

# تأثیر ترکیبات مختلف دیواره بر خصوصیات ریزکپسول‌های حاصل از ریزپوشانی روغن ماهی کیلکا (*Clupeonella cultriventris caspia*) به روش خشک کردن

## انجمادی

مریم حسنی<sup>۱\*</sup>، امیر حسین الهامی راد<sup>۲</sup>، مجید محمدحسینی<sup>۳</sup>، مصطفی شهیدی نوقایی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> دانش آموخته دکتری تخصصی گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

<sup>۲</sup> گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

<sup>۳</sup> گروه شیمی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران

<sup>۴</sup> گروه شیمی مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی خراسان رضوی، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۲/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۹/۱۵

## چکیده

روغن ماهی به دلیل داشتن مقادیر بالای اسیدهای چرب چند غیر اشباع، حساسیت اکسیداتیو بالایی داشته که سبب ایجاد طعمی نامطلوب و عدم تمایل به مصرف آن می‌شود. از این رو ریزپوشانی این ترکیب با هدف حفاظت آن در مقابل شرایط محیطی با استفاده از روش خشک‌کن انجمادی مورد مطالعه قرار گرفت. به این منظور روغن ماهی کیلکا (*Clupeonella cultriventris caspia*) استخراج و پروفایل اسید چرب آن تعیین گردید. امولسیون روغن ماهی با نسبت ۱:۳ روغن: پوشش با پوشش‌هایی از مالتودکسترین، کازئینات سدیم، کنسانتره آب پنیر و نشاسته اصلاح شده با نسبت‌های متفاوت تهیه شد. به منظور تعیین میزان هر یک از چهار ترکیب، از طرح مخلوط استفاده شد. سپس تأثیر ترکیبات مختلف دیواره بر خصوصیات امولسیون و پودر شامل ثبات امولسیون، ویسکوزیته ظاهری، رطوبت پودر، اندازه ذرات و شاخص بس پاشیدگی، راندمان ریزپوشانی و مورفولوژی ریزکپسول‌ها مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان داد امولسیون‌های حاوی مقادیر کم کازئینات سدیم و یا فاقد کازئینات سدیم از ثبات امولسیونی کمتری برخوردار بودند. ویسکوزیته امولسیون تهیه شده با فرمولاسیون حاوی مقادیر بالای ترکیبات دیواره پروتئینی (کازئینات سدیم و کنسانتره آب پنیر) نسبت به سایر فرمولاسیون‌ها دارای بیشترین مقدار ( $465 \pm 5$  mPa.s) بود. مقایسه ویژگی‌های ریزکپسول‌ها دلالت بر این داشت که نوع و مقادیر متفاوت ترکیبات دیواره تأثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.05$ ) بر میزان رطوبت و اندازه ذرات میکروکپسول‌ها دارد. بررسی مورفولوژی پودرهای میکروکپسوله روغن ماهی با راندمان ریزپوشانی بالاتر، تصاویر کروی‌تر با سطوحی صاف را نشان دادند و مقدار خروج روغن ماهی در آن‌ها نیز کمتر مشاهده شد.

**واژه‌های کلیدی:** امولسیون، خشک کردن انجمادی، روغن ماهی، ریزپوشانی

## ۱- مقدمه

ماهی یکی از منابع مهم و با ارزش پروتئین، چربی و انرژی به شمار می آید. در این میان، چربی ماهیان منبع مهمی از اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه و امگا ۳ به طور عمده EPA و DHA است. نقش DHA در توسعه سلول‌های مغزی در طول دوره بارداری و شبکه چشم و نقش EPA در جلوگیری از بروز بیماری‌های قلبی به اثبات رسیده است (۷). از دیدگاه علم تغذیه، مکمل‌های غذایی حاوی اسیدهای چرب چند غیر اشباع طویل زنجیر بسیار مطلوب هستند. اما تغییر طعم آن‌ها به دلیل اکسیداسیون لیپید-ها مشکل آفرین می‌باشد. ترکیبات فرار حاصل از شکسته شدن، واکنش اکسیداسیون و واکنش هیدرولیز چربی‌ها (هیدروپراکسیدها، آلدئیدها، کتون‌ها، اسیدهای چرب و ...) بو، طعم، رنگ، بافت، ارزش غذایی و به طور کلی کیفیت را کاهش می‌دهد و باعث عدم مطلوبیت در مصرف کنندگان این منبع مهم غذایی می‌شود (۵). ماهی کیلکا از جنس *Clupeonella*، زیر راسته *Clupodidae*، راسته *Clupeiformes* و خانواده *Clupeidae* می‌باشد. (۲۰، ۲۴). ماهی کیلکا با داشتن پروتئین، چربی‌های سهل الهضم، ویتامین و مواد معدنی جایگاهی بسیار با اهمیت را در میان فرآورده‌های با منشأ حیوانی به خود اختصاص داده است (۴). با وجود این مزایا و خصوصیات منحصر به فرد، یکی از مهمترین مشکلات مصرف روغن ماهی حساسیت اکسیداتیو بسیار بالای آن به دلیل داشتن مقادیر بالایی از اسیدهای چرب چند غیراشباع می‌باشد که منجر به فساد شدید اکسیداتیو و ایجاد طعمی نامطلوب و در نتیجه کاهش تمایل به مصرف روغن ماهی می‌شود (۲۹). رویکردهای مختلفی در زمینه جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدها در مواد غذایی غنی شده با امگا ۳ مورد بررسی قرار گرفته‌اند که در این راستا ریزپوشانی (به صورت محصولات خشک و امولسیون‌های مایع) موفق‌ترین روش می‌باشد (۲۷). ریز پوشانی فرایندی است که در آن یک ماده و یا مخلوطی از

مواد توسط مواد دیگری پوشانیده و یا به دام انداخته می‌شوند که به ماده حبس شده، مواد هسته ای یا فعال و به ماده پوشش دهنده، مواد دیواره‌ای می‌گویند. میکروانکپسولاسیون یک اصطلاح کلی است که برای ریزپوشانی مواد با ارزشی همچون روغن‌های دریایی جهت کاربرد در مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد و محصول تولید شده با عناوین روغن کپسوله شده، میکروکپسول، پودر یا ذره نام‌گذاری می‌شود. مالتودکسترین‌ها ترکیباتی هستند که به دلیل توانایی تشکیل شبکه در روش‌های مختلف ریزپوشانی به عنوان ماده دیواره-ای مورد توجه می‌باشند. بالا بودن راندمان ریزپوشانی توسط مالتودکسترین، پایین بودن گرانروی محلول آن‌ها حتی در غلظت‌های بالا، در دسترس بودن آن‌ها در اوزان مولکولی مختلف، پایین بودن قیمت آن‌ها و حفاظت مناسب در برابر اکسیداسیون از عوامل مهم در استفاده از این ترکیبات در ریزپوشانی است. اگرچه فاقد خصوصیات بین سطحی مورد نیاز جهت راندمان بالای کپسوله کردن می‌باشد. بنابراین جهت رفع این مشکل، معمولاً در ترکیب با مواد بیو پلیمری دیگری همچون نشاسته‌های اصلاح شده و پروتئین‌ها مانند کازئینات سدیم و کنسانتره آب پنیر مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۵). با توجه به اینکه تاکنون تحقیقی مبنی بر ریزپوشانی روغن ماهی توسط چهار نوع مواد دیواره‌ای مختلف به‌طور همزمان به روش خشک کن انجمادی<sup>۳</sup> صورت پذیرفته است این تحقیق با هدف مقایسه ترکیبات مختلف پروتئینی (کازئینات سدیم، کنسانتره آب پنیر) و کربوهیدراته (نشاسته اصلاح شده، مالتودکسترین) به عنوان اجزای تشکیل دهنده دیواره با غلظت‌های متفاوت جهت ریزپوشانی روغن ماهی کیلکا و بررسی ویژگی‌های آن انجام گرفت. بدین منظور امولسیون‌های تهیه شده با استفاده از دستگاه خشک کن انجمادی، خشک گردیدند و بررسی پایداری و ویژگی‌های ریزکپسول‌های تولیدی صورت گرفت.

<sup>3</sup> Freeze dryer<sup>1</sup> Eicosapentaenoic acid<sup>2</sup> Docosahexaenoic acid

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد

دکتور: FID، درجه حرارت تزریق کننده: ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد، درجه حرارت دکتور: ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد، درجه حرارت ستون: ۲۲۰-۱۸۰ درجه سانتی‌گراد به ازای افزایش ۱۰ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه، میزان تزریق: ۱ میکرولیتر، جریان گاز ازت: ۰/۹ ml/min و ۱ میکرولیتر استانداردهای اسید چرب تزریق و زمان اقامت آن‌ها تعیین گردید، سپس نمونه‌ها تزریق، شناسایی و تعیین درصد شدند.

ماهی کیلکا (*Clupeonella cultriventris caspia*) از بندر انزلی خریداری گردید. مالتو دکسترین 18-20 DE از شرکت Kirsh pharma کشور آلمان، کازئینات سدیم و کنسانتره آب پنیر از شرکت Friesland Campina کشور هلند و نشاسته اصلاح شده با نام تجاری Hi-Cap 100TM از شرکت National Starch کشور آلمان تهیه گردید. سایر مواد شیمیایی مورد نیاز با درجه خلوص بالا از شرکت مرک خریداری شدند. برای تهیه و آماده‌سازی کلیه محلول‌ها از آب دیونیزه استفاده گردید.

### ۲-۴- طراحی فرمولاسیون

فرمولاسیون نمونه‌ها با مخلوط کردن ۴ جزء اصلی مالتو دکسترین<sup>۱</sup>، کازئینات سدیم<sup>۲</sup>، کنسانتره آب پنیر<sup>۳</sup> و نشاسته اصلاح شده<sup>۴</sup> آماده شد. محدوده درصد وزنی اجزاء در فرمولاسیون‌ها در جدول ۱ آورده شده است. جهت تعیین درصد وزنی اجزاء اصلی در هر فرمولاسیون، از طراحی مخلوط در نرم افزار Design-Expert 7 استفاده شد و فرمولاسیون خروجی نرم افزار در جدول ۲ آورده شده است. مجموع درصد وزنی اجزاء در هر فرمولاسیون برابر ۷۵ می‌شود و ۲۵ درصد وزنی در هر فرمول روغن ماهی می‌باشد. وزن نهایی فرمولاسیون در انتها ۲۰۰ گرم است. با توجه به نتایج به دست آمده و وجود تفاوت‌های قابل ملاحظه از بررسی فرمولاسیون‌های خروجی نرم افزار، فرمولاسیون‌های ۳، ۹، ۱۲، ۱۶، ۱۷، ۱۹، جهت ارایه در تحقیق حاضر انتخاب شدند.

### ۲-۲- استخراج روغن از ماهی کیلکا

۱۰۰ گرم نمونه پس از خرد شدن با ۱۰ میلی لیتر کلروفرم و ۲۰۰ میلی لیتر متانول برای ۴-۲ دقیقه به خوبی مخلوط گردید. سپس ۱۰۰ میلی لیتر کلروفرم به مخلوط اضافه و ۳۰ ثانیه هم زده شدند. ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه و ۳۰ ثانیه مخلوط گردیدند. مخلوط مورد نظر با قیف بوختر حاوی کاغذ صافی، صاف شده و حاصل صافی به یک دکانتور انتقال یافت. لایه کلروفرمی به بالن تقطیر انتقال یافت و با استفاده از تبخیر کننده دوار در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد تحت خلأ، حلال آن تبخیر و بازده استخراج بر حسب درصد گزارش گردید (۱۰).

### ۲-۳- شناسایی پروفایل اسیدهای چرب روغن ماهی کیلکا

جهت تشخیص پروفایل و مقدار اسیدهای چرب از دستگاه کروماتوگرافی گازی: Agilent- 6890, USA ، ستون: SGE BPX 70;120 m × 0.25 mm × 0.20 μm

جدول ۱- محدوده درصد وزنی ترکیبات دیواره‌ای مورد استفاده در فرمولاسیون‌ها

جزء	حداقل (%w/w)	حداکثر (%w/w)
مالتو دکسترین (MD)	۰	۴۰
کازئینات سدیم (NaCA)	۰	۴۰
کنسانتره آب پنیر (WPC)	۰	۴۰

<sup>3</sup> Whey protein concentrate

<sup>4</sup> Modified starch

<sup>1</sup> Retention time

<sup>2</sup> Maltodextrin

<sup>2</sup> Sodium caseinate

نشاسته اصلاح شده (Hi-cap 100) ۰ ۴۰

جدول ۲- فرمولاسیون خروجی نرم افزار

فرمولاسیون	مالتو دکسترین (%w/w)	کازئینات سدیم (%w/w)	کنسانتره آب پنیر (%w/w)	نشاسته اصلاح شده (%w/w)
۱	۱۹/۲۹۷	۳۵/۳۲۵	۰	۳۵/۳۷۸
۲	۲۴/۲۹۹	۲/۷۲۲	۱۰/۴۷۹	۳۷/۵
۳	۳۱/۸۸۴	۳۷/۵	۴/۱۸۹	۱/۴۲۷
۴	۰	۳۳/۸۹۸	۳۷/۵	۳/۶۰۲
۵	۰	۳۳/۸۹۸	۳۷/۵	۳/۶۰۲
۶	۳۷/۵	۳/۶۹۷	۵/۰۰۲	۲۸/۸۰۱
۷	۳۷/۴۹۹	۴/۰۱۹	۳۲/۵۳	۰/۹۴۵۹
۸	۳۱/۸۸۴	۳۷/۵	۴/۱۸۹	۱/۴۲۷
۹	۲۰/۰۸۹	۲۰/۲۲۶	۲۰/۰۱۹	۱۴/۶۶۶
۱۰	۱۳/۸۴	۰	۳۷/۵	۲۳/۶۶
۱۱	۰	۱۵/۳۰۵	۲۲/۱۹۵	۳۷/۵
۱۲	۰	۳۷/۵	۱۰/۸۵۶	۲۶/۶۴۴
۱۳	۳۱/۰۸۶	۰	۲۳/۸۶۸	۲۰/۰۴۶
۱۴	۱۱/۹۹۱	۳۷/۵	۲۰/۳۹۳	۵/۱۱۶
۱۵	۳۷/۴۹۹	۴/۰۱۹	۳۲/۵۳	۰/۹۴۵۹
۱۶	۰	۱۵/۳۰۵	۲۲/۱۹۵	۳۷/۵
۱۷	۱۶/۸۳۶	۱۳/۶۶۳	۳۷/۵	۶/۹۹۹
۱۸	۳۷/۵	۱۷/۷۵۵	۸/۸۵۱	۱۰/۸۹۴
۱۹	۱۳/۸۴	۰	۳۷/۵	۲۳/۶۶
۲۰	۱۷/۹۴	۱۹/۵۶	۰	۳۷/۵

۲-۵- مراحل تولید میکروکپسول ها

۱-۲-۵- تهیه امولسیون

ابتدا جهت تهیه امولسیون، ترکیبات مختلف مواد دیواره ای با مقادیر مشخص طبق جدول ۲ در آب مقطر حل گردید. مالتو دکسترین و نشاسته اصلاح شده (Hi-Cap100) به

اتاق نگهداری شد. پس از ۲۴ ساعت ارتفاع فاز پایینی (سرم) در نمونه‌ها اندازه‌گیری شد و نتایج به صورت شاخص کرمی شدن با استفاده از رابطه زیر تعیین گردید (۱۲).

$$\text{ارتفاع لایه سرم تشکیل شده} \times 100 = \frac{\text{ارتفاع کل امولسیون}}{\text{شاخص کرمی شدن}}$$

#### ۲-۶-۲- تعیین ویسکوزیته ظاهری<sup>۵</sup>

ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های امولسیون بلافاصله پس از تهیه آن‌ها با استفاده از ویسکومتر چرخشی بروکفیلد (مدل RVDV-II<sup>+</sup>، کشور آمریکا) بر حسب mPa.s اندازه‌گیری شد. ویسکوزیته در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، در سرعت برشی  $40 \text{ s}^{-1}$  تعیین شد. در انجام آزمون از دوک SC4-31 به عنوان پروب سنجش استفاده گردید (۱۶).

#### ۲-۷- آزمایشات انجام شده بر روی پودرها

##### ۲-۷-۱- اندازه‌گیری رطوبت

مقدار رطوبت میکروکپسول‌ها به روش وزن سنجی محاسبه شد. نتایج به صورت میزان رطوبت در ۱۰۰ گرم پودر گزارش گردید (۶).

##### ۲-۷-۲- اندازه ذرات پودر و شاخص بس

##### پاشیدگی (PDI)

برای اندازه‌گیری متوسط قطر و توزیع اندازه ذرات از دستگاه انکسار نور لیزر (مدل Zetasizer nano، ساخت شرکت Malvern، انگلستان) استفاده شد. برای محاسبه قطر متوسط ذرات که با نماد  $d_{43}$  (قطر حجم - طول) نمایش داده می‌شود، از رابطه زیر استفاده شد (۱۱).

$$D_{4,3} = \frac{\sum z_i d_i^4}{\sum z_i d_i^3}$$

در این معادله تعداد ذرات  $Z_i$  با قطر  $d_i$  می‌باشد.

صورت جداگانه در آب دیونیزه ۴۰ درجه سانتی‌گراد با هیتر استیرر<sup>۱</sup> مخلوط و تا ۱۰ درجه سانتی‌گراد سرد گردید. کازینات سدیم و کنسانتره آب پنیر در آب دیونیزه ۵۵ درجه سانتی‌گراد با هیتر استیرر، مخلوط شد. سپس تا دمای محیط سرد گردید. تمامی نمونه‌ها یک روز قبل از تهیه امولسیون تولید شدند. در تمامی نمونه‌ها از ۱ گرم توئین ۸۰<sup>۲</sup> به ازای ۱۰۰ گرم روغن ماهی در هنگام تهیه امولسیون استفاده گردید و آزید سدیم ۰/۰۲ درصد (وزنی / حجمی) به امولسیون به عنوان یک ماده ضد میکروبی اضافه شد. غلظت کل ماده جامد حل شده ۲۰٪ (وزنی / وزنی) در نظر گرفته شد. سپس روغن ماهی به نسبت ۱:۳ به محلول اضافه و با هموژنایزر اولتراتورکس<sup>۳</sup> به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۵۰۰۰ rpm کاملاً هموژن شده و امولسیون یکنواخت به دست آمد (۱۴، ۲۸).

سپس ابتدا آزمایشات مربوط به امولسیون‌ها انجام شده و پس از آن امولسیون‌ها جهت خشک شدن به روش انجمادی آماده گردیدند.

##### ۲-۵-۲- خشک کردن انجمادی امولسیون‌ها

امولسیون‌های تهیه شده ابتدا به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شده و پس از آن در خشک کن انجمادی (مدل FDB-5503، ساخت شرکت Operon، کره) در دمای ۴۰- درجه سانتی‌گراد و فشار ۰/۷ میلی بار به مدت ۷۲ ساعت خشک گردیدند. این پودرها در کیسه‌های پلاستیکی کاملاً درب بسته در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا آزمایشات فیزیکی شیمیایی لازم بر روی آن‌ها به عمل آید.

#### ۲-۶- آزمایشات انجام گرفته بر روی امولسیون‌ها

##### ۲-۶-۱- اندازه‌گیری شاخص کرمی شدن<sup>۴</sup> (ثبات امولسیون)

۲۵ میلی‌لیتر از هر امولسیون به درون یک استوانه مدرج ۲۵ میلی‌لیتری انتقال داده شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای

<sup>3</sup> Creaming index

<sup>5</sup> Appearance viscosity

<sup>2</sup> poly dispersity index

<sup>1</sup> Heater stirrer

<sup>2</sup> Tween 80

<sup>3</sup> Ultra turrax homogenizer

روغن میکروکپسوله (۱۰۰ گرم پودر / گرم)  $\times 100 =$  راندمان ریزپوشانی  
کل روغن (۱۰۰ گرم پودر / گرم)

#### ۴-۷-۲- بررسی مورفولوژی میکروکپسول‌ها

جهت بررسی سطوح خارجی میکروکپسول‌ها و مورفولوژی سطحی میکروکپسول‌های تولیدی به وسیله میکروسکوب الکترونی روبشی از سطح آن‌ها تصویر تهیه گردید. (۱۱).

#### ۸-۲- تجزیه و تحلیل آماری

از طرح مخلوط و نرم افزار Design Expert 7 جهت تعیین فرمولاسیون استفاده شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح معنی‌داری  $\alpha = 5\%$  استفاده شد. کلیه تجزیه و تحلیل آماری با نرم‌افزار SPSS15 و رسم نمودارهای موجود با استفاده از نرم‌افزار Excel 2013 انجام پذیرفت.

#### ۳- نتایج و بحث

##### ۱-۳- تعیین بازده استخراج

پس از انجام مراحل استخراج، روغنی زرد رنگ با بازده ۵/۱ درصد به دست آمد.

##### ۲-۳- تعیین پروفایل اسیدهای چرب روغن ماهی کیلکا

در این بررسی از بین تمام اسیدهای چرب شناسایی شده، بیشترین مقدار مربوط به اسید اولئیک (C18:1) با مقدار ۲۶/۷۷ درصد و بعد از آن اسیدهای چرب پالمیتیک (C16:0) و دوکوزا هگزانوئیک اسید یا DHA (C22:6n-3) با مقادیر ۱۹/۷۳ و ۱۶/۱ درصد تعیین گردید. کیلکای معمولی با داشتن میزان بالای (EPA+DHA)، ۲۱/۰۷ درصد، یکی از ماهیان مناسب از نظر این فاکتور تغذیه‌ای محسوب می‌شود (۲۶). در مطالعه اخیر مجموع مقادیر این دو اسید چرب ۲۳/۱۳ درصد گزارش گردید، که با نتایج باباخانی لشکان (۱۳۹۲) مطابقت دارد (۱).

همچنین شاخص بس پاشیدگی با توجه به منحنی توزیع اندازه ذرات توسط نرم افزار دستگاه، در دمای محیط و با سه تکرار محاسبه گردید.

##### ۳-۷-۲- راندمان ریزپوشانی<sup>۱</sup>

جهت استخراج روغن کل، یک نمونه ۴ گرمی از پودر را در ۴۰ ml آب با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد پخش و سپس به آرامی همزده شد. ۴ میلی‌لیتر هیدروکسید آمونیوم ۲۵٪ اضافه گردید و محلول در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم همراه با تکان دادن، حرارت داده شد. سپس محلول در دمای اتاق سرد و روغن توسط سه نوع حلال استخراج گردید. در مرحله اول: ۲۰ میلی‌لیتر اتانول، ۵۰ میلی‌لیتر دی اتیل اتر و ۵۰ میلی‌لیتر هگزان، در مرحله دوم: ۱۰ میلی‌لیتر اتانول، ۵۰ میلی‌لیتر دی اتیل اتر و ۵۰ میلی‌لیتر هگزان و در مرحله سوم: ۵۰ میلی‌لیتر دی اتیل اتر و ۵۰ میلی‌لیتر هگزان. بعد از فیلتراسیون از طریق کاغذ صافی حاوی سولفات سدیم بدون آب، حلال توسط تبخیرکننده دوار تبخیر گردید. سپس روغن جمع آوری و تا رسیدن به وزن ثابت توسط گاز نیتروژن خشک شد (۲۵). برای استخراج روغن آزاد، ۱۵ میلی‌لیتر هگزان به ۲ گرم پودر در یک شیشه ۳۰ میلی‌لیتری درب‌دار افزوده شد. به مدت ۲ دقیقه در دمای محیط هم زده تا روغن آزاد استخراج گردید. محلول از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شد و پودر باقی‌مانده روی کاغذ صافی سه مرتبه توسط هگزان شستشو گردید (در هر مرتبه از ۲۰ میلی‌لیتر استفاده شد). پودرهای باقی‌مانده، خشک و حلال نیز در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد تبخیر شد تا به وزن ثابت برسد (۸). جهت استخراج و تعیین میزان روغن کپسوله، روغن آزاد پودر خارج شده و پودر تا رسیدن به وزن ثابت خشک شد. سپس روغن میکروکپسوله به روش استخراج روغن کل استخراج گردید. راندمان ریزپوشانی به صورت زیر محاسبه شد (۲۸).

##### جدول ۳- پروفایل اسید چرب روغن ماهی کیلکا

<sup>3</sup> Encapsulation efficiency

روغن ماهی کیلکا (%)	اسیدهای چرب
۳/۸۳ ± ۰/۱۷	C14: 0
۱۹/۷۳ ± ۲/۲۶	C16: 0
۶/۷۴ ± ۰/۴۷	C16: 1 (9), ω <sub>9</sub>
۴/۲۷ ± ۰/۲۱	C18: 0
۲۶/۷۷ ± ۱/۷۳	C18: 1 (9), ω <sub>9</sub>
۲/۲۷ ± ۰/۰۷	C18: 2 (9,12), ω <sub>6</sub>
۲/۱ ± ۰/۳۰	C18: 3 (9,12,15), ω <sub>3</sub>
۲/۶۳ ± ۰/۱۷	C20: 1 (11), ω <sub>9</sub>
۷/۰۳ ± ۰/۲۹	C20: 5 (5,8,11,14,17), ω <sub>3</sub> , (EPA)
۱/۲۹ ± ۰/۱۰	C22: 5 (7,10,13,16,19), ω <sub>3</sub> , (DPA)
۱۶/۱ ± ۱/۳۴	C22: 6 (4,7,10,13,16,19), ω <sub>3</sub> , (DHA)
	SFA = 31.59%
	MUFA = 39.31%
	PUFA = 29.08%
	ω <sub>3</sub> /ω <sub>6</sub> = 1.4%
	Polyene Index = 0.92%

EPA: ایکوزاپنتانوئیک اسید DPA: دوکوزاپنتانوئیک اسید DHA: دوکوزاهگزانوئیک اسید SFA: اسیدهای چرب اشباع MUFA: اسیدهای چرب تک غیر اشباع PUFA: اسیدهای چرب چند غیر اشباع Polyene Index: نسبت PUFA/SFA

بیشترین مقدار بود. امولسیون‌هایی که با فرمولاسیون‌های فاقد کازئینات یا کازئینات در مقادیر کم و میزان بالای کنسانتره آب پنیر تهیه شده‌اند، شاخص کرمی شدن در آن‌ها به شدت افزایش یافته است، که این امر به دلیل ایجاد برهم کنش‌های هیدروفوبی و واندروالسی می‌باشد که کنسانتره آب پنیر در غلظت‌های بالا ایجاد می‌کند و باعث ناپایداری امولسیون می‌گردد.

**۳-۳- شاخص کرمی شدن**  
یکی از عواملی که بر کارایی ریزپوشانی روغن و مواد طعم-دهنده تأثیر می‌گذارد و سبب ثبات بهتر و کارایی بالاتر می‌گردد، پایداری امولسیون است که از طریق تعیین شاخص کرمی شدن مشخص می‌گردد. امولسیون‌های ناپایدار توانایی اندکی در حفظ و نگهداری مواد دارند. کرمی شدن نشانه اولیه عدم پایداری امولسیون‌های روغن در آب می‌باشد و منجر به دو فاز شدن امولسیون می‌شود (۱۳). شاخص کرمی شدن در امولسیون‌های تهیه شده از صفر تا ۶۶ درصد متغیر بود (جدول ۴). این شاخص در نمونه فاقد کازئینات دارای

## ۳-۴- ویسکوزیته

ویسکوزیته امولسیون‌های تهیه شده با نسبت‌های متفاوت مواد دیواره‌ای در جدول ۴ آورده شده است. ویسکوزیته امولسیون تهیه شده با فرمولاسیون ۱۲ به علت بالاتر بودن میزان کازئینات سدیم و کنسانتره آب پنیر نسبت به سایر فرمولاسیون‌ها دارای بیشترین مقدار (مقدار)  $2639/465 \pm 34/5$  mPa.s بود و اختلاف معنی داری ( $P \leq 0/05$ ) با سایر نمونه‌ها داشت. همچنین مشخص شد که با افزایش ویسکوزیته امولسیون، شاخص کرمی شدن کاهش می‌یابد. علت ناپایداری امولسیون در ویسکوزیته

پائین را می‌توان به حرکت آزادانه قطرات روغن در سیستم نسبت داد. به گونه‌ای که نیروهای ضعیف ویسکوز در فاز آبی، برای جلوگیری از برخورد قطرات روغن کافی نبوده و در اثر برخورد با یکدیگر منجر به تجمع قطرات می‌شوند که البته با گذشت زمان در اثر افزایش برخورد قطره-قطره، فلوکه-قطره و فلوکه-فلوکه و حرکات براونی میزان قطرات فلوکه شده افزایش می‌یابد. بنابر این با توجه به افزایش اندازه شعاع قطرات فلوکه شده نسبت به قطرات فلوکه نشده در امولسیون بر اساس قانون استوکس خامه‌ای شدن تسریع می‌شود (۳).

جدول ۴- خصوصیات امولسیون‌های تهیه شده با نسبت‌های متفاوت مواد دیواره ای

ویسکوزیته (mPa.s)	شاخص کرمی شدن (%)	فرمولاسیون
$394/05 \pm 25/32^b$	$0 \pm d$	F <sub>31/884,37/5,4/189,1/427</sub>
$49/58 \pm 8/5^{bc}$	$58 \pm b$	F <sub>20/089,20/226,20/019,14/666</sub>
$2639/34 \pm 465/5^a$	$8 \pm c$	F <sub>0,37/5,10/856,26/644</sub>
$73/87 \pm 2/3^{bc}$	$0 \pm d$	F <sub>0,15/3,05,22/195,37/5</sub>
$57/76 \pm 3/54^{bc}$	$60 \pm b$	F <sub>16/836,13/663,37/5,6/999</sub>
$20/33 \pm 0/21^c$	$66 \pm a$	F <sub>13/84,0,37/5,23/66</sub>

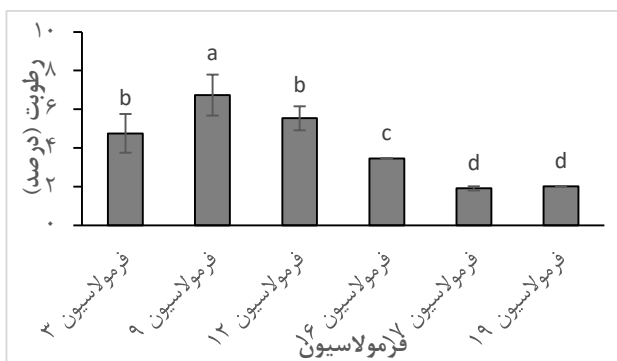
مقادیر در جدول نشان دهنده میانگین  $\pm$  انحراف معیار می‌باشد.

حروف لاتین غیر مشابه در جدول نشان دهنده معنی داری ( $P < 0/05$ ) بین تیمارها می‌باشد.

## ۳-۵- رطوبت

مقادیر رطوبت میکروکپسول‌های تولید شده در شکل ۱ آورده شده است. نتایج نشان داد که نوع و مقادیر متفاوت ترکیبات دیواره تأثیر معنی داری ( $P \leq 0/05$ ) بر میزان رطوبت میکروکپسول‌ها داشت. به طوری که در تیمار تهیه شده با فرمولاسیون ۹ بیشترین میزان رطوبت با  $6/73\%$  و در تیمار تهیه شده با فرمولاسیون ۱۷ کمترین میزان رطوبت با  $1/91\%$  مشاهده شد. در مطالعه هاندر و همکاران (۲۰۱۵) مشخص شد نوع و میزان ترکیبات دیواره سبب تغییر در میزان رطوبت پودرهای تولیدی می‌گردد که نتایج مطالعه ما با نتایج محققین مذکور، مطابقت دارد (۱۷). همچنین تفاوت سرعت خشک کردن و ظرفیت نگهداری آب در ساختار و تخلخل ذرات پودر

در طی دوره خشک کردن نیز ملاحظات مهمی هستند که در تعیین مقدار رطوبت مؤثر می‌باشند (۱۸).



شکل ۱- رطوبت میکروکپسول‌های تولید شده



## ۳-۶- اندازه ذرات میکروکپسول‌ها و شاخص بس

## پاشیدگی

اندازه ذرات در تیمارها با فرمولاسیون‌های مختلف بین ۰/۴۲ تا ۱/۴ میکرومتر متغیر بود. طبق نتایج به دست آمده اختلاف معنی‌داری بین اندازه ذرات میکروکپسول‌ها مشاهده گردید ( $P \leq 0/05$ ). لگاگو و همکاران (۲۰۰۹) عدم یکسانی شکل و اندازه پودرها را ناشی از تفاوت در میزان رطوبت پودر

حاصله دانستند (۲۲). نتایج هاندر و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که ترکیبات مختلف دیواره و تکنیک ریزپوشانی هر دو به‌طور معنی‌داری بر روی اندازه، شکل و به‌طور کلی ساختار میکروکپسول‌ها اثر گذار است (۱۷). همچنین شاخص بس پاشیدگی در تیمارها با فرمولاسیون‌های ۱۶ و ۹ به ترتیب ۰/۱ و ۰/۲ گزارش گردید که نشان‌دهنده پراکندگی کمتر در اندازه ذرات می‌باشد.

جدول ۵- اندازه ذرات و شاخص بس پاشیدگی میکروکپسول‌های تولید شده

شاخص بس پاشیدگی (PDI)	اندازه ذرات میکروکپسول‌ها ( $d_{4,3} \mu m$ )	فرمولاسیون
$0/92 \pm 0/02a$	$1/4 \pm 0/1^a$	F ۳۱/۸۸۴,۳۷/۵,۴/۱۸۹,۱/۴۲۷
$0/2 \pm 0/04^e$	$1/37 \pm 0/13^a$	F ۲۰/۰۸۹,۲۰/۲۲۶,۲۰/۰۱۹,۱۴/۶۶۶
$0/62 \pm 0/05^b$	$0/89 \pm 0/16^b$	F ۰,۳۷/۵,۱۰/۸۵۶,۲۶/۶۴۴
$0/1 \pm 0/01^f$	$1/3 \pm 0/08^a$	F ۰,۱۵/۳۰۵,۲۲/۱۹۵,۳۷/۵
$0/39 \pm 0/02^d$	$0/43 \pm 0/03^c$	F ۱۶/۸۳۶,۱۳/۶۶۳,۳۷/۵,۶/۹۹۹
$0/46 \pm 0/02^c$	$0/42 \pm 0/02^c$	F ۱۳/۸۴۰,۳۷/۵,۲۳/۶۶

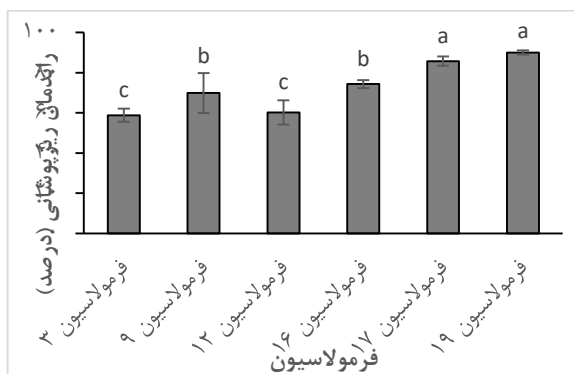
مقادیر در جدول نشان دهنده میانگین  $\pm$  انحراف معیار می‌باشد.

حروف لاتین غیر مشابه در جدول نشان دهنده معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) بین تیمارها می‌باشد.

## ۳-۷- راندمان ریزپوشانی

راندمان ریزپوشانی یکی از فاکتورهای مهم در تعیین پایداری ترکیبات کپسوله شده می‌باشد، زیرا نشانگر وجود روغن سطحی بر سطح ذرات پودر و توانایی دیواره‌ها در جلوگیری از خروج روغن درونی است. (۲۱، ۱۶). راندمان ریزپوشانی تعیین مقدار روغنی است که با موفقیت کپسوله شده و از مقادیر روغن سطحی و روغن کل محاسبه می‌گردد (۲۱). پودرهای تهیه شده با فرمولاسیون ۱۹ دارای بالاترین راندمان (۹۰/۰۲ درصد) بودند که با پودرهای تهیه شده با فرمولاسیون ۱۷ اختلاف معنی‌داری ( $P \leq 0/05$ ) نداشتند. در مقادیر راندمان ریزپوشانی با توجه به تفاوت در ترکیبات دیواره و نسبت آن‌ها اختلاف وجود داشت. کاهش در راندمان می‌تواند به علت مواد دیواره‌ای ناکافی در تولید ماتریکسی قوی، ایجاد لایه‌های نازک‌تر از مواد دیواره بین قطرات روغن کپسوله و یا بی‌ثباتی قطرات امولسیون طی فرایند خشک

کردن باشد و افزایش راندمان ریزپوشانی احتمالاً به دلیل تشکیل سریع پوسته بر سطح ذرات می‌باشد. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که نوع دیواره و هسته، ویژگی‌های امولسیون و پارامترهای خشک کردن بر میزان راندمان اثر گذارند (۱۹، ۹، ۲۱).

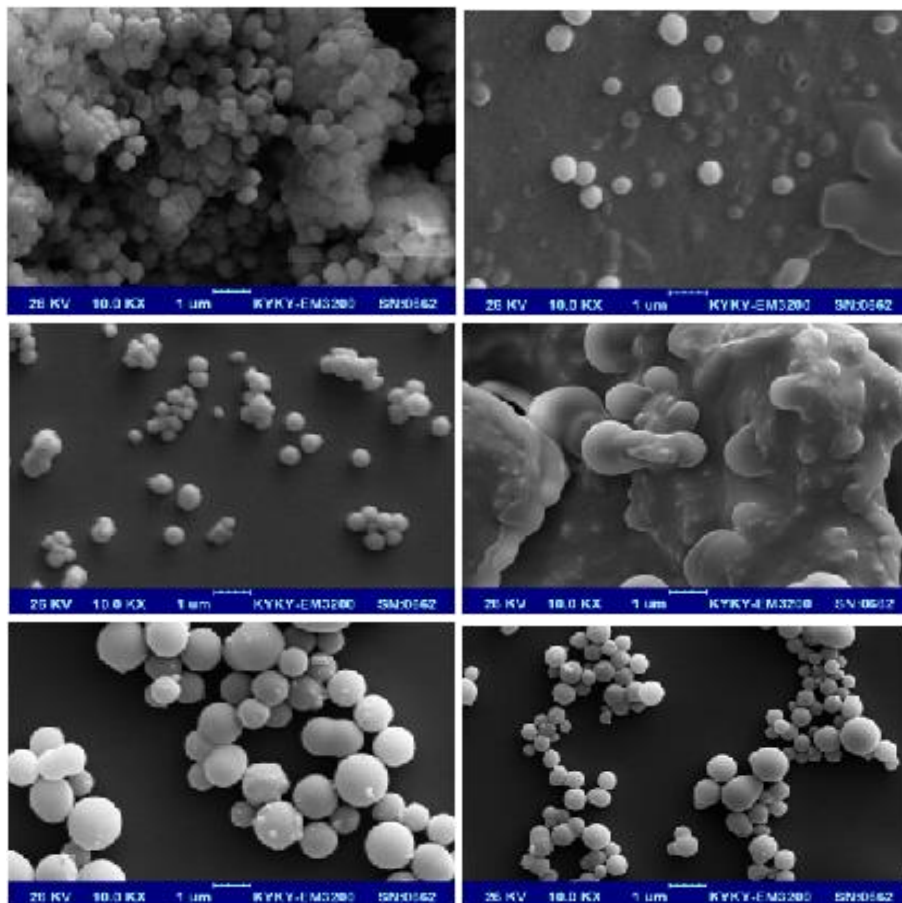


شکل ۲- راندمان ریزپوشانی میکروکپسول‌های تولید شده

### ۸-۳- مورفولوژی میکروکپسول‌ها

با توجه به تصاویر گرفته شده توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی، پودرهای میکروکپسوله روغن ماهی با راندمان ریزپوشانی بالاتر، تصاویر کروی تر با سطوحی صاف داشتند و خروج روغن ماهی در آن‌ها کمتر مشاهده شد (شکل‌های ۳، ۳، ۳ و ۳). همانطور که در شکل‌های ۳، ۳، ۳ و ۳ مشاهده می‌شود ذرات پودر، به هم چسبیده و آگلومره شده‌اند که می‌تواند به دلیل بالاتر بودن رطوبت در پودرهای تهیه شده با این فرمولاسیون‌ها نسبت به سایر پودرهای تهیه شده باشد. در شکل ۳، پ مشاهده می‌گردد میکروکپسول‌ها

کاملاً باز شده و محتوای هسته (روغن ماهی) خارج شده است که می‌تواند با پائین بودن راندمان ریزپوشانی و بالاتر بودن میزان رطوبت در پودر میکروکپسوله توجیه گردد. ویژگی‌های ظاهری و کیفیت سطحی میکروکپسول‌ها نیز بر راندمان موثر است و تابع نوع ماده دیواره می‌باشد (۲). لیم و همکاران (۲۰۱۱) راندمان بالاتری را در ذرات با سطوح صاف گزارش نمودند (۲۳) که با مشاهده تصاویر پودرهای میکروکپسول و مقایسه راندمان ریزپوشانی پودرهای میکروکپسوله روغن ماهی در تحقیق حاضر می‌توان به همان نتایج دست یافت.



شکل ۳- تصویر SEM پودر میکروکپسول روغن ماهی حاصل از فرمولاسیون‌ها

الف: فرمولاسیون ۳، ب: فرمولاسیون ۹، پ: فرمولاسیون ۱۲، ت: فرمولاسیون ۱۶، ث: فرمولاسیون ۱۷، ج: فرمولاسیون ۱۹

- of Microencapsulated Fish Oil during Refrigerated Storage. *Journal of Food Processing and Preservation* ISSN 1745-4549.
6. AOAC. 2006. *Official Methods of Analysis* (18th Ed.). Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, Maryland.
  7. Aydin, I. and Gokoglu, N. 2014. Effects of temperature and time of freezing on lipid oxidation in anchovy (*Engraulis encrasicolus*) during frozen storage. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, 116 (8): 996-1001.
  8. Bae, E.K. and LEE, S.J. 2008. Microencapsulation of avocado oil by spray drying using whey protein and maltodextrin. *Journal of Microencapsulation*, 25(8): 549-560.
  9. Baik, M.-Y., Suhendro, E.L., Nawar, W.W., McClements, D.J., Decker, E.A. and Chinachoti, P. 2004. Effects of Antioxidants and Humidity on the Oxidative Stability of Microencapsulated Fish Oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 81: 355-360.
  10. Bligh, E. G. and Dyer, W. J. 1959. A rapid method for total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37: 911-917.
  11. Carneiro, H.C.F., Tonon, R.V., Grosso, C.R.F. and Hubinger, M.D. 2013. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Food Engineering*, 115: 443-451.
  12. Danviriyakul, S., McClements, D.J., Decker, E., Nawar, W.W. and Chinachoti, P. 2002. Physical stability of spray-dried milk fat emulsion as affected by emulsifiers and processing conditions. *Journal of Food Science*, 67(6): 2183-2189.
  13. Dickinson, E. 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed system. *Food Hydrocolloids*, 17: 25-39.

یافته‌های حاصل از این بررسی نشان داد که خصوصیات فیزیکوشیمیایی امولسیون و پودر با تغییر نوع و نسبت ترکیبات دیواره نتایج متفاوتی داشتند. با مشاهده تصاویر میکروسکوپ الکترونی و مقایسه ضرایب ریزپوشانی پودرهای تهیه شده با فرمولاسیون‌های مختلف می‌توان بیان کرد میکروکپسول‌های با سطوح صاف، کروی‌تر و رطوبت کمتر ضریب کپسولاسیون بالاتری نسبت به سایر میکروکپسول‌های تهیه شده می‌باشند.

## ۵- منابع

۱. باباخانی لشکان، آ. رضائی، م. و سیف آبادی، ج. ۱۳۹۲. استفاده از عصاره جلبک قهوه‌ای سارگاسوم (*Sargassum angytilifolium*) به عنوان آنتی اکسیدان در نگهداری گوشت چرخ شده ماهی کیلکای معمولی (*Clupeonella cultriventris*) در یخچال. نشریه شیلات دانشگاه تهران، دوره ۶۶، شماره ۱، صفحات ۱۳-۱۳.
۲. نجف نجفی، م. مرتضوی، س.ع. کدخدایی، ر. و طباطبایی، ف. ۱۳۸۹. بررسی تأثیر بر هم کنش Tween 80 و Hi-cap بر خصوصیات امولسیون روغن هل در آب و میکروکپسول تهیه شده از آن، نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، جلد ۶، شماره ۴، صفحات ۲۶۲-۲۵۴.
۳. یوسفی، ف. عباسی، س. و عزت پناه، ج. ۱۳۹۱. تأثیر میزان صمغ فارسی، روغن، پروتئین و پ هاش بر پایداری امولسیون تهیه شده با فرا صوت. نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، جلد ۱، شماره ۳، صفحات ۲۱۸-۱۹۹.
4. Aliasghari, M. and Parafkandeh Haghghi, F. 2013. A comparative on reproduction of kilka species (*Clupeidae*) in southeastern parts of the Caspian Sea. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 12(3):522-532.
5. Annamalai, J., Dushyant C, K. and Gudipati, V. 2015. Oxidative Stability

- materials on the physicochemical properties and oxidative stability of spray-dried microencapsulated red-flashed Pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) seed oil. *Food Bioprocess and Biotechnology*, 5(4): 1220-1227.
24. Motalebi, A.A. and Seyfzadeh, M. 2011. Effects of whey protein edible coating on bacterial, chemical and sensory characteristics of frozen common Kilka (*Clupeonellia delitula*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 11(1): 132-144.
25. Richardson, G. H. 1985. In *Standard methods for the examination of dairy products* Washington: American Public Health Association. (15th ed., pp. 358).
26. Tarley, C.R.T., Visentainer, J. V., Matsushita, M. and de Souza, N. E. 2004. Proximate composition, cholesterol and fatty acids profile of canned sardines (*Sardinella brasiliensis*) in soybean oil and tomato sauce. *Food Chemistry*, 88, 1-6.
27. Vasishtha, N. 2003. Microencapsulation using electromagnetic energy and core and shell materials with different dielectric constants and dissipation factors. US patent 20030062641A1.
28. Velasco, J., Dobarganes, C., Holgado, F. and Marquez-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.
29. Wanasundara, U.N. and Shahidi, F. 1998. Lipase-assisted concentration of n-3 polyunsaturated fatty acids in acylglycerols from marine oils. *Journal of the American Oil Chemists\_ Society*, 75(8): 945-951.
14. Gallardo, G., Guida, L., Martínez, V., López, M. C., Bernhardt, D., Blasco, R. et al. 2013. Microencapsulation of linseed oil by spray drying for functional food application. *Food Research International*, 52(2): 473-482.
15. Goula, A.M. and Adamopoulos, K.G. 2012. A new technique for spray-dried encapsulation of lycopene. *Drying Technology*. 30 (6): 641-652.
16. Hogan, S.A., McNamee, B.F., Dolores O'Riordan, E. and O'Sullivan, M. 2001. Emulsification and microencapsulation properties of sodium caseinate/carbohydrate blends. *International Dairy Journal*, 11: 137-144.
17. Hundre, S.Y., Karthik, P. and Anandharamakrishnan, C. 2015. Effect of whey protein isolate and beta cyclodextrin wall systems on stability of microencapsulated vanillin by spray-freeze drying Method. *Food Chemistry*. 174:16-24.
18. Jafari, S.M., Assadpoor, E., Bhandari, B. and He, Y. 2008. Nano-particle encapsulation of fish oil by spray drying. *Food Research International*, 41 ,172-183.
19. Jafari, S.M., He, Y. and Bhandari, B. 2007. Optimization of nano-emulsions production by microfluidization. *Eur Food Res Technol*, 225: 733-741.
20. Karimzadeh, G., Gabrielyan, B. and Fazli, H. 2010. Population dynamics and biological characteristics of kilka species (*Pisces: Clupeidae*) in the southeastern coast of the Caspian Sea. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 9(3): 422-433.
21. Klinkesorn, U., Sophanodora, P., Chinachoti, P., DECKER, E.A. and McClements, D.J. 2006. Characterization of spray-dried tuna oil emulsified in two-layered interfacial membranes prepared using electrostatic layer-by-layer deposition. *Food Research International*, 39: 449-457.
22. Legako, J. and Dunford, N.T. 2010. Effect of spray nozzle design on fish oil-whey protein microcapsule properties. *Food Science*, 75(6): 394-400.
23. Lim, H.K., Tan, C.P., Bakar, J. and Ng, S.P. 2011. Effects of different wall

