارزشمند آنها احتیاج بیشتری دارد. بنابراین ریزپوشانی روغن ماهی کیلکا و تولید محصولی که شرایط بکارگیری در سایر ترکیبات غذایی را دارا باشد، علاوه بر بهره- گیری از خواص منحصر به فرد فرآورده های دریایی و بخصوص اسیدهای چرب امگا-۳، امکان گسترش غذاهای فراسودمند با رویکرد افزایش سلامت جامعه افزایش پیدا می- کند؛ از طرفی از آنجایی که سرانه مصرف فرآورده های دریایی با توجه به دلایل ذکر شده در کشور پایین است ریزپوشانی روغن ماهی علاوه بر افزایش تنوع فرآورده های دریایی، امکان استفاده از این عنصر ارزشمند خوراکی را در سایر فرمولاسیون های تغذیه ای افزایش خواهد داد و از ماهی کیلکا به نحوی اقتصادی تر می توان بهره جست. لذا در تحقیق حاضر ریزپوشانی روغن ماهی کیلکا در ترکیب بیوپلیمری کیتوزان/صمغ عربی با روش کوآسرواسیون، با هدف افزایش پایداری و بهبود خواص حسی آن و بررسی برخی از خصوصیات نانوحامل های تولید شده مورد مطالعه قرار گرفته است.

## ۲- مواد و روش

### ۲-۱- تهیه نانوامولسیون روغن ماهی کیلکا

امولسیون روغن ماهی با محلول سازی روغن ماهی و توئین ۸۰ (به عنوان امولسیفایر) با نسبت ۱:۱۰ در آب مقطر حاصل

حامل‌ها با قرارگیری بر روی دریچه کریستال IR دستگاه در معرض تابش نور ناحیه فروسرخ قرار گرفته و طیف‌های FTIR از طول موج ۴۰۰ تا ۴۰۰۰  $\text{cm}^{-1}$  ثبت گردید.

۲-۷- کارایی ریزپوشانی

برای تعیین کارایی ریزپوشانی از روش Carneiro و همکاران [۲۷] استفاده شد.

### ۲-۷-۱- روغن سطحی

برای این منظور ۱/۵ گرم از نانوحامل‌ها به ۱۵ میلی‌لیتر هگزان درون یک ظرف درب دار افزوده شد و به مدت دو دقیقه در دمای اتاق با دست به هم زده شد. سپس محلول حاصل از یک کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شد. در مرحله بعد باقی مانده مواد ته نشین شده بر روی کاغذ صافی سه مرتبه با ۲۰ میلی‌لیتر هگزان شستشو داده شدند. سپس مواد بجا مانده در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد تا از دست دادن کامل رطوبت و رسیدن به یک وزن ثابت نگهداری شدند. اختلاف بین ۱/۵ گرم نمونه اولیه و نمونه نهایی بیان کننده میزان روغن سطحی است.

### ۲-۷-۲- اندازه‌گیری روغن کل

برای این منظور به ۵۰۰ میلی‌گرم از نانوحامل‌ها محلول ایزوپروپانول/هگزان به نسبت ۱ به ۳ افزوده شد و به مدت ۵ دقیقه با دست به هم زده شد. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دور ۸۰۰۰ سانتریفوژ گردید. در مرحله بعد فاز آلی شفاف جدا شد و محلول تا رسیدن به وزن ثابت (حلال زدایی) در دمای ۷۰ درجه نگهداری شد. فاز بجا مانده بیانگر میزان روغن کل بارگیری شده توسط نانوذرات می‌باشد.

کارایی ریزپوشانی بر اساس رابطه زیر محاسبه شد:

$$EE = \frac{TO - SO}{TO} \times 100$$

### ۲-۸- آزمون رهائش در محیط شبیه سازی

شده

این آزمون بر اساس روش دیما و همکاران ۲۰۱۶، انجام شد. به این ترتیب که ۲۵۰ میلی‌گرم از نانوذرات حاوی روغن ماهی به داخل لوله‌های حاوی ۶۰ میلی‌لیتر محلول فسفات بافر (pH=۷/۴) به همراه ۴۰ میلی‌لیتر اتانول (نسبت ۲:۳) وارد و در دمای محیط به مدت ۵ دقیقه تکان داده شد. سپس نمونه‌ها در فواصل زمانی مشخص (۳، ۶، ۹، ۱۲، ۲۴، ۴۸، و ۷۲ ساعت) به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در دور ۹۰۰۰

۶ دقیقه در شرایط ۸۰٪ قدرت دستگاه و ۴۰ KHz هموزن شدند. تهیه محلول‌ها بصورتی انجام گرفت که در ماده خشک نهایی سه بخش روغن، ترکیب بیوپلیمری (کیتوزان/صمغ عربی) و مالتودکستین با نسبت‌های ۲۰:۶۰:۲۰ (نسبت ۴ به ۱ دیواره به هسته) حضور داشتند. در طول این مرحله pH محیط به صورت ثابت بر روی عدد ۴ تنظیم شد. به منظور جلوگیری از افزایش دما و تجمع ذرات در طول مرحله هموزن کردن از حمام یخ استفاده گردید. همچنین تمامی تیمارها در سه تکرار حاصل شدند. پس از این مرحله ۵ سی سی از امولسیون‌های حاصل شده به منظور تعیین اندازه ذرات برداشته شد و مابقی آنها به مدت ۲۴ ساعت در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس به مدت ۷۲ ساعت در خشک کن انجمادی خشک گردیدند [۲۶].

### ۲-۴- تعیین اندازه ذرات

اندازه و نحوه توزیع ذرات امولسیون‌ها به وسیله روش پراکنندگی دینامیکی نور (DLS) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و زاویه پراکنش ۱۷۳ درجه بررسی شد.

### ۲-۵- آزمون پراش پرتو ایکس ( $^2\text{XRD}$ )

پراش پرتو ایکس برای مطالعه ساختار بلوری مواد استفاده می‌شود. بدین منظور نمونه‌ها روی نگهدارنده (نگهدارنده سیلیکونی بدون پیک زمینه) ثابت شدند و در معرض پرتو X با طول موج ۱/۵۴۰۵۶ آنگستروم قرار گرفتند. مولد پرتو X در ۴۰ kV و ۲۰ mA و W2200 تنظیم شد. پرتوهای بازتابشی از نمونه توسط ماده آندی مس در دمای محیط و در محدوده زاویه ۵۰° - ۲ = ۲θ با سرعت انجام ۰/۰۴ درجه بر دقیقه مورد سنجش قرار گرفتند.

### ۲-۶- آزمون طیف سنجی تبدیل فوریه مادون

#### قرمز ( $^3\text{FTIR}$ )

به منظور انجام این آزمون حدود ۲ میلی‌گرم نمونه نانوذرات حاوی روغن ماهی را در یک هاون از جنس عقیق به پودری کاملاً نرم تبدیل کرده و سپس حدود ۱۰ میلی‌گرم پودر برمید پتاسیم به آن افزوده شد. این مخلوط کاملاً همگن شده و به کمک یک قالب مخصوص و با کمک فشار به صورت یک قرص نازک و شفاف در آورده شد. قرص‌های تهیه شده از نانو

2. X-Ray Diffraction
3. Fourier Transform infrared

مقدار جذب (As) در ۵۳۲ نانومتر در مقابل شاهد آب مقطر (Ab) خوانده شد. میزان تیوباریتوریک اسید (میلی گرم مالون-دی آلدئید در کیلوگرم نمونه در روزهای صفر، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۰، ۲۴ و ۲۸) بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید: [۲۹]

$$TBA = \frac{(As - Ab) \times 50}{200}$$

## ۲-۱۰- آنالیز آماری

به منظور مقایسه و تعیین اختلاف معنی دار بین گروه‌ها از تجزیه واریانس یک طرفه و جهت مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. آنالیز در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SPSS 16.0 صورت پذیرفت. تمامی تیمارها در سه تکرار انجام گرفتند.

## ۳- نتایج و بحث

### ۳-۱- اندازه ذرات (DLS)

نتایج بدست آمده از آنالیز اندازه ذرات توسط روش پراکندگی دینامیکی نور در جدول انمایش داده شده است. همانگونه که مشاهده می‌شود اندازه ذرات نانوامولسیون روغن ماهی کیلکا ۷/۲ نانومتر بود.

در رابطه با نانوامولسیون‌های تشکیل شده از ترکیبات بیوپلیمری؛ کمترین اندازه ذرات در امولسیون مرکب از کیتوزان-صمغ عربی با نسبت ۱:۱ مشاهده شد. بطور کلی بررسی میانگین اندازه ذرات بدست آمده نشان می‌دهد که نانوامولسیون‌های بیوپلیمری حاوی نانوامولسیون روغن ماهی کیلکا در مقایسه با نانوامولسیون‌های بیوپلیمری حاوی روغن ماهی کیلکا دارای میانگین اندازه ذرات کوچکتری می‌باشند به طوری که اندازه ذرات در تمامی نانوامولسیون‌های بیوپلیمری حاوی روغن ماهی کیلکا در محدوده بالای ۱۰۰ نانومتر مشاهده گردیده است در صورتی که اندازه ذرات در نمونه های حاوی نانوامولسیون روغن ماهی کیلکا در اکثر نمونه‌ها در محدوده پایین تر از ۱۰۰ نانومتر مشاهده شد. این پدیده را می‌توان به اثر مثبت توئین ۸۰ در اعمال خاصیت امولسیون کنندگی و پخش بهتر ذرات روغن در محیط امولسیون نسبت داد. ترکیب پذیری پلی الکترولیت‌ها به طور کلی به فعل و انفعالات الکتروستاتیک بین آنها بستگی دارد. بنابراین پارامترهایی از قبیل pH مناسب و نسبت اختلاط پلیمرها به عنوان یک قاعده عمومی برای تشکیل نانو ذرات به صورت

سانتریفوژ شدند. در مرحله بعد ۲ سی سی از مایع رومانده به منظور آزمایش برداشته شد و حجم برابری از محیط تازه جایگزین آن شد. میزان رهائش روغن ماهی با استفاده از اسپکتروفوتومتر در طول موج ۲۷۳ نانومتر اندازه گیری شد و غلظت روغن ماهی در محیط رهائش در هر نقطه زمانی با استفاده از منحنی کالیبراسیون روغن آزاد شده در محلول فسفات بافر و اتانول مورد ارزیابی قرار گرفت. درصد تجمعی رهائش روغن ماهی با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید: [۲۸]

$$\text{Cumulative release percentage} = \sum_{t=0}^t \frac{Mt}{M0} \times 100$$

### ۲-۹- شاخص‌های اکسایش

به منظور بررسی شاخص‌های اکسایش روغن ماهی موجود در نانوذرات، نمونه‌ها به مدت ۲۸ روز در دمای ۳۵ درجه سانتی-گراد نگهداری شدند و طی این مدت هر چهار روز یک بار شاخص‌های پراکسید و تیوباریتوریک اسید مورد سنجش قرار گرفتند.

### ۲-۹-۱- پراکسید (PV)

۲۰ گرم از نانوحامل‌های حاوی روغن ماهی کیلکا در ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته و حدود ۲۵ میلی‌لیتر از محلول اسید-استیک کلروفرمی (نسبت اسیداستیک به کلروفرم ۲:۳) به محتویات ارلن اضافه گردید. سپس ۰/۵ میلی لیتر از محلول یدور پتاسیم اشباع و ۳۰ میلی لیتر آب مقطر به همراه ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نشاسته یک درصد به محتویات ارلن افزوده شد. محلول ید آزاد شده با تیوسولفات سدیم ۰/۱. نرمال تیترو گردید. میزان پراکسید (روزهای صفر، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۰، ۲۴ و ۲۸) با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$PV = \frac{100 \times \text{نرمالیت} \times \text{حجم تیوسولفات مصرفی}}{\text{وزن نمونه}}$$

### ۲-۹-۲- تیوباریتوریک اسید (TBA)

۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه پودر به یک بالن ۲۵ میلی‌لیتری معرفی شد و سپس با ۱-بوتانول به حجم رسانده شد. ۵ میلی‌لیتر از این ترکیب به لوله‌های خشک درب‌دار منتقل شد و به آن ۵ میلی‌لیتر معرف TBA افزوده شد. لوله‌های درب‌دار در حمام آب با دمای ۹۵ درجه‌سانتی‌گراد به مدت دو ساعت قرار گرفتند. پس از خارج کردن در دمای محیط سرد شدند و سپس

اساس مطالعات Assadpour و همکاران [۳۴] نیز عنوان شده است که یکی از پارامترهایی که به طور اساسی واکنش پذیری امولسیون‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد غلظت سورفکتانت می‌باشد.

**Table 1** Particle size of fish oil nanoemulsion and nanoemulsions produced with different ratios of Arabic gum: chitosan.

Treatment	Particle size (nm)
KONE	7.2±0.4
KO+CH1+AG1	128.2±26.9
KO+CH1+AG2	148.5±8.6
KO+CH2+AG1	107.8±21.6
KONE+CH1+AG1	49.3±2.8
KONE+CH1+AG2	109.8±21.1
KONE+CH2+AG1	64.3±12.8

Data are expressed as mean ± standard deviation (n = 3).

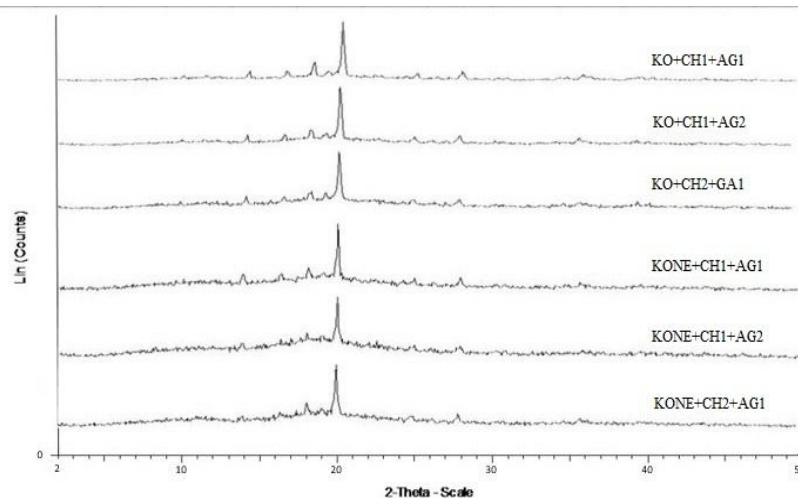
### ۳-۲- آزمون پراش پرتو ایکس (XRD)

نتایج بدست آمده از آزمون پراش پرتو ایکس نانوحامل‌های تولیدی از ترکیب کیتوزان و صمغ عربی در شکل ۱ زیر نشان داده شده است. پراش پرتو ایکس برای آنالیز درجه کریستالیزاسیون و یا آمورف بودن ساختار نانوحامل‌ها مورد استفاده قرار گرفت. به طور کلی پیک‌های نوک تیز و کم عرض نشان دهنده وجود ساختار کریستالی و پیک‌های پهن نشان دهنده ساختار آمورف می‌باشد و ذرات فاقد شکل منظم می‌باشند [۳۵]. وسعت پیک‌های منحنی XRD نشان دهنده اندازه کریستال‌ها می‌باشد و کریستال‌های ناقص و نامنظم ممکن است باعث ایجاد پیک‌های عریض در منحنی‌های XRD شوند [۳۶]. همانگونه که در منحنی‌های XRD مشخص است منحنی‌های حاصل از تمامی تیمارها پیک‌های نوک تیزی در نواحی مختلف دارند. بنابراین تصور ساختاری بلوری و کریستالی برای نانوحامل‌های حاصل از کیتوزان و صمغ عربی صحیح به نظر می‌رسد. طبق مشاهدات گذشته منحنی XRD کیتوزان خالص ساختار کریستالی و وجود سه پیک در نواحی ۱۴/۵، ۱۰/۱ و ۱۹/۷ را نشان می‌دهد [۳۵]؛ همچنین منحنی الکوی پراش اشعه ایکس پودر کیتوزان در تحقیقات هایدر و همکاران وجود دو پیک شدید در نواحی  $2\theta = 12^\circ$  و  $2\theta = 20^\circ$  را نشان می‌دهد [۳۷]. در تحقیق حاضر این پیک‌ها را تاحدی می‌توان در ناحیه  $2\theta = 10^\circ$  و  $2\theta = 20^\circ$  مشاهده کرد اما در ناحیه  $10^\circ$  برجستگی مشاهده نمی‌شود که این پدیده را می‌توان به اثر

همزمان باید در دستور کار قرار گیرد. محدوده اندازه نانوذرات امولسیون در تحقیق حاضر در  $pH=4$  حاصل شده است. گزارش شده است که کواسروات‌های کیتوزان-صمغ عربی به نحو مطلوبی در  $pH$  های بین ۳/۵ تا ۵ شکل می‌گیرند. وقتی  $pH$  از ۴ بالاتر می‌رود قابلیت انحلال و یونیزاسیون کیتوزان کاهش می‌یابد و باعث ایجاد ناهمگونی در توزیع اندازه ذرات می‌شود [۳۰]. Tan و همکاران در بررسی اندازه نانوذرات کیتوزان و صمغ عربی در نسبت‌های مختلف، محدوده اندازه نانوذرات این بیوپلیمرها را ۲۹۰-۲۵۰ نانومتر گزارش کردند و عنوان کردند که با افزایش نسبت صمغ عربی به کیتوزان سایز ذرات افزایش می‌یابد. همچنین در مطالعات Abreu و همکاران [۳۱] نیز با افزایش نسبت صمغ به کیتوزان اندازه ذرات افزایش یافت. در تحقیق حاضر نیز با افزایش نسبت صمغ عربی به کیتوزان سایز ذرات افزایش یافت هرچند دامنه اندازه ذرات بطور کلی در محدوده پایین تری مشاهده شد. بطور کلی زمانی که دو پلیمر با نسبت یکسان با هم ترکیب می‌شوند تراکم بارهای مخالف آنها در محیط یکسان می‌شود و نیروی جاذبه بین آنها به بیشترین میزان ممکن می‌رسد که این پدیده می‌تواند در افزایش سایز ذرات موثر باشد [۳۲]. از طرفی افزایش سایز ذرات در بیوپلیمرهای کیتوزان و صمغ عربی در نسبت ۲:۱ این بیوپلیمرها مشاهده شد است. بنابراین افزایش سایز ذرات نانوامولسیون در این نسبت اختلاط تحت تاثیر عاملی غیر از فعل و انفعالات بین آنها و نحوه توزیع بارهای آنها می‌باشد. صمغ عربی یک پلی ساکارید آنیونی است که در ساختار خود دارای یک زنجیره اصلی گالاکتان می‌باشد و شاخه‌های فرعی زیادی از واحدهای گالاکتوز/آرابینوز به زنجیره اصلی متصل می‌باشند [۳۳]. با توجه به نتایج این مطالعه و تطابق آن با نتایج سایر محققین؛ و در واقع افزایش سایز نانوذرات در نانوامولسیون‌های با غلظت بالاتر صمغ عربی، دلیل این موضوع را باید در ماهیت ساختاری و انشعابات فرعی زیاد صمغ عربی جستجو کرد که می‌توان گفت با جذب آب متورم تر شده و در نتیجه سایز ذرات را افزایش داده‌اند. امولسیفایرها به صورت معمول جهت سرعت بخشیدن به شکل‌گیری امولسیون و بالا بردن ثبات سیستم مورد استفاده قرار می‌گیرند و بطور کلی سایز ذرات با استفاده از امولسیفایر کاهش می‌یابد. همچنین گزارش شده است که غلظت ۲٪ توئین ۸۰ به عنوان امولسیفایر بهترین انتخاب می‌باشد [۳۰]. بر

می‌تواند ناشی از تغییرات احتمالی ساختمان کیتوزان و صمغ عربی در اثر واکنش‌های بین مولکولی این دو بیوپلیمر در حین تشکیل پیوند و همچنین حضور روغن ماهی در ساختمان بیوپلیمری این نانوحامل‌ها باشد؛ و برآیند تغییر ساختار کیتوزان و صمغ عربی باعث تغییر در تعداد پیک‌ها و تغییرات جزئی در محل تشکیل پیک‌ها در منحنی XRD شده است. بنابراین نتایج حاصل از XRD ریزپوشانی روغن ماهی در نانوحامل‌های بیوپلیمری را تایید می‌کند.

حضور روغن و دیگر ترکیبات در تغییر و در واقع کاهش ساختار کریستالی در مقایسه با کیتوزان خالص نسبت داد. در تحقیق حاضر ترکیب کیتوزان با صمغ عربی دو پیک مشخص در نواحی ۲۰ و ۱۸ درجه نشان داده است. پیک مشخص و شدید در ناحیه تقریبی ۲۰° در تمامی تیمارها به شکل مشابه مشاهده می‌شود که در واقع می‌تواند تایید کننده حضور روغن در داخل نانوحامل‌ها باشد [۳۶]. جابجایی، کاهش و یا افزایش تعداد پیک‌ها در کمپلکس‌های تشکیل شده از این بیوپلیمرها در مقایسه با نوع خالص آنها با توجه به نتایج تحقیقات پیشین



**Fig 1** X-ray diffractograms of Arabic gum-chitosan microparticles with different gum: chitosan (AG: CH) relative ratios.

آمینی N-H موجود در ترکیب مرتبط می‌باشد [۳۰، ۳۱، ۴۰]. در تمامی تیمارها پیک جذبی در عدد موجی  $1460\text{ cm}^{-1}$  و پیک جذبی در عدد موجی تقریبی  $1378\text{ cm}^{-1}$  به ترتیب به ارتعاشات خمشی گروه C-H و ارتعاشات خمشی متقارن C-H- گروه CH<sub>2</sub> مربوط می‌باشند [۳۸، ۴۱]. پیک‌های جذبی محدوده بین ۱۰۰۰ تا  $1250\text{ cm}^{-1}$  وابسته به ارتعاشات کششی C-O- می‌باشند [۳۲، ۳۸، ۴۲]. در این تحقیق برای تمامی نمونه‌ها و در غلظت‌های مختلف آنها پیک‌های جذبی در عدددهای موجی تقریباً مشابه نمایان شدند و تنها در برخی موارد در شدت پیک جذبی آنها اختلافاتی وجود دارد و عدم وجود اختلاف در تعداد پیک‌ها و ظهور پیک‌ها در اعداد موجی مشابه احتمالاً نشان دهنده ماهیت ساختاری تقریباً مشابه در بیوپلیمرهای مورد استفاده می‌باشد. بررسی نمودار جذب IR حاصل از تحقیقات پیشین در نمونه‌های خالص بیوپلیمرهای کیتوزان و صمغ وجود یک پیک کاملاً مشخص در ناحیه تقریبی  $2350\text{ cm}^{-1}$  را تایید می‌کند [۳۰، ۳۲، ۳۵]. در این تحقیق نمودار جذب IR هیچگونه پیکی در این عدد موجی در نانوحامل‌های ترکیبی از نسبت‌های مختلف کیتوزان و صمغ

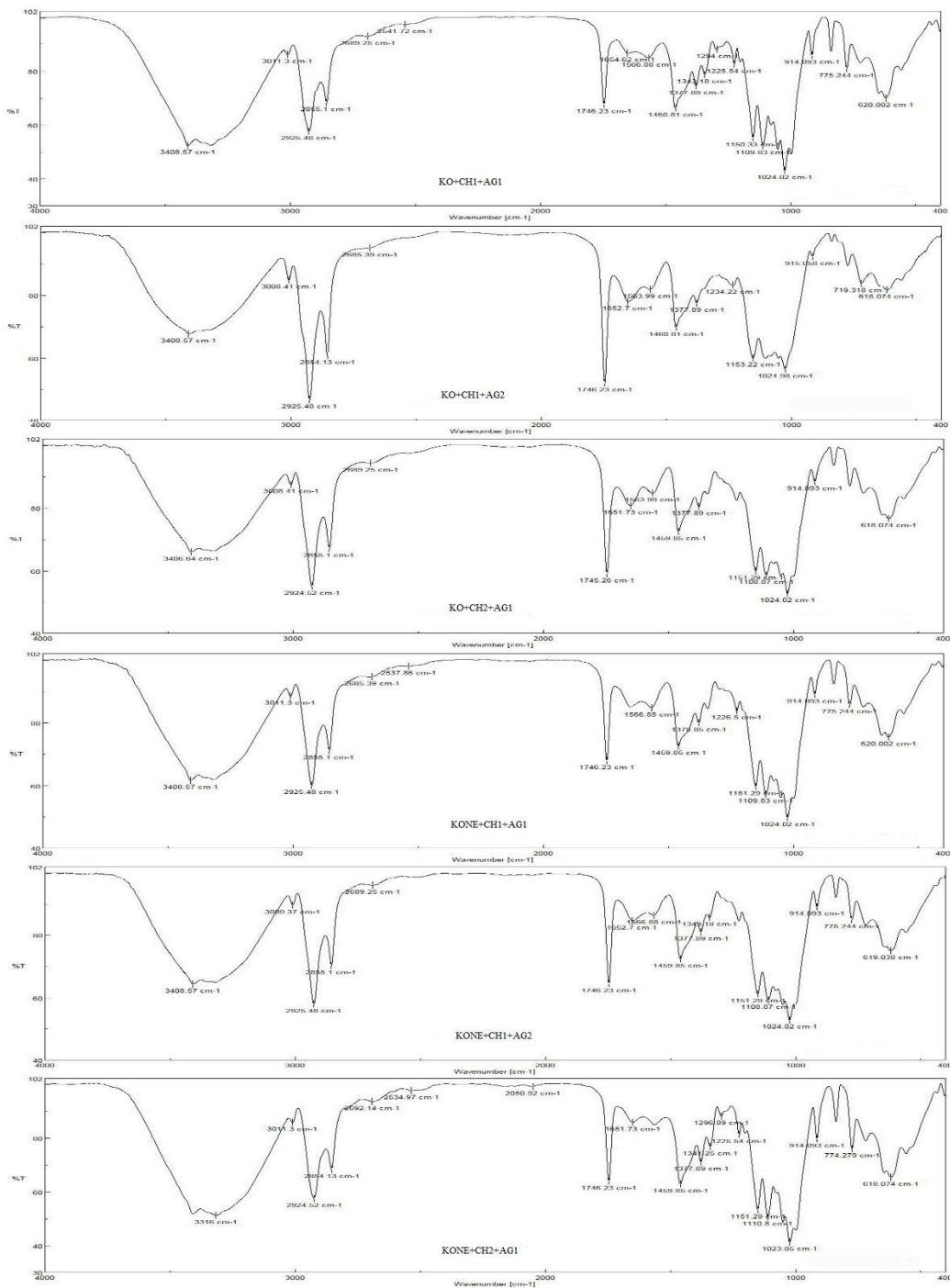
### ۳-۳- آزمون طیف سنجی تبدیل فوریه مادون

#### قرمز (FTIR)

طیف سنجی FTIR برای بررسی واکنش‌های بین مولکولی از قبیل فعل و انفعالات الکترواستاتیک و پیوندهای مولکولی بین کیتوزان با صمغ عربی حین شکل‌گیری کواسروات مورد استفاده قرار گرفت. در تمامی نمونه‌ها در محدوده طول موج تقریبی  $1300\text{ cm}^{-1}$ – $3700\text{ cm}^{-1}$  یک پیک وسیع و قوی ظاهر شده است که نشان دهنده پیوندهای H-O آزاد، درون و بین مولکولی گروه‌های هیدروکسیل می‌باشد. همچنین یک پیک جذبی در محدوده طول موج  $2850\text{ cm}^{-1}$ – $3000\text{ cm}^{-1}$  مشاهده می‌شود که مربوط به گروه‌های C-H می‌باشد [۳۰، ۳۵]. در طول موج  $1746\text{ cm}^{-1}$  یک باند جذبی مشهود است که بیانگر ارتعاشات کششی گروه C=O- کربونیل می‌باشد [۳۸، ۳۹]. در نمودار جذب IR یک پیک جذبی نسبتاً ضعیف در طول موج تقریبی  $1655\text{ cm}^{-1}$  در تیمارهای متشکل از کیتوزان و صمغ عربی نمایان است که این پیوند به ارتعاش کششی نامتقارن گروه‌های کربوکسیل-COO- نسبت داده شده است [۳۰، ۳۵]. همچنین باند جذبی در محدوده طول موج  $1560\text{ cm}^{-1}$  به گروه

که نمودارهای جذب IR در نانوحامل‌های مختلف در این تحقیق پیک‌های مشابهی در این اعداد موجی نشان داده‌اند می‌توان گفت که هیچ گونه فعل و انفعال شیمیایی بین روغن ماهی با بیوپلیمرهای مورد استفاده در این پژوهش صورت نگرفته است و روغن ماهی درون این حامل‌های بیوپلیمری با موفقیت ریزپوشانی شده‌است.

عربی نشان نمی‌دهد. احتمالا واکنش‌های الکترواستاتیک انجام شده بین گروه‌های آمینی کیتوزان با کربوکسیل صمغ عربی، باعث ناپدید شدن و یا جابجایی پیک جذبی در این ناحیه شده است. در تحقیقات مشابه همچنین پیک های جذبی روغن ماهی در نواحی حدود  $1746$ ،  $1459$ ،  $1378$ ،  $1146$   $\text{cm}^{-1}$ ،  $1744$ ،  $2854$ ،  $2924$  و  $3014$  مشاهده می‌شوند [۴۳، ۴۴]. از آنجایی



**Fig 2** Infrared spectra of Arabic gum–chitosan microparticles with different gum: chitosan (AG: CH) relative ratios.



## ۳-۴- آزمون کارایی ریزپوشانی

فرآیند ریزپوشانی و کارایی آن تحت تاثیر دو مرحله امولسیون-سازی و تشکیل دیواره پلیمری در اطراف مواد هسته‌ای می-باشد. مرحله اول تحت تاثیر پارامترهای فیزیکی از قبیل سرعت هم‌زدن، نسبت اختلاط بیوپلیمرها و خواص فیزیکی و شیمیایی پلیمرها از قبیل ویسکوزیته و نیروهای بین مولکولی قرار دارد. مرحله دوم به وسیله توانایی بارهای مخالف بیوپلیمرها در تشکیل پیوند کنترل می‌شود [۳۸]. در تحقیق حاضر بیشترین کارایی ریزپوشانی و کمترین میزان روغن سطحی مربوط به نانوحامل‌های (KO-CH-AG) با نسبت ۱:۱ حاصل شد (جدول ۲). Tan و همکاران گزارش کردند که کارایی ریزپوشانی نانوحامل‌های کیتوزان و صمغ عربی در نسبت ۱:۱ بیشترین میزان بوده است و با افزایش نسبت صمغ عربی به کیتوزان به ۱:۲ کارایی ریزپوشانی کاهش یافت. در تحقیق حاضر نیز با افزایش نسب صمغ عربی به کیتوزان از نسبت ۱:۱ به ۱:۲ کارایی ریزپوشانی کاهش یافته است؛ هر چند کاهش کارایی ریزپوشانی در نسبت ۲:۱ صمغ عربی به کیتوزان نیز مشاهده می‌شود. در این تحقیق کارایی ریزپوشانی تحت تاثیر نسبت های بیوپلیمری و بیشتر نوع ماده هسته‌ای قرار گرفته است. عنوان شده است زمانی که نسبت ترکیبی پروتئین و پلی‌سارکارید در سیستم یکسان باشد تراکم بارهای ناهمنام آنها محیط برابر خواهد شد و بیشترین نیروی جاذبه بین بارهای ناهمنام شکل خواهد گرفت و بیشترین میزان

شکل گیری کواسرواتها در نسبت‌های یکسان پروتئین و پلی-ساکاریدی به وقوع می‌پیوندد [۳۲]. احتمالاً در نسبت‌های یکسان کیتوزان و صمغ عربی؛ تعادل بین بارهای ناهمنام گروه-های آمینی و کربوکسیلی به نحوی مؤثر باعث تشکیل پیوند و شکل‌گیری کواسروات-ها شده است و در نتیجه میزان روغن ماهی بیشتری درون کواسروات‌های تولیدی به دام افتاده است و میزان روغن کمتری به عنوان روغن سطحی در محیط به صورت آزاد باقی ماند. از طرف دیگر عدم وجود تعادل بین بارهای ناهمنام در نسبت‌های مختلف این بیوپلیمرها و در نتیجه وجود آشفته‌گی باعث شده است که تشکیل پیوند و ایجاد شبکه به نحو مطلوبی صورت نپذیرد و در نتیجه کارایی ریزپوشانی روغن ماهی در این نسبت‌های بیوپلیمری پایین‌تر است و میزان روغن بیشتری به صورت آزاد در سیستم باقی مانده است؛ همچنین پایین‌تر بودن میزان کارایی ریزپوشانی در تیمارهای حاوی نانوامولسیون روغن ماهی در مقایسه با روغن خالص را می‌توان به این پدیده نسبت داد که احتمالاً در تیمارهای حاوی نانوامولسیون روغن ماهی به دلیل تعداد بسیار زیاد ذرات نسبت به تیمارهای حاوی روغن ماهی، تعداد زیادی از این ذرات در حین تشکیل کمپلکس بین بیوپلیمرها شانس گرفتار شدن در شبکه بیوپلیمری در حال تشکیل را از دست داده‌اند؛ از طرفی به علت سایز کوچکتر ذرات در این تیمارها (۷/۲ نانومتر) احتمال رهاش راحت‌تر و بیشتر از دیواره حتی در حین تشکیل کمپلکس محتمل می‌باشد.

**Table 2** Encapsulation efficiency, Total Oil and Surface Oil for nanoparticles produced with different ratios of Arabic gum: chitosan

Treatment	Encapsulation efficiency (%)	Total Oil	Surface Oil
KO+CH1+AG1	79.09±0.79 <sup>a</sup>	0.22±0.01 <sup>a</sup>	0.046±0.002 <sup>f</sup>
KO+CH1+AG2	77.14±2.00 <sup>ab</sup>	0.21±0.02 <sup>a</sup>	0.048±0.003 <sup>f</sup>
KO+CH2+AG1	74.83±2.94 <sup>abcd</sup>	0.20±0.01 <sup>a</sup>	0.050±0.002 <sup>ef</sup>
KONE+CH1+AG1	72.16±2.99 <sup>bcd</sup>	0.21±0.02 <sup>a</sup>	0.058±0.003 <sup>cd</sup>
KONE+CH1+AG2	71.60±3.50 <sup>cd</sup>	0.22±0.02 <sup>a</sup>	0.062±0.002 <sup>abc</sup>
KONE+CH2+AG1	70.65±3.50 <sup>d</sup>	0.22±0.26 <sup>a</sup>	0.064±0.002 <sup>ab</sup>

Different lowercase letters (a, b, c...) in each column represent significant differences between treatments; Data are expressed as mean ± standard deviation (n = 3).

### ۳-۵- آزمون رهایش در محیط شبیه سازی

شده

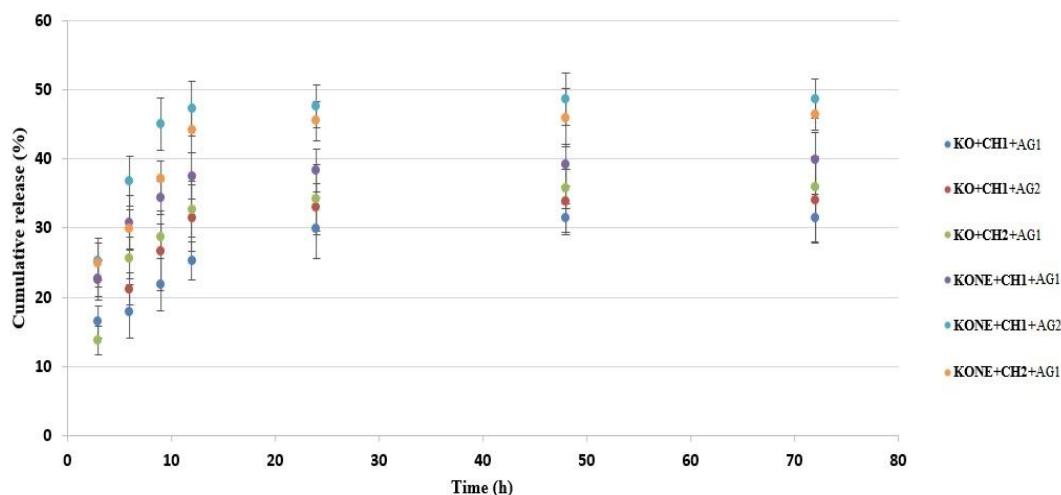
الگوی رهایش عناصر ریزپوشانی شده به فاکتورهایی از قبیل خصوصیات مواد دیواره‌ای، اجزای ریزپوشانی شده، مورفولوژی و هندسه حامل و شرایط رهایش (حلال، pH، قدرت یونی و درجه حرارت) بستگی دارد [۲۸]. میزان روغن ماهی رهایش یافته در نقطه‌های زمانی آزمایش در طول موج ۲۷۳ نانومتر و با استفاده از منحنی کالیبراسیون روغن ماهی اندازه‌گیری شد. بررسی الگوی رهایش در این تحقیق نشان دهنده وجود دو مرحله با وضعیت مختلف رهایش روغن ماهی می‌باشد (شکل ۳). در ساعات اولیه یک رهایش سریع و تصاعدی در نمودار رهایش مشاهده می‌شود و پس از تقریباً ۱۲ ساعت نرخ رهایش روغن ماهی شیبی ملایم پیدا می‌کند و تا پایان ادامه می‌یابد. در پایان ۱۲ ساعت اولیه تقریباً ۲۵٪ از روغن ماهی ریزپوشانی شده در نانوحامل‌های (KO-CH-AG) با نسبت ۱:۱ رهایش یافته است و پس از رهایش این مقدار از روغن ماهی، نرخ رهایش شیب ملایمی پیدا کرده است. نرخ رهایش سریع در ساعات اولیه و گرایش منحنی رهایش به سمت شیب کم در مرحله بعد که در نتایج این تحقیق مشاهده شده است، با نتایج تحقیقات مختلفی در این زمینه مطابقت دارد [۲۸، ۳۰، ۳۱، ۳۶، ۴۵]. رهایش دارو از درون یک نانوحامل یا میکرو حامل بواسطه چندین مکانسیم شامل فرسایش سطحی، تجزیه، انتشار و واجدبی صورت می‌پذیرد [۳۶]. رهایش سریع روغن ماهی در ساعات اولیه (اثر انفجاری) احتمالاً به آزاد شدن روغن سطحی و همچنین رهایش روغن ماهی در اثر تورم دیواره نانوحامل‌ها و متعاقباً انتشار روغن از درون نانوحامل‌ها به محیط بیرون ارتباط پیدا می‌کند [۲۸، ۳۶]. نفوذ آب به درون دیواره حامل پلیمری باعث تغییر حالت آن از شیشه‌ای به لاستیکی می‌شود و در طول مرحله تورم همزمان بیرون و درون حامل تغییر حالتی از شیشه‌ای به لاستیکی ایجاد می‌شود. در این شرایط نرخ رهایش به طور همزمان به میزان تورم دیواره و انتشار روغن ماهی دارد [۲۸]. مرحله دوم منحنی رهایش با شیب ملایم و تقریباً ثابت وابسته به رهایش میزان باقیمانده روغن ماهی از طریق انتشار

می‌باشد [۳۶]. در این مرحله چون روغن موجود در داخلی ترین نقطه نانوحامل به بیرون منتشر می‌شود سازوکار انتشار غالب می‌شود. در واقع از آنجایی که رهایش از دیواره با زمان بیشتری همراه است و از طرفی رهایش سریع در ساعات اولیه از غلظت روغن موجود در نانوحامل‌ها کاسته، و همچنین در غلظت پایین‌تر نرخ رهایش با سرعت کندتری صورت می‌پذیرد؛ بنابراین در این مرحله منحنی رهایش شیب ملایم و تقریباً ثابتی به خود می‌گیرد. رهایش بیشتر نانوحامل‌های حاوی نانوامولسیون روغن ماهی کیلکا نسبت به نانوحامل‌های حاوی روغن ماهی احتمالاً به دلیل بالاتر بودن میزان روغن سطحی و همچنین اندازه بسیار کوچک اجزای ریزپوشانی شده در این نانوحامل‌ها نسبت به نانوحامل‌های حاوی روغن ماهی می‌باشد که خروج هسته‌های بسیار ریز از دیواره نانوحامل را تسهیل کرده است.

### ۳-۶- بررسی شاخص‌های اکسایش

نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های اولیه و ثانویه اکسایش روغن ماهی کیلکای ریزپوشانی شده در نانو حامل‌های بیوپلیمری طی ۲۸ روز نگهداری در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد در جدول ۳ و ۴ نشان داده شده است.

بررسی نتایج حاصل از اکسایش اولیه و ثانویه روغن ماهی کیلکای ریزپوشانی شده نشان می‌دهد که در نمونه شاهد (روغن ماهی بدون پوشش) به طرز بسیار معنی داری اکسایش بیشتری نسبت به روغن ماهی ریزپوشانی شده اتفاق افتاده است و مشخص شد که تمامی پوشش‌های بیوپلیمری به طور معنی‌داری اکسایش اولیه و ثانویه روغن ماهی کیلکا را کاهش داده‌اند. روغن ماهی یکی از مهمترین منابع طبیعی اسیدهای چرب امگا۳ (n-3) چند غیر اشباع (PUFA) و بخصوص اسید ایکوزاپنتانوئیک و اسید داکوزاپنتانوئیک می‌باشد. با این حال یکی از موانع اصلی استفاده از این منابع ارزشمند در فرمولاسیون‌های تغذیه‌ای حساسیت بالای آنها به اکسایش چربی است. اکسایش چربی نه تنها باعث تنزل ارزش تغذیه‌ای آنها می‌شود بلکه باعث تولید محصولات سمی و تولید طعم و بوی نامطلوب در آنها می‌شود [۴۴].



**Fig 3** In vitro release of kilka oil from Arabic gum-chitosan nanoparticles with different gum: chitosan (AG: CH) relative ratios

نانوآمولسیون روغن ماهی کیلکا احتمالاً در ارتباط با پایین تر بودن کارایی ریزپوشانی و بیشتر بودن میزان روغن سطحی در این نانوآمولسیون‌ها می‌باشد که باعث شده است میزان روغن بیشتری در معرض عوامل اکسایش قرار گیرند. از طرف دیگر نانوسایز بودن روغن ماهی باعث افزایش نسبت سطح به حجم آنها شده و سطوح بیشتری از روغن سطحی در این نانوآمولسیون‌ها در معرض عوامل اکسایش قرار می‌گیرد. در این ارتباط یکی دیگر از عوامل محتمل رهایش بیشتر روغن از نانوآمولسیون‌ها حاوی نانوآمولسیون روغن کیلکا بخاطر سایز کوچکتر آنها در طول دوره نگهداری می‌باشد. داده‌های مرتبط با روند اکسایش اولیه نانوآمولسیون‌ها دو مرحله با افزایش شدید و سپس ملایم شاخص‌های اکسایش را نشان می‌دهد. مرحله اول اکسایش که تا ۱۶ روز پس از نگهداری ادامه یافته است حاصل از اکسایش روغن سطحی و رهایش اولیه روغن ماهی از دیواره نانوآمولسیون‌ها می‌باشد که به راحتی در اختیار عوامل اکسایش قرار گرفته‌اند. مرحله با روند خیلی کم و متمایل به صفر احتمالاً در نتیجه خروج ملایم و تدریجی مقدار باقیمانده روغن ماهی درون نانوآمولسیون‌هاست [۴۴]. نتایج حاصل از اندازه‌گیری شاخص اکسایش ثانویه نشان می‌دهد در طول دوره نگهداری مقادیر تیوباریتوریک در حال افزایش بوده است. وجود مقادیر پراکسید در روز صفر نگهداری احتمالاً نتیجه فرآیند ریزپوشانی و بخصوص مرحله هموزن سازی است که طی عمل هم زدن اکسیژن وارد شده و در اثر واکنش با رادیکال‌های آزاد باعث شکل‌گیری هیدروپروکسید می‌شود.

در تحقیق حاضر نانوآمولسیون‌های بیوپلیمری به طور کاملاً معنی‌داری اکسایش اولیه و ثانویه روغن ماهی را در پایان ۲۸ روز نگهداری در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به تاخیر انداختند به طوری که در روغن ماهی بدون پوشش در پایان دوره نگهداری مقادیر خیلی بالاتری از پراکسید و اسید تیوباریتوریک اندازه‌گیری شد (جدول ۳ و ۴). در این رابطه Carneiro و همکاران پایداری اکسایشی روغن بذر کتان ریزپوشانی شده با مالتودکسترین در ترکیب با صمغ عربی و پروتئین آب پنیر را مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که پایداری اکسایشی مطلوبی در استفاده از این ترکیبات به عنوان مواد دیواره‌ای در مقایسه با نمونه شاهد حاصل می‌شود [۱۹]. همچنین Huang و Klaypradit [۴۶] ریزپوشانی روغن ماهی به وسیله پوشش کیتوزان و مالتودکسترین را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که ترکیب کیتوزان با مالتودکسترین می‌تواند باعث پایداری بیشتر امولسیون و کاهش اکسایش چربی شود. این نتایج در واقع در تایید و مطابقت با مشاهدات تحقیق حاضر بود. در رابطه با صمغ عربی هر چند که نتایج برخی تحقیقات به داشتن خاصیت ضد اکسایشی صمغ عربی اشاره کرده‌اند [۲۲، ۴۴]، اما کاهش شاخص‌های اکسایش اولیه و ثانویه در نانوآمولسیون‌های متشکل از کیتوزان و صمغ عربی و بخصوص در نسبت‌های ۱:۲ این بیوپلیمرها احتمالاً بیشتر با نقش ضد اکسایشی [۱۵-۱۸] و افزایش دهنده مقاومت حرارتی [۱۸، ۴۷] کیتوزان در ارتباط است. بالاتر بودن مقادیر اکسایش اولیه و ثانویه در نانوآمولسیون‌های حاوی

**Table 3** Changes in the peroxide value of Arabic gum–chitosan microparticles with different gum: chitosan (AG: CH) relative ratios

PV	Storage time (days)							
	0	4	8	12	16	20	24	28
BLANK(KO)	2.53±0.14 <sup>dG</sup>	5.49±0.22 <sup>ef</sup>	6.37±0.15 <sup>dE</sup>	7.34±0.33 <sup>dD</sup>	8.05±0.22 <sup>cC</sup>	8.69±0.16 <sup>bB</sup>	9.15±0.07 <sup>aA</sup>	9.09±0.25 <sup>aA</sup>
KO+CHI+AG1	2.19±0.39 <sup>bc</sup>	2.57±0.07 <sup>efBC</sup>	3.06±0.43 <sup>cdB</sup>	3.63±0.10 <sup>ba</sup>	3.88±0.23 <sup>abA</sup>	4.14±0.23 <sup>aA</sup>	4.01±0.37 <sup>afA</sup>	3.94±0.25 <sup>aA</sup>
KO+CHI+AG2	2.15±0.1 <sup>de</sup>	2.56±0.19 <sup>efDE</sup>	2.82±0.14 <sup>efCD</sup>	3.14±0.33 <sup>cC</sup>	3.72±0.39 <sup>abB</sup>	4.27±0.16 <sup>afA</sup>	4.31±0.17 <sup>abA</sup>	4.03±0.26 <sup>abAB</sup>
KO+CH2+AG1	2.07±0.15 <sup>de</sup>	2.29±0.13 <sup>deE</sup>	2.58±0.18 <sup>cdD</sup>	2.92±0.41 <sup>cC</sup>	3.46±0.20 <sup>baB</sup>	4.13±0.19 <sup>aA</sup>	3.92±0.23 <sup>aA</sup>	3.92±0.28 <sup>aA</sup>
KONE+CHI+AG1	2.22±0.14 <sup>de</sup>	2.70±0.17 <sup>cdD</sup>	3.28±0.17 <sup>cdC</sup>	3.86±0.20 <sup>abB</sup>	4.24±0.07 <sup>baA</sup>	4.35±0.07 <sup>afA</sup>	4.22±0.16 <sup>afA</sup>	4.29±0.09 <sup>abA</sup>
KONE+CHI+AG2	2.23±0.24 <sup>de</sup>	2.91±0.13 <sup>cdD</sup>	3.52±0.25 <sup>bcC</sup>	4.36±0.15 <sup>baB</sup>	4.33±0.06 <sup>baAB</sup>	4.40±0.23 <sup>cdAB</sup>	4.55±0.21 <sup>bdA</sup>	4.12±0.15 <sup>cdB</sup>
KONE+CH2+AG1	2.22±0.14 <sup>bd</sup>	2.46±0.11 <sup>efCD</sup>	2.92±0.13 <sup>efC</sup>	3.62±0.29 <sup>baB</sup>	4.07±0.52 <sup>bdAB</sup>	4.21±0.15 <sup>aA</sup>	4.22±0.07 <sup>afA</sup>	4.13±0.42 <sup>cdA</sup>

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 thiobarbituric acid value of Arabic gum–chitosan microparticles with different gum: chitosan (AG: CH) relative ratios

TBA	Storage time (days)							
	0	4	8	12	16	20	24	28
BLANK(KO)	0.084±0.006 <sup>d</sup>	0.116±0.015 <sup>ef</sup>	0.140±0.052 <sup>ef</sup>	0.186±0.015 <sup>cd</sup>	0.233±0.015 <sup>cC</sup>	0.263±0.035 <sup>abC</sup>	0.286±0.025 <sup>abB</sup>	0.350±0.017 <sup>aA</sup>
KO+CHI+AG1	0.048±0.005 <sup>bcE</sup>	0.055±0.004 <sup>cdDE</sup>	0.060±0.002 <sup>bcDE</sup>	0.065±0.013 <sup>deE</sup>	0.073±0.005 <sup>cdD</sup>	0.090±0.020 <sup>cC</sup>	0.116±0.011 <sup>abB</sup>	0.140±0.010 <sup>abA</sup>
KO+CHI+AG2	0.049±0.007 <sup>bcF</sup>	0.050±0.013 <sup>cf</sup>	0.064±0.005 <sup>bcEF</sup>	0.080±0.020 <sup>defDE</sup>	0.103±0.015 <sup>efCD</sup>	0.113±0.015 <sup>efBC</sup>	0.130±0.010 <sup>defAGB</sup>	0.150±0.017 <sup>abA</sup>
KO+CH2+AG1	0.044±0.005 <sup>bcE</sup>	0.052±0.001 <sup>deE</sup>	0.062±0.002 <sup>bcCD</sup>	0.070±0.009 <sup>cC</sup>	0.090±0.010 <sup>bB</sup>	0.103±0.005 <sup>cdB</sup>	0.123±0.015 <sup>efAG</sup>	0.133±0.005 <sup>aA</sup>
KONE+CHI+AG1	0.053±0.004 <sup>bdD</sup>	0.069±0.006 <sup>bdD</sup>	0.086±0.006 <sup>bcC</sup>	0.100±0.010 <sup>cdC</sup>	0.133±0.011 <sup>baB</sup>	0.146±0.015 <sup>baAB</sup>	0.146±0.011 <sup>bcAB</sup>	0.163±0.005 <sup>cdA</sup>
KONE+CHI+AG2	0.056±0.003 <sup>bcE</sup>	0.071±0.005 <sup>bcE</sup>	0.090±0.010 <sup>dD</sup>	0.103±0.005 <sup>cdD</sup>	0.123±0.005 <sup>cdC</sup>	0.143±0.020 <sup>baB</sup>	0.163±0.011 <sup>baA</sup>	0.156±0.005 <sup>bcAB</sup>
KONE+CH2+AG1	0.054±0.005 <sup>bdD</sup>	0.061±0.008 <sup>bcD</sup>	0.071±0.002 <sup>bdD</sup>	0.096±0.015 <sup>cdC</sup>	0.110±0.010 <sup>efBC</sup>	0.143±0.011 <sup>baA</sup>	0.126±0.015 <sup>cdAGB</sup>	0.146±0.015 <sup>cdA</sup>

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).

دادند. بنابراین می‌توان گفت استفاده از ترکیب دیواره‌ای کیتوزان/صمغ عربی به همراه مالتودکسترین با توجه به خواص تغذیه‌ای مناسب آنها و همچنین توانایی آنها در بهبود قابلیت ماندگاری و انتقال روغن ماهی در سیستم‌های غذایی می‌تواند کاربردی باشد و محصول حاصل می‌تواند به عنوان مکمل‌های تغذیه‌ای و یا افزودنی به سایر مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرد.

## ۵- منابع

[1] Heinzlmann, K., & Franke, K. (1999). Using freezing and drying techniques of emulsions for the microencapsulation of fish oil to improve oxidation stability. *Colloids*

## ۴- نتیجه گیری کلی

در این مطالعه از روش خشک‌کن انجمادی برای ریزپوشانی روغن ماهی کیلکا با استفاده از ترکیبات دیواره‌ای مختلف استفاده شد. به طور کلی، براساس نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری ویژگی‌های مختلف امولسیون و پودرها، نسبت ۱:۱ کیتوزان/صمغ عربی، در مجموع از نظر اندازه ذرات و خصوصیات فیزیکی در مقایسه با سایر تیمارها خواص مناسب و قابل قبول تری ارائه داد. همچنین از نظر بررسی میزان بهبود پایداری اکسیداتیو روغن ماهی به عنوان هدف پژوهش؛ نتایج نشان داد که طی ۲۸ روز نگهداری در مجموع تیمارهای ریزپوشانی شده به نسبت تیمار شاهد پایداری بهتری نشان

- coacervates. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 66(2), 89-96.
- [13] Rodriguez, J., Martín, M., Ruiz, M., & Clares, B. (2016). Current encapsulation strategies for bioactive oils: From alimentary to pharmaceutical perspectives. *Food Research International*, 83, 41-59.
- [14] Zimet, P. & Livney, Y. D. (2009). Livney, Beta-lactoglobulin and its nanocomplexes with pectin as vehicles for  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids. *Food Hydrocolloids*, 23(4), 1120-1126.
- [15] Solval, K. M., Rodezno, L. E., Moncada, M., Bankston, J. D., & Sathivel, S. (2014). Evaluation of chitosan nanoparticles as a glazing material for cryogenically frozen shrimp. *LWT-Food Science and Technology*, 57(1), 172-180.
- [16] Yuan, Y., Ong, Z. Y., Sun, Y. E., Zeng, Q. Z., & Yang, X. Q. (2017). Complex coacervation of soy protein with chitosan: Constructing antioxidant microcapsule for alAGI oil delivery. *LWT-Food Science and Technology*, 75, 171-179.
- [17] Nowzari, F., Shábanpour, B., & Ojagh, S. M. (2013). Comparison of chitosan-gelatin composite and bilayer coating and film effect on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 141(3), 1667-1672.
- [18] Woranuch, S. & Yoksan, R. (2013). Eugenol-loaded chitosan nanoparticles: I. Thermal stability improvement of eugenol through encapsulation. *Carbohydrate Polymers*, 96(2), 578-585.
- [19] Croisier, F. & Jérôme, C. (2013). Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. *European Polymer Journal*, 49(4), 780-792.
- [20] Alishahi, A. & Aider, M. (2012). Applications of chitosan in the seafood industry and aquaculture: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 5(3), 817-830.
- [21] Williams, P. A. & Phillips, G. (2009). Gum arabic, in *Handbook of Hydrocolloids* (Second Edition), Elsevier, 252-273.
- [22] Ali, B. H., Ziada, A., & Blunden, G. (2009). Biological effects of gum arabic: a review of some recent research. *Food and Chemical Toxicology*, 47(1), 1-8.
- [23] 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.
- and Surfaces ,Biointerfaces, 12(3-6), p. 223-229.
- [2] Shahidi, F. (2004). Functional foods: their role in health promotion and disease prevention. *Journal of Food Science*, 69(5), R146-R149.
- [3] Shinde, A. J., & More, H. N. (2013). Hypolipidemic activity of nanoparticles containing lovastatin in hypercholesteric albino rats.
- [4] Walker, R. M., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2015). Physical and oxidative stability of fish oil nanoemulsions produced by spontaneous emulsification: Effect of surfactant concentration and particle size. *Journal of Food Engineering*, 164, 10-20.
- [5] Lauterbach, R. & Pawlik, D. (2014). Fish-oil fat emulsion and retinopathy in very low birth weight infants, in *Handbook of nutrition, diet and the eye*. Elsevier, 233-240.
- [6] Jordan, R. G. (2010). Prenatal omeAG- 3 fatty acids: review and recommendations. *The Journal of Midwifery & Women's Health*, 55(6), 520-528.
- [7] Gruenfelder, C.A. (2014). Sensory evaluation of heart-healthy foods enriched with omeAG-3 fats from fish oil. College of Saint Elizabeth.
- [8] Kolanowski, W. (2005). Bioavailability of omeAG-3 PUFA from foods enriched with fish oil-a mini review. *Polish journal of food and nutrition sciences*, 14(4), 335.
- [9] Komaiko, J., Sastrosubroto, A., & McClements, D. J. (2016). Encapsulation of  $\omega$ -3 fatty acids in nanoemulsion-based delivery systems fabricated from natural emulsifiers: Sunflower phospholipids. *Food chemistry*, 203, 331-339.
- [10] Kolanowski, W. & Berger, S. (1999). Possibilities of fish oil application for food products enrichment with omeAG-3 PUFA. *International journal of food sciences and nutrition*, 50(1), 39-49.
- [11] Champagne, C. P. & Fustier, P. (2007). Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Current opinion in biotechnology*, 18(2), 184-190.
- [12] Huang, G. Q., Han, X. N., Xiao, J. X., & Cheng, L. Y. (2017). Effects of coacervation acidity on the genipin crosslinking action and intestine-targeted delivery potency of the O-carboxymethyl chitosan-gum arabic

- [33] Sakloetsakun, D., Preechagoon, D., Bernkop-Schnürch, A., & Pongjanyakul, T. (2016). Chitosan–gum arabic polyelectrolyte complex films: physicochemical, mechanical and mucoadhesive properties. *Pharmaceutical development and technology*, 21(5), 590-599.
- [34] Assadpour, E., Maghsoudlou, Y., Jafari, S. M., Ghorbani, M., & Aalami, M. (2016). Optimization of folic acid nano-emulsification and encapsulation by maltodextrin-whey protein double emulsions. *International journal of biological macromolecules*, 86, 197-207.
- [35] You, G., Liu, X. L., & Zhao, M. M. (2018). Preparation and characterization of hsian-tsao gum and chitosan complex coacervates. *Food Hydrocolloids*, 74, 255-266.
- [36] Hosseini, S. F., Zandi, M., Rezaei, M., & Farahmandghavi, F. (2013). Two-step method for encapsulation of oreAGno essential oil in chitosan nanoparticles: preparation, characterization and in vitro release study. *Carbohydrate Polymers*, 95(1), 50-56.
- [37] Haider, J., Majeed, H., Williams, P. A., Safdar, W., & Zhong, F. (2017). Formation of chitosan nanoparticles to encapsulate krill oil (*Euphausia superba*) for application as a dietary supplement. *Food Hydrocolloids*, 63, 27-34.
- [38] Butstraen, C. & Salaün, F. (2014). Preparation of microcapsules by complex coacervation of gum Arabic and chitosan. *Carbohydrate polymers*, 99, 608-616.
- [39] Herculano, E.D., De Paula, H. C., De Figueiredo, E. A., Dias, F. G., & Pereira, V. A. (2015). Physicochemical and antimicrobial properties of nanoencapsulated *Eucalyptus staigeriana* essential oil. *LWT-Food Science and Technology*, 61(2), 484-491.
- [40] Shabanpour, B., Kazemi, M., Ojagh, S. M., & Pourashouri, P. (2018). Bacterial cellulose nanofibers as reinforce in edible fish myofibrillar protein nanocomposite films. *International journal of biological macromolecules*, 117, 742-751.
- [41] Kumar, S., Kaur, P., Bernela, M., Rani, R., & Thakur, R. (2016). Ketoconazole encapsulated in chitosan-gellan gum nanocomplexes exhibits prolonged
- [24] Desai, K. G. H. & Park, H. J. (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying technology*, 23(7), 1361-1394.
- [25] Zhang, Y., an, C., Abbas, Sh., Eric, K., Zhang, X., Xia, S., & Jia, C. (2014). The effect of soy protein structural modification on emulsion properties and oxidative stability of fish oil microcapsules. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 120, 63-70.
- [26] De Souza, V. B., homazini, M., Barrientos, M. E., Nalin, C. M., Ferro-Furtado, R., Genovese, M., & Favaro-Trindade, C. S. (2018). Functional properties and encapsulation of a proanthocyanidin-rich cinnamon extract (*Cinnamomum zeylanicum*) by complex coacervation using gelatin and different polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, 77, 297-306.
- [27] Carneiro, H.C., Tonon, R.V., Grosso, C. R., & Hubinger, M. (2013). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Journal of Food Engineering*, 115(4), 443-451.
- [28] Dima, C., Pătrașcu, L., Cantaragiu, A., Alexe, P., & Dima, Ș. (2016). The kinetics of the swelling process and the release mechanisms of *Coriandrum sativum* L. essential oil from chitosan/alginate/inulin microcapsules. *Food chemistry*, 195, 39-48.
- [29] Kirk, S. & Sawyer, R. (1991). *Pearson's composition and analysis of foods*. Longman Group Ltd.
- [30] Tan, C., Xie, J., Zhang, X., Cai, J., & Xia, S. (2016). Polysaccharide-based nanoparticles by chitosan and gum arabic polyelectrolyte complexation as carriers for curcumin. *Food Hydrocolloids*, 57, 236-245.
- [31] Abreu, F.O., Oliveira, E. F., Paula, H. C., & de Paula, R. C. (2012). Chitosan/cashew gum nanogels for essential oil encapsulation. *Carbohydrate polymers*, 89(4), 1277-1282.
- [32] Espinosa-Andrews, H., Sandoval-Castilla, O., Vázquez-Torres, H., Vernon-Carter, E. J., & Lobato-Calleros, C. (2010). Determination of the gum Arabic–chitosan interactions by Fourier Transform Infrared Spectroscopy and characterization of the microstructure and rheological features of their coacervates. *Carbohydrate Polymers*, 79(3), 541-546.

- [44] Vasile, F.E., Romero, A. M., Judis, M. A., & Mazzobre, M. F. (2016). Prosopis alba exudate gum as excipient for improving fish oil stability in alginate-chitosan beads. *Food chemistry*, 190, 1093-1101.
- [45] Luo, Y., Zhang, B., Whent, M., Yu, L. L., & Wang, Q. (2011). Preparation and characterization of zein/chitosan complex for encapsulation of  $\alpha$ -tocopherol, and its in vitro controlled release study. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 85(2), 145-152.
- [46] Klaypradit, W. & Huang, Y. W. (2008). Fish oil encapsulation with chitosan using ultrasonic atomizer. *LWT-Food Science and Technology*, 41(6), 1133-1139.
- [47] Dammak, I. & do Amaral Sobral, P. J. (2018). InvestiAGtion into the physicochemical stability and rheological properties of rutin emulsions stabilized by chitosan and lecithin. *Journal of Food Engineering*, 229, 12-20.
- antifunAGI activity. *International journal of biological macromolecules*, 93, 988-994.
- [42] Antoniou, J., Liu, F., Majeed, H., & Zhong, F. (2015). Characterization of tara gum edible films incorporated with bulk chitosan and chitosan nanoparticles: a comparative study. *Food Hydrocolloids*, 44, 309-319.
- [43] Vongsvivut, J., Heraud, P., Zhang, W., Kralovec, J. A., McNaughton, D., & Barrow, C. J. (2012). Quantitative determination of fatty acid compositions in micro-encapsulated fish-oil supplements using Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Food chemistry*, 135(2), 603-609.

## Preparation of biopolymerical nanocarriers from chitosan/Arabic gum by complex coacervation; Evaluation of physicochemical, microstructural/molecular properties and its effect on oxidative stability of fish (*Clupeonella cultiventris*) oil

Moradi, S. E. <sup>1\*</sup>, Motallebi, A. A. <sup>2</sup>, Jafari, S. M. <sup>3</sup>, Shahmohamadi, H. R. <sup>4</sup>

1. PhD student of fishery products Processing, Iranian Fisheries Science Research Institute, national fish processing research center, anzali.
2. Master, food material health, Iranian Fisheries Science Research Institute.
3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, GorAGn University of Agricultural Sciences and Natural Resources.
4. Assistant Professor, fishery products Processing, Iranian Fisheries Science Research Institute.

(Received: 2019/01/10 Accepted:2019/05/18)

The present study aimed to evaluate physical and microstructural/molecular properties of encapsulated fish oil, and their oxidative stability during storage. To this end, Nanoemulsion of Fish oil (in both pure and nanoemulsified form) was produced using complex coacervation method and various ratios of chitosan and gum arabic (CH1:AG1;CH1:AG2; CH2:AG1) as wall materials and maltodextrin (MD) as filler. Then, emulsion and microencapsulated powder properties including Particle size, encapsulation efficiency, release, XRD, FTIR, peroxide value and TBA index were evaluated. According to the results, the lowest amount of particle size and the highest encapsulation efficiency were observed in the treatment of CH1:AG1. There was no significant change in the release rate among different treatments and all of treatments showed similar release pattern. The results of FTIR and XRD confirmed the presence and favorable encapsulating of kilka oil within biopolymerical nanocarriers. Duration 28 days maintenance at 35°C; peroxide value and TBA levels were significantly increased for all of treatments; In this regard, the oxidative stability was significantly increased in nanocarriers made from chitosan/gum arabic compared to control treatment.

**Keywords:** Nanocarrier, Kilka oil, Oxidation stability, FTIR, XRD

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: Ebrahim\_moradi2012@yahoo.com