



ارزیابی اثر ژلاتین ماهی، کاپا کاراگینان و روش‌های مختلف ریزپوشانی بر پایداری اکسایشی میکروکپسول‌های روغن ماهی

بهاره شعبانپور^{۱*}، بهار مهاد^۲، پرستو پورعاشوری^۳، سید مهدی جعفری^۴

۱. استاد، گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲. دانش آموخته دکتری، گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۳. استادیار، گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۴. دانشیار، گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ دریافت: 96/3/21، تاریخ بازنگری: 96/3/31، تاریخ پذیرش: 96/4/14)

چکیده

در این پژوهش پایداری اکسایشی روغن ماهی ریز پوشانی شده با دیواره‌های مختلف ژلاتین ماهی، کاپا کاراگینان و ترکیبی و روش‌های فیزیکی و شیمیایی کوسرواسیون، خشک کردن پاششی و انجمادی مورد بررسی قرار گرفت. میزان رهایش پودرهای ریزپوشانی شده در شرایط آزمایشگاهی و بررسی شاخص پراکسید و آنیسیدین طی 10 روز نگهداری در شرایط تشدید شده (45 °C) ارزیابی شد. نتایج بررسی میزان حلالیت پودرهای پروتئینی و پایداری اکسایشی نشان دادند که ژلاتین ماهی بهترین ترکیب دیواره و روش کوآسرواسیون نیز مناسب‌ترین روش برای ریزپوشانی روغن ماهی بود. به طوری که پودرهایی با میزان حلالیت بالاتر و پراکسید و آنیسیدین کم‌تر طی نگهداری را تولید نماید. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان ترکیب هسته رها شده در پودرهای تهیه شده با روش کوسرواسیون مشاهده گردید (93/16 و 80٪). دیواره ژلاتینی میزان رهایش بیش‌تری را در مقایسه با سایر دیواره‌ها در روش خشک‌کن پاششی و خشک‌کن انجمادی داشت. مقایسه سه روش تولیدی و مواد دیواره نشان داد که ترکیب دیواره و نوع روش تولیدی با تاثیر بر خواص فیزیکی، روی پایداری روغن ماهی ریزپوشانی شده موثر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: خشک‌کردن انجمادی و پاششی، روغن ماهی، رهایش کنترل شده، ریزپوشانی، ژلاتین ماهی، کوآسرواسیون.

1- مقدمه

دریایی منبعی از انواع مختلف پلی‌ساکاریدها می‌باشند. یکی از این پلی‌ساکاریدها، کاراگینان، خانواده‌ای از پلی‌ساکاریدهای سولفات‌ه با جرم مولی بالا و پلی-الکترولیت‌هایی آنیونی، است. استحکام ژلی کاراگینان در ترکیب با سایر مواد برای ریزپوشانی مناسب است و به‌عنوان ماده دیواره در ریزپوشانی می‌تواند استفاده شود [11].

ژلاتین یکی از رایج‌ترین بیوپلیمرهاست که به‌طور وسیعی مورد استفاده قرار می‌گیرد. نقاط آب‌گریز و زنجیره پپتیدی به ژلاتین امکان امولسیفایر بودن می‌دهد و قادر است در امولسیون‌های روغن در آب به‌عنوان امولسیفایر عمل نماید. ویژگی ژله‌ای شدن، توانایی تشکیل فیلم و پایداری آن، این ترکیب را به‌عنوان ماده دیواره مناسب ریزپوشانی معرفی نموده است [12-14].

مطالعات بسیاری روی ریزپوشانی روغن ماهی انجام شده است. گارسیا و همکاران [15] به بررسی ترکیب ماده دیواره در کارایی ریزپوشانی روغن ماهی پرداختند. نتایج آن‌ها نشان داد که استفاده از مالتودکسترین، صمغ عربی و ژلاتین در ترکیب با یکدیگر، درصد کارایی ریزپوشانی را افزایش می‌دهد. آقباشلو و همکاران [16] دمای انتقال شیشه‌ای مواد دیواره را در شکل‌گیری دیواره و کارایی ریزپوشانی موثر گزارش کردند. تاثیر استفاده از ترکیب پروتئین (کازئینات) و کربوهیدرات در ریزپوشانی روغن ماهی نشان داد که کارایی ریزپوشانی را افزایش می‌دهد و با افزایش مقدار کازئینات، کارایی بهبود می‌یابد [17]. در همین راستا استفاده از کازئینات سدیم به‌همراه صمغ عربی سبب افزایش کارایی ریزپوشانی از 77 به 98٪ گردید [18]. در مطالعه‌ای روغن تخم کتان با استفاده از دیواره‌های مختلف ریزپوشانی گردید. میکروکپسول‌ها به کمک صمغ عربی، مالتودکسترین، متیل سلولوز و ایزوله پروتئین سویا و با روش خشک‌کن پاششی تولید شدند. این دیواره‌ها مناسب برای ریزپوشانی گزارش شدند و ترکیب آن‌ها پیشنهاد گردید [19]. کورتس و همکاران [20] ریزپوشانی عصاره میخک غنی از اوژنول را در دیواره‌ای از جنس لیپید با استفاده از دو روش خشک‌کن پاششی و خشک‌کن انجمادی مورد مطالعه قرار دادند. در طی بررسی آن‌ها نمونه‌های به‌دست آمده از خشک‌کن انجمادی بهتر توانسته بودند ترکیبات هسته را درون

امروزه بازار مواد غذایی به سمت غذاهایی تمایل دارد که علاوه بر تامین نیازهای تغذیه‌ای، بر سلامت انسان نیز موثر باشد. غذاهای فراسودمند، یکی از بخش‌هایی است که رشد سریعی پیدا و در طی دهه اخیر توجه زیادی را به خود معطوف کرده است [1]. روغن ماهی به‌عنوان یکی از غذاهای فراسودمند بوده و فواید سلامتی‌بخشی حاصل از مصرف ایکوزاپنتانویک اسید و دوکوزاهزانویک اسید موجود در ماهی و روغن ماهی، مانند محافظت در برابر بیماری‌های قلبی‌عروقی و بیماری‌های التهابی مختلف به اثبات رسیده است [2]. یکی از روش‌های افزایش مصرف اسیدهای چرب بلند زنجیره غنی‌سازی مطلوب محصولات با این ترکیبات است [3]. از این رو یکی از چالش‌های پیش رو نحوه افزودن این ترکیبات با توجه به بو و طعم خاص آن‌ها می‌باشد [4]. چالش دیگر در افزودن روغن ماهی به محصولات مختلف، حساسیت بالای آن نسبت به اکسیداسیون می‌باشد. شکست زنجیره‌های بلند امگا-3 طی غنی‌سازی و نگهداری سبب کاهش ارزش تغذیه‌ای و از بین رفتن طعم و بوی مناسب محصول می‌گردد [5]. یکی از راهکارهای مناسب افزودن روغن ماهی، ریزپوشانی آن می‌باشد، که از اکسیداسیون اسیدهای چرب چند غیراشباع امگا-3 نیز حفاظت می‌کند و مواد در درون ماتریکس حفاظتی قرار داده می‌شوند و ارزش غذایی و کیفیت ارگانولپتیکی این مواد را حفظ می‌نماید [6, 7].

هسته، مواد دیواره و روش تولید در فرایند ریزپوشانی موفق و ویژگی‌های نهایی محصول اثر می‌گذارند. خشک‌کردن پاششی، کوسرواسیون و اکستروژن از تکنولوژی‌های اصلی و رایج در ریزپوشانی ترکیبات چربی دوست هستند [8]. ریزپوشانی روغن ماهی با امولسیون‌های چند لایه مانند کیتوزان و ترکیبات پلی‌ساکاریدی اثر موفقی در جلوگیری از اکسیداسیون روغن ماهی نشان داده است [9]. بیوپلیمرها و پلیمرهای سنتزی می‌توانند از مواد مورد استفاده به‌عنوان دیواره باشند. اما جهت ریزپوشانی روغن‌های دریایی در مواد غذایی سلامتی‌بخش تنها می‌توان از بیوپلیمرهای مجاز غذایی استفاده کرد. کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و لیپیدها از مواد دیواره مورد استفاده در ریزپوشانی هستند [10]. جلبک‌های

طول شب در بن‌ماری شیکردار ممرت ساخت کشور آلمان در دمای 30°C قرار گرفتند. درصد کل مواد جامد محلول، 40 درصد وزنی/حجمی و نسبت هسته به دیواره، 4:1 برای تمامی امولسیون‌ها در نظر گرفته شد (جدول 1). پایدارترین امولسیون از هر تیمار با بررسی شاخص کرمی شدن انتخاب گردید. امولسیون‌ها به مدت 5 دقیقه در 12000 دور بر دقیقه به کمک هموژنایزر مدل Ultraturrax IKA T25 ساخت کشور آلمان هموژن گردیدند. در مورد دیواره‌های کربوهیدراتی از لسیترین به‌عنوان امولسیفایر استفاده گردید. سپس آزمایشات بررسی پایداری امولسیون‌ها انجام شده و پس از آن امولسیون‌ها جهت خشک‌شدن به روش خشک‌کردن انجمادی و خشک‌کردن پاششی آماده گردیدند [10]. فرایند خشک‌شدن امولسیون‌های منجمد در خشک‌کن انجمادی 45 ساعت به طول انجامید. توده‌های اسفنجی حاصله با استفاده از یک هاون چینی به پودر یکنواختی تبدیل شدند. شرایط عملیاتی خشک‌کن پاششی پس از انتخاب دمای ورودی و خروجی مناسب تعیین گردید. امولسیون‌ها در دمای ورودی 180°C و خروجی 80°C خشک شدند. برای تولید نمونه‌ها با روش کوسرواسیون، ابتدا روغن ماهی (10٪) در محلول پلی‌وینیل‌الکل (0/5 گرم) با استفاده از همزن مغناطیسی حل شد. سپس این مخلوط به محلول کاپا کاراگینان و ژلاتین اضافه شد. از پلی‌وینیل‌الکل به‌عنوان حلال و افزایش‌دهنده قدرت یونی استفاده شد [22].

در این مرحله، pH حدود 4/5-5 بود که پایین‌تر از نقطه ایزوالکتریک ژلاتین بوده و بنابراین ژلاتین با بار مثبت و کاپا کاراگینان با بار منفی قادر به تشکیل توده بودند. در حین فرایند مخلوط کردن، قدرت یونی مخلوط توسط نمک طعام با غلظت 0/1 M تنظیم گردید، و از افزودن نمک به میزان زیاد جلوگیری گردید، زیرا فرایند ریزپوشانی را متوقف می‌کند [23، 24]. مرحله بعد مربوط به مستحکم‌سازی دیواره میکروکپسول‌ها بود که از گلوکارآلدئید (1 mmol/g) استفاده شد [25، 26]. در نهایت پودرهای تولیدی در هر سه روش در ظروف مخصوص و کاملاً دربسته در فریزر 20°C - نگهداری گردیدند تا آزمایشات لازم بر روی آن‌ها به‌عمل آید. حلالیت پودر و رهایش میکروکپسول‌های تولیدی اندازه‌گیری شده و پایداری اکسیداسیونی میکروکپسول‌های تولیدی تحت شرایط تسریع

خود نگهداری کنند. پیاسنتینی و همکاران [21] توانستند روغن را با استفاده از ژلاتین ماهیان سردآبی و صمغ عربی و با روش کوآسرواسیون مرکب ریزپوشانی کنند. در تحقیق آن‌ها بیش‌ترین کوآسروات‌ها در pH حدود 3/5 تولید شدند.

طبق مطالعات انجام شده، برای افزایش کارایی ریزپوشانی، حفظ کیفیت ماده هسته و افزایش پایداری اکسایشی روغن ماهی، روش‌های ریزپوشانی و مواد دیواره مختلفی به‌کار گرفته شده‌اند. از بین مواد دیواره پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها برای ریزپوشانی روغن ماهی به‌کار رفته‌اند. در بین دیواره‌های کربوهیدراتی، کاراگینان با توجه به خواص مطلوب آن، به‌عنوان دیواره مورد استفاده قرار گرفته است. ترکیب کاراگینان با ژلاتین ماهی تاکنون به‌عنوان دیواره در ریزپوشانی روغن ماهی در مطالعات بررسی نشده است. علاوه بر این، در مطالعات اندکی روش‌های فیزیکی با روش‌های شیمیایی مورد مقایسه قرار گرفته‌اند. از این‌رو در این مطالعه، میکروکپسول‌های روغن ماهی توسط مواد دیواره کاراگینان و ژلاتین ماهی با سه روش مختلف ریزپوشانی تولید شده و میزان رهایش و پایداری اکسایشی میکروکپسول‌های تولیدی طی نگهداری ارزیابی گردید.

2- مواد و روش

2-1- مواد مورد استفاده

روغن ماهی منهدان، K-کاراگینان، ژلاتین از پوست ماهیان سردآبی، نوع A، وزن مولکولی 60 کیلودالتون، آنیسیدین، پیسین، محلول گلوکارآلدئید 25٪ و پلی‌وینیل‌الکل با وزن مولکولی 31-50 kDa، از شرکت سیگما-آلدریج ساخت کشور آمریکا تهیه شدند. مالتودکسترین از شرکت مواد شیمیایی پاسارگاد و سایر مواد شیمیایی مورد استفاده در تمامی آزمایشات با درجه آزمایشگاهی از شرکت‌های مرک و اپلیکم ساخت کشور آلمان خریداری گردیدند. در تمامی محلول‌ها از آب مقطر دوبار تقطیر استفاده شد.

2-2- مراحل تولید میکروکپسول‌ها

2-2-1- تهیه امولسیون‌ها

برای تهیه امولسیون‌ها محلول‌های مواد دیواره یک روز قبل از تهیه امولسیون، تولید شده و جهت اطمینان از آبگیری در

جدول (1) تیمارهای آزمایشی جهت ریزپوشانی روغن ماهی با استفاده از کاراگینان و ژلاتین ماهی
Table 1 Experimental treatments to encapsulation of fish oil by Fish Gelatin and κ -carrageenan

هسته Core	ترکیب دیواره Wall material				تیمار Treatment
	روغن ماهی Fish Oil	لسیتین سویا Soy Lecithin	مالتودکسترین Maltodextrin	کاراگینان κ -Carrageenan	
			32.5	-	ژلاتین ماهی Fish Gelatin
10		0.5	38.5	1	کاپاکاراگینان κ -Carrageenan
		0.5	31.5	1	ژلاتین ماهی - کاپاکاراگینان Fish Gelatin+ κ -Carrageenan

شده ($45 \pm 2^\circ \text{C}$) به مدت 10 روز مورد بررسی قرار گرفت [27]. و با n-هگزان به حجم رسانده شد. جذب محلول (A_1) در 350 nm در مقابل شاهد ایزواکتان اندازه‌گیری شد. 5 mL از محلول درون یک لوله آزمایش ریخته شده و دقیقاً 1 mL معرف p-آنیسیدین (2/5 g/L آنیسیدین در اسیداستیک گلاسیال) به آن اضافه شد. سپس بلافاصله پس از 10 min جذب نمونه‌ها (A_2) در مقابل شاهد اندازه‌گیری شد. میزان این شاخص طبق معادله (2) محاسبه گردید [29].

$$\text{شاخص p-آنیسیدین} = \frac{25 \times (1.2A_2 - A_1)}{M} \quad (2)$$

2-5- اندازه‌گیری شاخص پراکسید

شاخص پراکسید پودرهای روغن ماهی با استفاده از روش کریک و سایور [29] اندازه‌گیری شد. کلروفورم:متانول (70:30 حجمی) با 0/3 g (W) پودر مخلوط، 0/05 mL محلول تیوسیانات آمونیوم 30 درصد به ترکیب فوق اضافه و جذب در 500 nm (E_0) خوانده شد. پس از آن 0/05 mL محلول کلرید آهن به آن اضافه و بلافاصله بعد از 5 min جذب خوانده شد (E_2). همزمان، تعیین جذب شاهد نیز انجام گرفت (E_1). منحنی استاندارد جذب در مقابل $\mu\text{g Fe}$ با استفاده از 2 mL - 0/25 محلول کلرید آهن فریک حاوی 10 mg آهن و 7/9 - 9/65 mL مخلوط کلروفورم/متانول، 0/05 mL محلول تیوسیانات آمونیوم و 0/05 mL محلول هیدروکلریک M 0/2 رسم گردید. محاسبات طبق معادلات 3 و 4 محاسبه گردید.

$$m : \mu\text{g Fe} = E_2 - (E_0 + E_1) \quad (3)$$

2-2- ارزیابی رهایش کنترل‌شده و نگهداری مواد هسته¹

0/1 گرم از هر یک از میکروکپسول‌ها به لوله‌های آزمایش حاوی 2 mL محلول پپسین (2 mg/mL و pH=2) اضافه شد. سوسپانسیون حاصل در حمام آبی 37°C به مدت 5 h قرار داده شد و نمونه‌ها از هر لوله آزمایش با فواصل زمانی 1 h تا 5 روی کاغذ صافی واتمن قرار داده شدند تا خشک شوند. سپس مقدار روغن رها شده طبق معادله (1) اندازه‌گیری گردید [28].

$$(1) \quad (\text{روغن رها شده از میکروکپسول}) = \text{درصد رهایش} \times 100 \quad (\text{روغن نگهداری شده در میکروکپسول‌های خشک})$$

2-3- اندازه‌گیری حلالیت پودرهای تولیدی در آب

حلالیت میکروکپسول‌های با دیواره پروتئینی طبق روش گان و همکاران [28] تعیین شد. 0/1 g میکروکپسول در لوله‌های سانتریفوژ حاوی 5 mL آب مقطر قرار داده شدند و به مدت 5 h در 37°C انکوباسیون گردیدند. سپس نمونه‌ها به مدت 15 min، 2500 \times سانتریفوژ شدند و پس از آن غلظت پروتئین محلول در فاز آبی تعیین و نتایج به صورت mg/g بیان شدند.

2-4- اندازه‌گیری شاخص p-آنیسیدین

4 g - 0/5 (M) پودر در یک بالن ژوژه 25 mL ریخته شد

1. Controlled release and core retention

در طی 5 h انکوباسیون نشان داد که پودرهای تهیه شده با روش کوسرواسیون و دیواره‌های ترکیبی و کاراگینان به ترتیب با 93/16 و 80٪، بیش‌ترین و کم‌ترین میزان رهایش را داشتند (شکل‌های 1 تا 3). تمامی پودرهای تولیدی مقدار رهایش روند افزایشی داشته و پس از آن این روند یکنواخت‌تر گردید. طبق مطالعات مکانیسم رهایش کنترل‌شده مبتنی بر ویژگی‌های سطحی میکروکپسول‌ها است [2، 31]. تشکیل سریع شبکه و پیوندهای عرضی در حفظ مواد موثر می‌باشد. نتایج این تحقیق با مطالعات چو و همکاران [2]، بائو و همکاران [32]، یانگ و همکاران [33] و سانتوس و همکاران [34] مطابقت داشته و رهایش هسته در طول زمان به تدریج افزایش یافته و بیش‌ترین میزان آن در ساعت پنجم گزارش گردید. این روند به خروج هسته از حفره‌ها و روغن‌های سطحی میکروکپسول‌ها ارتباط داده شد. جذب محلول اطراف میکروکپسول‌ها، رهایش هسته را القا می‌کند. در ابتدا میکروکپسول‌ها حلال را جذب کرده و منبسط می‌شوند سپس هسته رها شده و از دیواره نشت می‌کند و به درون حلال انتشار می‌یابد [35، 36]. در روش خشک‌کن پاششی و خشک‌کن انجمادی تیمار ژلاتین میزان رهایش بیش‌تری را نسبت به سایر دیواره‌ها از خود نشان داد

$$\text{شاخص پراکسید} = \frac{m}{55.84 \times W} \text{ mEq / kg} \quad (4)$$

6-2- تعیین شاخص توتاکس

شاخص توتاکس با استفاده از شاخص‌های PV و ρ-AV طبق معادله 5 محاسبه شد [30].

$$\text{شاخص توتاکس} = 2PV + \rho - AV \quad (5)$$

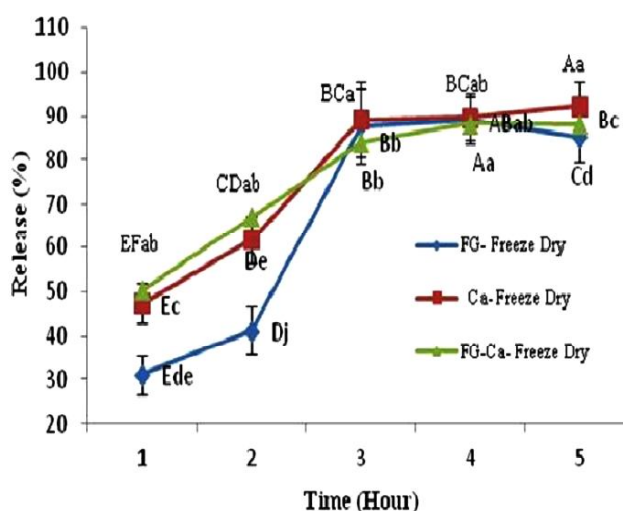
7-2- آنالیز آماری

در تمامی موارد آنالیز روی سه تکرار برای هر تیمار انجام گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS16 استفاده شد. معنی‌دار بودن نتایج حاصل از بررسی فاکتورهای مختلف پودرهای تولیدی با استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه و آزمون دانکن در سطح $p < 0/05$ بررسی شدند.

3- نتایج و بحث

3-1- رهایش کنترل‌شده میکروکپسول‌های تولیدی

میانگین رهایش هسته از میکروکپسول‌های تیمارهای مختلف



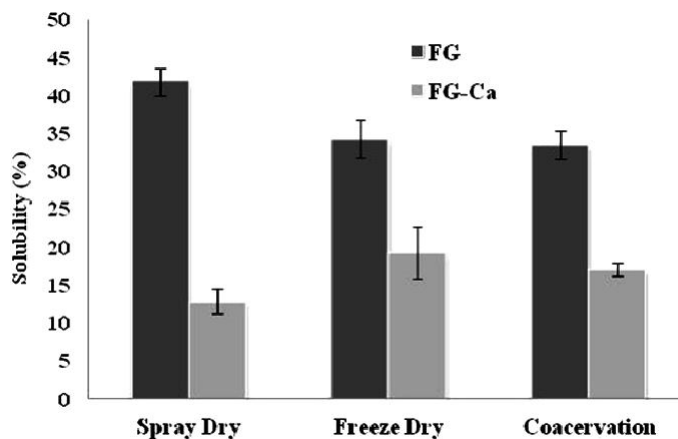
شکل (1) رهایش هسته میکروکپسول‌های روغن ماهی در طی 5 ساعت انکوباسیون در روش خشک کردن پاششی

حروف کوچک: تفاوت معنی‌دار در تیمارهای مختلف در یک زمان؛ حروف بزرگ: تفاوت معنی‌دار در میان ساعات مختلف یک تیمار

Fig. 1 Core Release of fish oil microcapsules during 5 hours of incubation in Spray drying treatment

Different small letters denote significant differences as a result of treatments in each time.

Different capital letters denote significant differences as a result of the storage time.

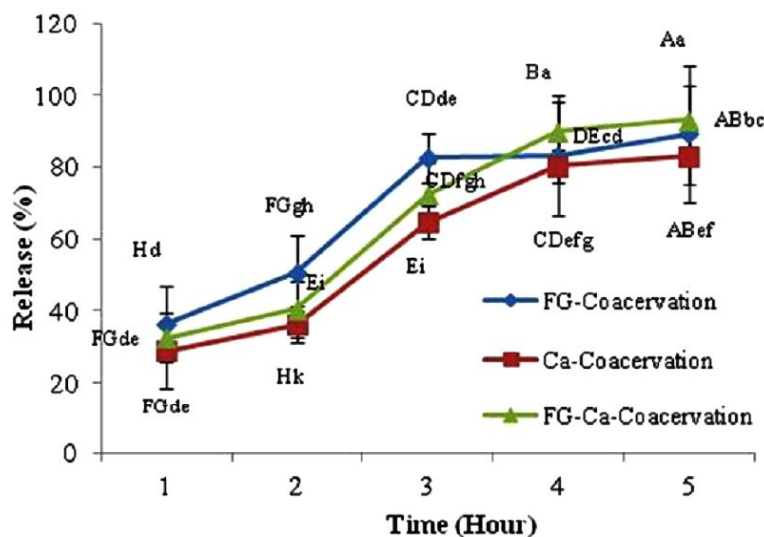


شکل (2) رهایش هسته میکروکپسول‌های روغن ماهی در طی 5 ساعت انکوباسیون در روش خشک کردن انجمادی حروف کوچک: تفاوت معنی‌دار در تیمارهای مختلف در یک زمان؛ حروف بزرگ: تفاوت معنی‌دار در میان ساعات مختلف یک تیمار

Fig. 2 Core Release of fish oil microcapsules during 5 hours of incubation in freeze drying treatment

Different small letters denote significant differences as a result of treatments in each time.

Different capital letters denote significant differences as a result of the storage time.



شکل (3) رهایش هسته میکروکپسول‌های روغن ماهی در طی 5 ساعت انکوباسیون در روش کوآسرواسیون

حروف کوچک: تفاوت معنی‌دار در تیمارهای مختلف در یک زمان؛ حروف بزرگ: تفاوت معنی‌دار در میان ساعات مختلف یک تیمار

Fig. 3 Core Release of fish oil microcapsules during 5 hours of incubation in coacervation treatment

Different small letters denote significant differences as a result of treatments in each time.

Different capital letters denote significant differences as a result of the storage time.

3-2- حلالیت در آب میکروکپسول‌ها

حلالیت در آب میکروکپسول‌ها از دیدگاه رهایش پایدار و کنترل شده هسته در محیط آبی، دارای اهمیت فراوانی می‌باشد که به ساختار پودرها باز می‌گردد [2]. طراحی میکروکپسول‌ها باید به گونه‌ای باشد که حلالیت محدودی داشته یا با تأخیر در

که با یافته‌های پورعاشوری و همکاران [31] مطابقت داشت. افزایش درجه پلیمریزاسیون مواد دیواره، کاهش قابل توجه رهایش مواد هسته را به همراه دارد و این فرایند وابسته به زمان بوده و تحت تاثیر پیوندهای عرضی ایجاد شده می‌باشد [۲۸،۳۲].

کمک قابل توجهی می‌نماید [39]. طبق مطالعات انجام شده، نفوذ اکسیژن از شبکه دیواره تحت تاثیر تخلخل ماده دیواره است و پایداری اکسیداسیونی مواد هسته را تعیین می‌کند [1، 40]. در این مطالعه جهت بررسی مدت ماندگاری از شاخص‌های پراکسید، آنیسیدین و توتاکس استفاده گردید. شاخص آنیسیدین برای اندازه‌گیری محصولات ثانویه اکسیداسیون (آلدئیدها، کتون‌ها و سایر مواد) استفاده می‌گردد [41]. معرف آنیسیدین با محصولات حاصل از اکسیداسیون مانند آلدئیدها (به‌طور اساسی 2- آلکان‌ها و 4-2 دی انال‌ها) واکنش می‌دهد و ترکیب زرد رنگی را تولید می‌کند. از این رو مقدار این شاخص، نشان‌دهنده افزایش مقدار اکسیداسیون می‌باشد. مقدار اکسیداسیون چربی حاصل عملکرد چند فاکتور مانند فعالیت آبی، وجود اکسیژن و وجود آنتی‌اکسیدان می‌باشد. شاخص توتاکس نیز شاخصی برای اندازه‌گیری میزان نهایی اکسیداسیون روغن‌هاست [2].

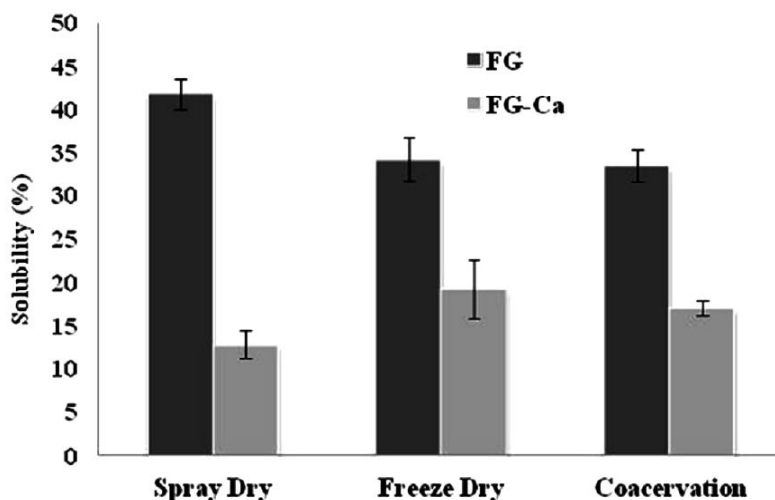
نتایج اندازه‌گیری مقدار شاخص پراکسید میکروکپسول‌های تولیدی در شکل‌های 5 تا 7 نشان داده شده است. به‌طور کلی پراکسید همه نمونه‌ها با افزایش مدت زمان نگهداری افزایش یافت. نوع دیواره و نوع روش ریزپوشانی هر دو بر میزان این شاخص اکسیداسیونی اثرگذار بودند ($p < 0/05$). با توجه به تصاویر، پودرهای به‌دست آمده از خشک‌کن انجمادی بیش‌ترین مقدار اکسیداسیون را در مقایسه با سایر تیمارها داشتند. میکروکپسول‌های به‌دست آمده از

آب حل شوند [2، 37، 38]. نتایج حاصل از ارزیابی حلالیت میکروکپسول‌ها در آب در شکل (4) نشان داده شده است. نتایج نشان داد که انواع دیواره‌های مختلف (ژلاتین و ژلاتین+کاپا کاراگینان) اثر معناداری بر روی حلالیت پودرهای تولیدی داشتند ($p < 0/05$). از طرف دیگر نوع روش ریزپوشانی انتخابی نیز بر میزان حلالیت پودرها تاثیر داشت. کم‌ترین حلالیت پودرها در تیمار ترکیبی ژلاتین+کاپا کاراگینان ریزپوشانی شده به روش خشک‌کن پاششی مشاهده شد که به‌طور قابل توجهی کم‌تر از سایر تیمارها بود. در بین تیمارهای مورد بررسی پودرهای با دیواره ژلاتینی تولید شده به روش خشک‌کن پاششی بیش‌ترین حلالیت در آب را نشان دادند.

از جهت تفاوت روش ریزپوشانی، تنها تفاوت معنی‌دار میان میکروکپسول‌های ژلاتینی خشک‌کن پاششی با دو روش دیگر مشاهده شد. میزان پایین حلالیت میکروکپسول‌های ژلاتینی حاصل از کوآسرواسیون را شاید بتوان به استفاده از اتصال‌دهنده عرضی در این تیمار نسبت داد. این نتایج هم‌راستا با نتایج به‌دست آمده از تحقیق گان و همکاران [28]. بود و نشانگر موثر بودن پیوندهای عرضی و کاهش حلالیت پروتئین می‌باشد.

3-3- شاخص‌های مدت ماندگاری میکروکپسول‌ها

اکسیداسیون چربی سبب بروز بو و طعم نامطلوب و کاهش ارزش غذایی روغن می‌گردد. از این رو ریزپوشانی روغن‌ها و تولید دیواره‌ای کارآمد به جلوگیری و تاخیر در اکسیداسیون



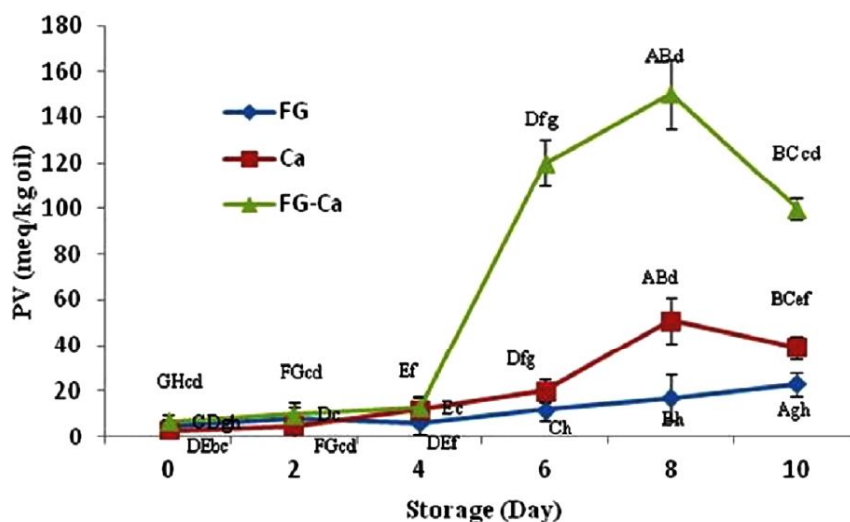
شکل (4) حلالیت در آب میکروکپسول‌های روغن ماهی در طی 5 ساعت انکوباسیون
Fig. 4 Water solubility of fish oil microcapsules during 5 hours of incubation

تسریع شده میکروکپسول‌های دارای ماده دیواره کاپاکاراگینان به‌دست آمده از روش خشک کن انجمادی بیش‌ترین میزان اکسیداسیون را از خود نشان دادند ($p < 0/05$). اکسیداسیون در میکروکپسول‌های حاوی روغن ماهی تحت تاثیر خصوصیات میکروکپسول‌هاست. میزان بالاتر اکسیداسیون در تیمارهای خشک‌کن انجمادی را می‌توان به وجود شکستگی، منفذ و دندانه در میکروکپسول‌های این تیمار نسبت داد که نسبت به دو روش تولیدی دیگر تخلخل بیش‌تری در ساختار وجود دارد.

برطبق یافته‌های پورعاشوری و همکاران [10] وجود شکستگی و دندانه در میکروکپسول‌ها احتمالاً سبب وجود روغن روی سطح ذرات می‌گردد. میزان بالای روغن سطحی نیز سبب بروز اکسیداسیون می‌گردد. در مطالعه آن‌ها تصاویر میکروسکوپ الکترونی نیز وجود این شکاف‌ها را روی سطح ذرات ریزپوشانی‌شده نشان داد. لیم و همکاران [18] با بررسی روی ریزپوشانی روغن دانه پیتایا نتایج مشابهی گزارش کردند. این محققان میزان بالای اکسیداسیون در بعضی تیمارها را ناشی از سطح متخلخل ذرات دانستند، که سبب رهایش روغن ریزپوشانی‌شده بر سطح ذرات گردید و در نتیجه اکسیداسیون روغن سطحی زیاد شد.

طریق کوآسرواسیون نیز کم‌ترین مقدار را در این شاخص از خود نشان دادند. با گذشت زمان بر میزان شاخص پراکسید افزوده گردید ($p < 0/05$). پس از 10 روز نگهداری در شرایط تسریع‌شده میکروکپسول‌های ژلاتینی به‌دست آمده از روش ریزپوشانی کوآسرواسیون کم‌ترین میزان اکسیداسیون را از خود نشان دادند ($p < 0/05$). محصولات اولیه اکسیداسیونی مانند پراکسید شدیداً واکنش‌پذیرند و به رادیکال‌های آزاد شکسته می‌شوند و به محصولات ثانویه اکسیداسیونی مانند آلدهیدها و کتون‌ها تجزیه می‌شوند [39].

نتایج اندازه‌گیری مقدار p-آنسیدین میکروکپسول‌های تولیدی (شاخص ثانویه اکسیداسیون) نیز در شکل‌های 8 تا 10 به‌ترتیب برای روش‌های خشک‌کن پاششی، خشک‌کن انجمادی و کوآسرواسیون آورده شده است. نوع دیواره و روش ریزپوشانی هر دو بر میزان این شاخص اکسیداسیونی اثرگذار بوده‌اند ($p < 0/05$). پودرهای تولیدی با روش خشک‌کن انجمادی، بیش‌ترین مقدار اکسیداسیون را در مقایسه با سایر تیمارها داشتند. میکروکپسول‌های به‌دست آمده از طریق کوآسرواسیون نیز کم‌ترین میزان p-آنسیدین را نشان دادند. طبق انتظار نیز با گذشت زمان بر میزان این شاخص افزوده گردید ($p < 0/05$). پس از 10 روز نگهداری در شرایط



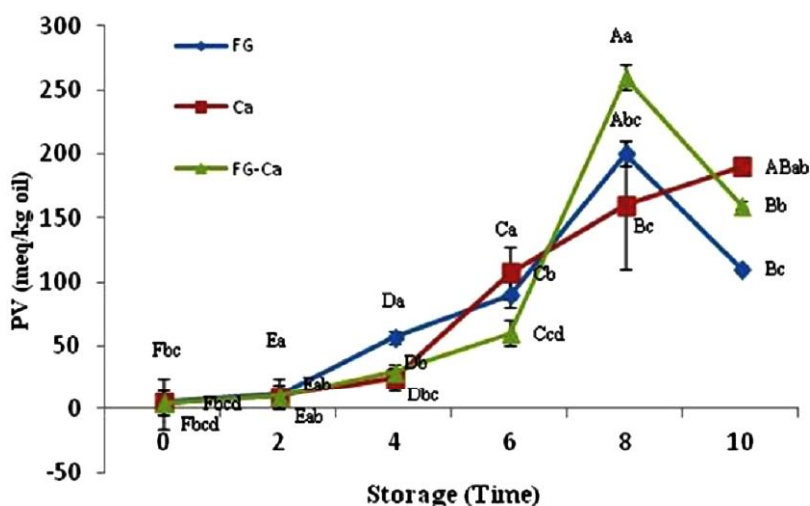
شکل (5) مقایسه میانگین شاخص پراکسید میکروکپسول‌های روغن ماهی در روش خشک‌کن پاششی.

حروف کوچک: تفاوت معنی‌دار در تیمارهای مختلف در یک زمان؛ حروف بزرگ: تفاوت معنی‌دار در زمان‌های مختلف یک تیمار

Fig. 5 Peroxide value of fish oil microcapsules in Spray drying treatment

Different small letters denote significant differences as a result of treatments in each time.

Different capital letters denote significant differences as a result of the storage time



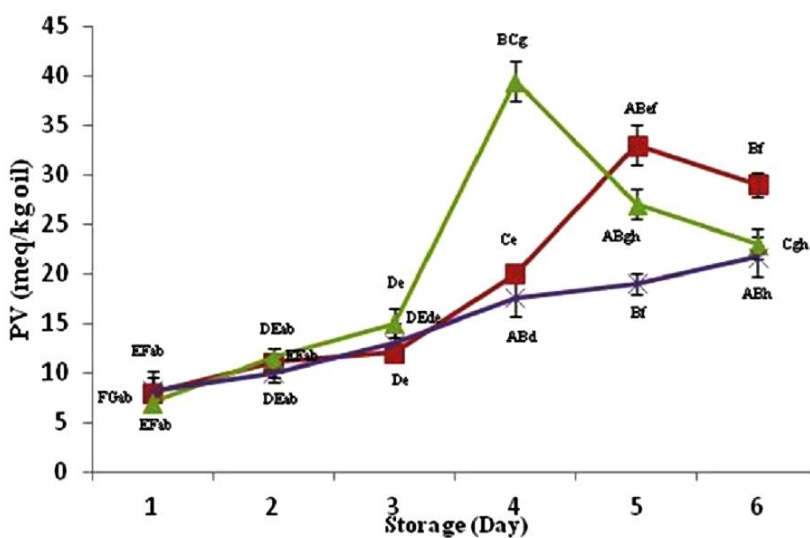
شکل (6) مقایسه میانگین شاخص پراکسید میکروکپسول‌های روغن ماهی در تیمارهای خشک‌کن انجمادی

حروف کوچک: تفاوت معنی‌دار در تیمارهای مختلف در یک زمان؛ حروف بزرگ: تفاوت معنی‌دار در زمان‌های مختلف یک تیمار

Fig. 6 Peroxide value of fish oil microcapsules in freeze drying treatment

Different small letters denote significant differences as a result of treatments in each time.

Different capital letters denote significant differences as a result of the storage time.



شکل (7) مقایسه میانگین شاخص پراکسید میکروکپسول‌های روغن ماهی در تیمارهای کوآسرواسیون

حروف کوچک: تفاوت معنی‌دار در تیمارهای مختلف در یک زمان؛ حروف بزرگ: تفاوت معنی‌دار در میان زمان‌های مختلف یک تیمار

Fig. 7 Peroxide value of fish oil microcapsules in coacervation treatment

Different small letters denote significant differences as a result of treatments in each time.

Different capital letters denote significant differences as a result of the storage time.

بعد از تیمارهای خشک‌کن انجمادی، تیمارهای خشک‌کن ورودی خشک‌کن پاششی است [10]. حبایی شدن و توسعه پاششی بالاترین میزان اکسیداسیون را نشان دادند. به‌طور کلی حبایی شدن میکروکپسول سبب شکننده شدن سیستم دیواره می‌گردد. شکسته شدن سیستم دیواره در طی نگهداری نیز کلی حبایی شدن میکروکپسول‌ها، نتیجه درجه حرارت هوای

کم‌تری داشتند، اکسیداسیون پایین‌تری را نشان دادند. یکی از فاکتورهای اصلی شکل‌گیری سطح در پودرهای خشک، ترکیب مواد دیواره است. بررسی نوع دیواره در این تحقیق نشان داد که دیواره پروتئینی نسبت به دیواره کربوهیدراتی اثر بهتری در جلوگیری از اکسیداسیون مواد هسته داشته است. این نتایج هم‌راستا با نتایج پورعاشوری و همکاران [31] بود، در بررسی آن‌ها نیز میکروکپسول‌های ریزپوشانی‌شده با دیواره‌های کربوهیدراتی (کیتوزان) مقاومت کم‌تری را در میکروکپسول‌های کربوهیدراتی نشان داد، دلیل این امر را میزان بالاتر روغن سطحی و شکستگی در سطح این پودرها بود. ژلاتین ماهی به علت خصوصیات امولسیون‌کنندگی و تشکیل فیلم خوبی که دارد، سد بهتری برای حفاظت از روغن ماهی در برابر اکسیداسیون گزارش شد. نتایج تحقیق هم‌سو با نتایج تحقیق حاضر بود [31].

در طی مدت زمان نگهداری مقداری اکسیداسیون در پودرهای دیواره‌های ژلاتینی مشاهده گردید. دلیل این مسئله را شاید بتوان به کمک بررسی مطالعه لیم و همکاران [18] یافت. این محققان اکسیداسیون در تیمارهای با دیواره پروتئینی را ناشی از دنا توره شدن پروتئین در طی نگهداری دانستند و آن‌ها بیان داشتند که رطوبت محیط سبب کریستاله شدن می‌گردد و در نتیجه ساختمان مواد ریزپوشانی ضعیف و سبب رهاش چربی ریزپوشانی‌شده بر سطح ذرات می‌گردد در نتیجه اکسیداسیون روغن سطحی زیاد می‌گردد.

نتایج بررسی میزان شاخص توتاکس در جدول (2) نشان داده شده است. این شاخص بر اساس میزان دو شاخص آنیسیدین و شاخص پراکسید محاسبه می‌گردد و از این‌رو تا حدودی از همان روند نیز پیروی می‌کند.

با گذشت زمان بر میزان این شاخص نیز افزوده شد. بیش‌ترین مقدار آن نیز در تیمارهای خشک‌کن انجمادی مشاهده گردید. نتایج به‌دست آمده در این تحقیق هم‌سو با نتایج ذکر شده در سایر مطالعات دیگر بود. در طی مدت زمان نگهداری، افزایش مقدار اکسیداسیون در روغن ماهی ریزپوشانی‌شده مشاهده گردید. یافته‌های این تحقیق نشان داد، مقدار اکسیداسیون به‌تدریج در طی زمان در تمامی تیمارها افزایش یافته است و این افزایش در روزهای نهایی نگهداری به‌خوبی مشهود

سبب خروج مقدار بیش‌تری روغن از میکروکپسول‌ها می‌گردد و این روغن خارج شده را می‌توان دلیل اصلی اکسیداسیون در این تیمارها دانست. اثر شرایط خشک‌کن پاششی روی خصوصیات پودرها و اکسیداسیون روغن ماهی ریزپوشانی‌شده مورد بررسی قرار گرفت [25، 32]. این محققان نیز گزارش کردند که درجه حرارت هوای ورودی و خروجی می‌تواند سبب حبایی شدن و اتواکسیداسیون روغن ماهی ریزپوشانی‌شده در طی خشک‌کن پاششی شود.

وجود اکسیداسیون در ابتدای دوره را می‌توان طبق نتایج لیم و همکاران [18] توجیه نمود. این محققان در بررسی‌های خود مشاهده کردند در ابتدای تولید در اثر حرارت ایجاد شده در مرحله هموژنیزاسیون با فشار بالا و علاوه بر آن، قرار گرفتن در معرض درجه حرارت بالا در طی خشک‌کردن پاششی اکسیداسیون وجود داشته است. از سوی دیگر فشار بالا در طی هموژنیزاسیون سبب ورود و مخلوط شدن اکسیژن می‌شود و اکسیداسیون چربی را کاتالیز و تسریع می‌کند.

در میان پودرهای ریزپوشانی‌شده، پودرهای حاصل از کوآسرواسیون کم‌ترین میزان اکسیداسیون را در مقایسه با سایر تیمارها از خود نشان دادند. محتوای بالای رطوبت بر روی ماندگاری پودرهای روغن ماهی نیز اثرگذار است [43، 44]. نتایج تحقیقات مختلف نشان می‌دهند که نفوذ اکسیژن ممکن است با تغییر مقدار رطوبت پودرها تغییر کند. نرخ نفوذ اکسیژن بستگی به تخلخل و میزان حفرات موجود در ماتریکس دارد و میزان آب جذب‌شده می‌تواند یک لایه محافظتی در برابر اکسیداسیون ایجاد کند. نتایج این تحقیق نیز هم‌سو با این تئوری بود و پودرهای حاصله از کوآسرواسیون که دارای بیش‌ترین مقدار رطوبت بودند (3 تا 4٪) کم‌ترین میزان اکسیداسیون را نیز از خود نشان دادند. این نتایج هم‌سو با نتایج بررسی پنگ و همکاران [45] روی ریزپوشانی روغن دانه خردل از طریق کوآسرواسیون بود.

از سوی دیگر تحت شرایط یکسان، با افزایش اندازه ذرات، نسبت سطح به حجم کاهش می‌یابد و اکسیداسیون به تاخیر می‌افتد [46]. نتایج حاصل از این تحقیق رانیز می‌توان به این فرضیه نیز نسبت داد، زیرا میکروکپسول‌های حاصل از کوآسرواسیون که اندازه بزرگ‌تر و نسبت سطح به حجم

کم‌تری را در میکروکپسول‌های کربوهیدراتی نشان داد، دلیل این امر را میزان بالاتر روغن سطحی و شکستگی در سطح این پودرها بود. ژلاتین ماهی به علت خصوصیات امولسیون‌کنندگی و تشکیل فیلم خوبی که دارد، سد بهتری برای حفاظت از روغن ماهی در برابر اکسیداسیون گزارش شد. نتایج تحقیق هم‌سو با نتایج تحقیق حاضر بود [31].

4- نتیجه‌گیری

مطالعه بر روی مواد و روش‌های مختلف تولید پودرهای روغن ماهی نشان داد که میکروکپسول‌های تولیدی با روش کوآسرواسیون از جهت فاکتورهای ماندگاری، از سایر پودرهای تولیدی پایدارتر بودند و میزان پراکسید و آنیسیدین کم‌تری در آن‌ها مشاهده گردید. در طی مدت نگهداری، پایداری پودرهای ریزپوشانی‌شده به روش‌های مختلف به ترتیب در روش کوآسرواسیون بیش‌تر از خشک‌کن پاششی و خشک‌کن انجمادی بود. از این‌رو، روش شیمیایی کوآسرواسیون نسبت به روش‌های فیزیکی (خشک‌کردن پاششی و انجمادی) جهت

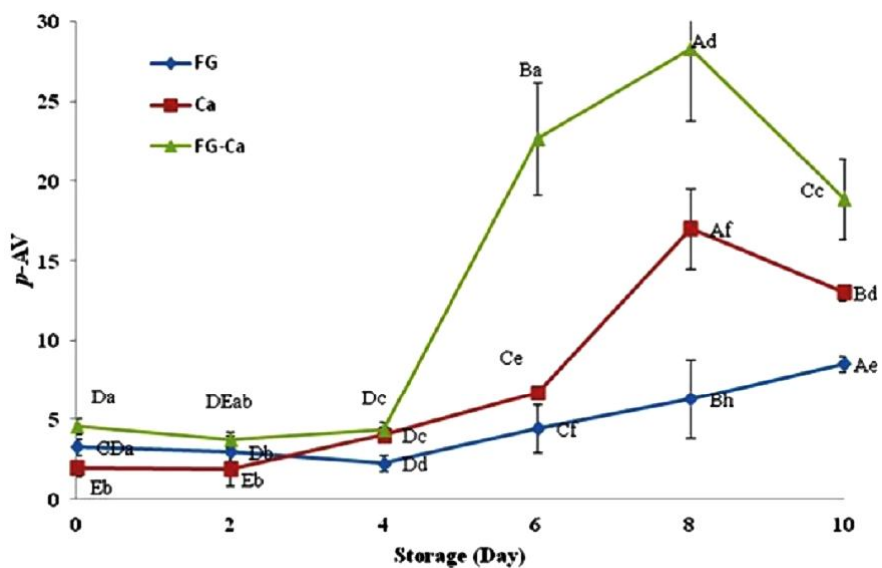
در طی مدت زمان نگهداری مقاداری اکسیداسیون در پودرهای دیواره‌های ژلاتینی مشاهده گردید. دلیل این مسئله را شاید بتوان به کمک بررسی مطالعه لیم و همکاران [18] یافت. این محققان اکسیداسیون در تیمارهای با دیواره پروتئینی را ناشی از دناتوره شدن پروتئین در طی نگهداری دانستند و آن‌ها بیان داشتند که رطوبت محیط سبب کریستاله‌شدن می‌گردد و در نتیجه ساختمان مواد ریزپوشانی ضعیف و سبب رهائش چربی ریزپوشانی‌شده بر سطح ذرات می‌گردد در نتیجه اکسیداسیون روغن سطحی زیاد می‌گردد.

نتایج بررسی میزان شاخص توتاکس در جدول (2) نشان داده

جدول (2) مقایسه شاخص توتوکس میکروکپسول‌های مختلف روغن ماهی
Table 2 Totox value of different fish oil microcapsules

مقدار شاخص توتوکس طی روزهای نگهداری Totox value during storage (day)						نوع دیواره Wall material	ریزپوشانی Encapsulation
	10	8	6	4	2		
54.51 ^c	40.29 ^c	28.44 ^b	14.22 ^b	18.96 ^b	13.25 ^b	ژلاتین ماهی Fish gelatin (FG)	
91 ^b	119 ^b	46.66 ^b	28 ^a	11.85 ^c	7.95 ^c	کاپا کاراگینان k-Carrageenan(k-Ca)	خشک‌کن پاششی Spray drying
218.86 ^a	328.30 ^a	262.64 ^a	30.33 ^a	23.70 ^a	18.55 ^a	ژلاتین ماهی+کاپا کاراگینان FG+k-Ca	
237.74 ^c	432.25 ^b	194.51 ^a	125.97 ^a	27.73 ^a	11.55 ^a	ژلاتین ماهی Fish gelatin (FG)	
410.64 ^a	345.80 ^c	231.25 ^a	55.25 ^b	23.11 ^b	9.24 ^a	کاپا کاراگینان k-Carrageenan(k-Ca)	خشک‌کن انجمادی Freeze Drying
345.80 ^b	561.93 ^a	129.67 ^c	66.30 ^c	23.11 ^b	9.93 ^a	ژلاتین ماهی+کاپا کاراگینان FG+k-Ca	
67.23 ^a	74.25 ^b	43.63 ^b	27.42 ^b	24.58 ^a	17.87 ^a	ژلاتین ماهی Fish gelatin (FG)	
53.32 ^b	60.75 ^a	85.96 ^b	34.28 ^a	25.69 ^a	15.64 ^b	کاپا کاراگینان k-Carrageenan(k-Ca)	کوآسرواسیون Coacervation
50.31 ^b	42.75 ^c	38.40 ^c	29.71 ^b	22.34 ^b	18.32 ^a	ژلاتین ماهی+کاپا کاراگینان FG+k-Ca	

نتایج میانگین سه اندازه‌گیری است. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح 05/0 می‌باشند.
Mean values of three independent replicates (n = 3); Different letters in each column denote significant differences (p<0.05)

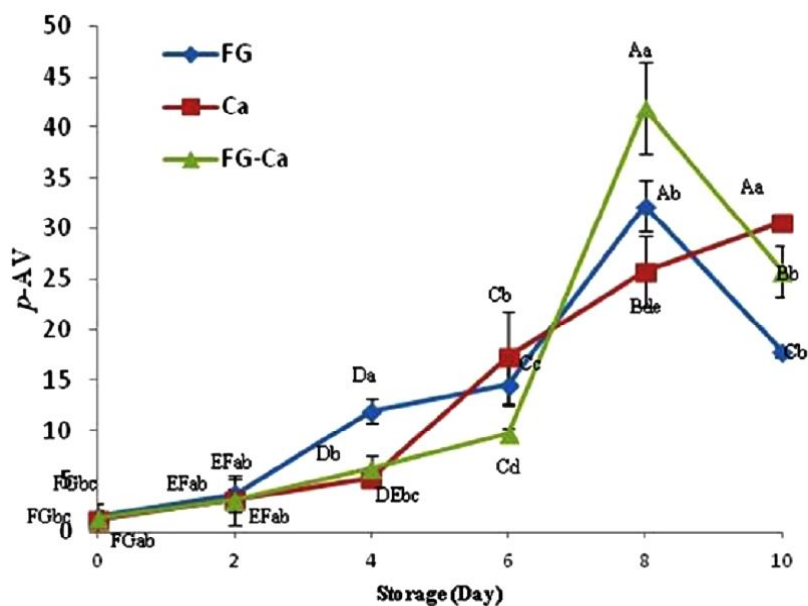


شکل (8) مقایسه میانگین شاخص p-آنسیدین میکروکپسول‌های روغن ماهی در تیمارهای خشک‌کن پاششی
حروف کوچک: تفاوت معنی‌دار در تیمارهای مختلف در یک زمان؛ حروف بزرگ: تفاوت معنی‌دار در میان زمان‌های مختلف یک تیمار

Fig. 8 p-Anisidine value of fish oil microcapsules in spray drying treatment

Different small letters denote significant differences as a result of treatments in each time.

Different capital letters denote significant differences as a result of the storage time.

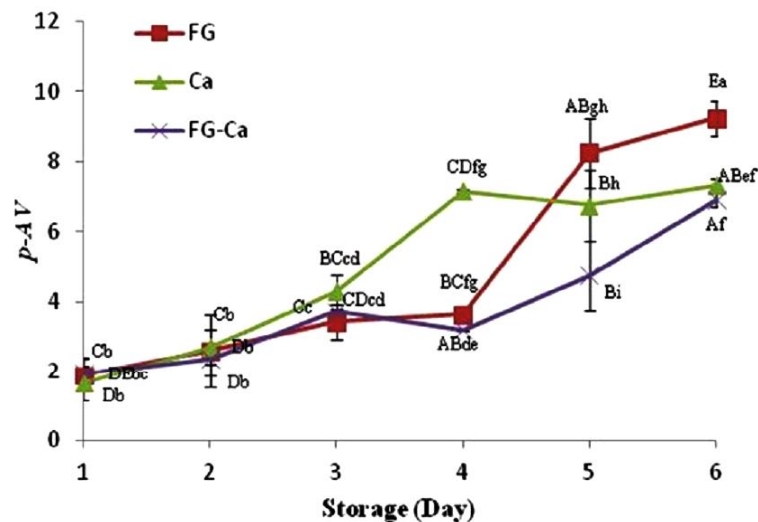


شکل (9) مقایسه میانگین شاخص p-آنسیدین میکروکپسول‌های روغن ماهی در تیمارهای خشک‌کن انجمادی
حروف کوچک: تفاوت معنی‌دار در تیمارهای مختلف در یک زمان؛ حروف بزرگ: تفاوت معنی‌دار در میان زمان‌های مختلف یک تیمار

Fig. 9 p-Anisidine value of fish oil microcapsules in freeze drying treatment

Different small letters denote significant differences as a result of treatments in each time.

Different capital letters denote significant differences as a result of the storage time



شکل (10) مقایسه میانگین شاخص p-آنسیدین میکروکپسول‌های روغن ماهی در تیمارهای کوآسرواسیون
حروف کوچک: تفاوت معنی‌دار در تیمارهای مختلف در یک زمان؛ حروف بزرگ: تفاوت معنی‌دار در میان زمان‌های مختلف یک تیمار

Fig. 10 p-Anisidine value of fish oil microcapsules in coacervation treatment
Different small letters denote significant differences as a result of treatments in each time.
Different capital letters denote significant differences as a result of the storage time.

عدم استفاده از تیمار حرارتی، ساختار متخلخل و فلس‌مانند پودرهای حاصله از خشک‌کن انجمادی سبب تسریع روند اکسیداسیون در درون ماتریکس این پودرها گردید و در نهایت موجب تولید پودرهایی با پایداری کم گردید. لذا با توجه به نتایج، روش کوسرواسیون و خشک کردن پاششی انتخاب‌های بهتری در تولید می‌باشند.

ریزپوشانی روغن ماهی، پودری با ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و پایداری اکسیداسیونی بهتر تولید نمود. نتایج نشان دادند که ریزپوشانی روغن ماهی با ژلاتین ماهی (به‌عنوان ماده دیواره) به‌طور موثری محصول را در برابر اکسیداسیون محافظت نمود. نتایج این پژوهش بر پایه شاخص‌های مورد ارزیابی نشان داد در روش خشک‌کردن انجمادی علاوه بر

منابع

- transglutaminase cross-linked proteins. *J. Food Sci.*, 68, 2717–2723.
- [3] Sioen, I. A., Pynaert, I., Matthys, C., De Backer, G., Van Camp, J., De Henauw, S. (2006). Dietary intakes and food sources of fatty acids for Belgian women, focused on n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids. *Lipids*, 41, 415–422.
- [4] Poyato, C., Ansorena, D., Berasategi, I., Navarro-Blasco, I., Astiasaraan, I. (2014). Optimization of a
- [1] Kagami, S., Sugimura, S., Fujishima, N., Matsuda, K., Kometani, T., Matsumura, Y. (2003). Oxidative stability, structure, and physical characteristics of microcapsules formed by spraying drying of fish oil with protein and dextrin wall materials. *J. Food Sci.*, 68, 2248–2255.
- [2] Cho, Y. H., Shim, H. K., Park, J. (2003). Encapsulation of fish oil by an enzymatic gelation process using transglutaminase cross-linked proteins. *J. Food Sci.*,

- (1999). Emulsifying behavior of globulin *Vicia faba* in mixtures with sulphated polysaccharides: Comparison of thermal and high-pressure treatments. *Food Hydrocolloids*, 13, 425–435.
- [13] Lobo, L. (2002). Coalescence during emulsification; 3. Effect of gelatin on rupture and coalescence. *J. Colloid Interface Sci.*, 254, 165–174.
- [14] Karim, A.A., Bhat, R. (2009). Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocoll.*, 23, 563–576.
- [15] Garcia, E., Gutierrez, S., Nolasco, H., Carreon, L., Arjona, O. (2006) Lipid composition of shark liver oil: effects of emulsifying and microencapsulation processes. *Eur Food Res Technol.*, 222, 697–701.
- [16] Aghbashlo, M., Mobli, H., Madadlou, A., Rafiee, S. (2012). Influence of wall material and inlet drying air temperature on the microencapsulation of fish oil by spray drying. *Food Bioproc. Technol.*, doi:10.1007/s11947-012-0796-7.
- [17] Drusch, S., Serfert, Y., Berger, A., Shaikh, M.Q., Rätzke, K., Zaporozhchenko, V., Schwarz, K. (2012). New insights into the microencapsulation properties of sodium caseinate and hydrolyzed casein. *Food Hydrocolloids*, 27, 332–338.
- [18] Lim, H.K., Tan, C.P., Bakar, J., Ng, S.P. (2011). Effects of different wall materials on the physicochemical properties and oxidative stability of spray-dried microencapsulated red-fleshed pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) Seed Oil. *Food Bioproc. Technol.*, DOI 10.1007/s11947-011-0555-1.
- [19] Gallardo, G., Guida, L., Martinez, V., López, M. C., Bernhardt, D., Blasco, R., Pedroza-Islas, R., Hermida, L. G. (2013). Microencapsulation of linseed oil by spray drying for functional food application. *Food Res. Int.*, 52(2), 473–482.
- [20] Cortés-Rojas, D. F., Souza, C. R. F., Oliveira, W. P. gelled emulsion intended to supply omega-3 fatty acids into meat products by means of response surface methodology. *Meat Sci*, 98(4), 615–621.
- [5] Jacobsen, C. (1999). Sensory impact of lipid oxidation in complex food systems. *Lipid / Fett.*, 101, 484–492.
- [6] Jiménez-Martín, E., Pérez-Palacios, T., Carrascal, J.R. Rojas, T.A. (2015). Enrichment of chicken nuggets with microencapsulated Omega-3 fish oil: effect of frozen storage time on oxidative stability and sensory quality. *Food Bioproc. Tech.*, DOI 10.1007/s11947-015-1621-x.
- [7] Eratte, D., Wang, B., Dowling, K., Barrow C. J., Adhikari, B.P. (2014). Complex coacervation with whey protein isolate & gum arabic for the microencapsulation of omega-3 rich tuna oil. *Food Function*, 5, 2743- 2750.
- [8] Drusch, S., Berg, S. (2008). Extractable oil in microcapsules prepared by spray-drying: localisation, determination and impact on oxidation stability. *Food Chem.*, 109, 17–24.
- [9] Shaw, L. A., McClements, D. J., Decker, E. A. (2007). Spray-dried multilayered emulsions as a delivery method for omega-3 fatty acids into food systems. *J. Agric. Food Chem.*, 55(8), 3112–3119.
- [10] Pourashouri, P., Shabanpour, B., Razavi, S. H., Jafari, S. M., Shabani, A., Aubourg, S. 2014. Impact of wall materials on physicochemical properties of microencapsulated fish oil by spray drying. *Food Bioproc. Tech*, 51, 348–355.
- [11] Shi, L.E., Li, Z.H., Zhang, Z.L., Zhang, T.T., Yu, W.M., Zhou, M.L., Tang, Z.X. (2013). Encapsulation of *Lactobacillus bulgaricus* in carrageenan-locust bean gum coated milk microspheres with double layer structure. *LWT - Food Sci. Technol.*, 54 (1), 147–151.
- [12] Galazka, V.B., Dickinson, E., Ledward, D.A.

- oil. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 9(4), 563–9.
- [29] Kirk, R. S., Sawyer, R. (1991). *Pearson's Composition and Analysis of Foods*, 9th ed.. London: Longman Scientific Technical. pp. 28–31.
- [30] O'Connor, C. J., Lal, S. N. D., Eyres, L. (2007). *Handbook of Australasian edible oils*. Auckland, New Zealand: Oils and Fats Specialist Group of NZIC.
- [31] Pourashouri, p., Shabanpour, B., Razavi, S. H., Jafari, S. M., Shabani, A., Aubourg, S. (2014). Oxidative stability of spray-dried microencapsulated fish oils with different wall materials. *J. Aquat. Food Prod. T.*, 23,567–578.
- [32] Bao, S. S., Hu, X. C., Zhang, K., Xu, X. K., Zhang, H. M., Huang. (2011). Characterization Of Spray-Dried Microalgal Oil Encapsulated In Cross-Linked Sodium Caseinate Matrix Induced By Microbial Transglutaminase. *J. Food Sci.*, 76(1), 112-118.
- [33] Yang, Z., Peng, Z., Li, J., Li, S., Kong, L., Li, P. (2014). Development and evaluation of novel flavour microcapsules containing vanilla oil using complex. *J. Food Process. Preserv.*, 33(2):255–270.
- [34] Santos, M. G., Bozza, F., Thomazini, T., M. Favaro-Trindade. C. S. (2015). Microencapsulation of xylitol by double emulsion followed by complex Coacervation. *Food Chem.*, 171, 32–39.
- [35] Alvim, I. D., Grosso, C. R. F. (2010). Microparticles obtained by complex coacervation: Influence of the type of reticulation and the drying process on the release of the core material. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 30, 1069–1076.
- [36] Matalanis, A., Jones, O. G., McClements, D. J. (2011). Structured biopolymer-based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds. *Food Hydrocoll.*, 25, 1865–1880.
- [37] Lakkis, J. M. (2007). Frontmatter, in *Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems* (2014). Encapsulation of eugenol rich clove extract in solid lipid carriers. *J. Food Eng.*, 127:34–42.
- [21] Piacentini, E., Giorno, L., Dragosavac, M. M., Vladisavljević, G. T., and Holdich, R.G. (2013). Microencapsulation of oil droplets using cold water fish gelatine/gum arabic complex coacervation by membrane emulsification. *Food Res. Int.*, 53 (1), 362–372.
- [22] Versic, R. J. (2003). Coacervation for flavor encapsulation. *J. Microencapsul.*, 14,126-131.
- [23] Dong, Z. J., Touré, A., Jia, C. S., Zhang, X. M., Xu, S. Y. (2007). Effect of processing parameters on the formation of spherical multinuclear microcapsules encapsulating peppermint oil by coacervation. *J. Microencapsul.*, 24, 634-46.
- [24] Dong, Z. J., Xia, S. Q., Hua, S., Hayat, K., Zhang, X. M., Xu, S. Y. (2008). Optimization of cross-linking parameters during production of transglutaminase-hardened spherical multinuclear microcapsules by complex coacervation. *Colloids Surf. B.*, 63(1), 41-47.
- [25] Drusch, S., Berg, S. (2008). Extractable oil in microcapsules prepared by spray-drying: localisation, determination and impact on oxidation stability. *Food Chem.*, 109, 17–24.
- [26] Alvim, I.D., Grosso, C.R.F. (2010). Microparticles obtained by complex coacervation: influence of the type of reticulation and the drying process on the release of the core material. *Ciênc. Tecnol. Aliment Campinas*, 30(4): 1069-1076.
- [27] Carneiro, H.C.F., Tonon, R.V., Grosso, C.R.F., Hubinger, M.D. (2013). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *J. Food Eng.*, 115, 443–45.
- [28] Gan, C.Y., Cheng, L.H., Easa, A.M. (2008). Evaluation of microbial transglutaminase ribose crosslinked soy protein isolate-based microcapsules containing fish

- (1990). Entrapment of Liquid Lipids in Matrixes of Saccharides. *J. Food Eng.*, 12, 207-222.
- [47] Liu, S. N., Low, H., Nickerson, M. T. (2010). Entrapment of flaxseed oil within gelatin-gum arabic capsules. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 87, 809-815.
- [38] Lee, S.J., Rosenberg, M. (2000). Whey protein-based microcapsules prepared by double emulsification and heat gelation. *Food Sci. Technol.*, 33(2), 80-88.
- [39] Liu, S. N., Low, H., Nickerson, M. T. (2010). Entrapment of flaxseed oil within gelatin-gum arabic capsules. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 87, 809-815.
- [40] Moreau, D. L., Rosenberg, M. (1998). Porosity of whey protein-based microcapsules containing anhydrous milkfat measured by gas displacement phenometry. *J. Food Sci.*, 63, 819-23.
- [41] Sun-Waterhouse, D., Zhou, J., Miskelly, G. M., Wibisono, R., Wadhwa, S. S. (2011). Stability of encapsulated olive oil in the presence of caffeic acid. *Food Chem.*, 126(3), 1049-1056.
- [42] Drusch., S. (2007). Sugar beet pectin: a novel emulsifying wall component for microencapsulation of lipophilic food ingredients by spray-drying. *Food Hydrocoll.*, 21, 1223-1228.
- [43] Baik, M., Suhendro, E., Nawar, W., McClements, J., Decker, E., Chinachoti, D. (2004). Effects of antioxidants and humidity on the oxidative stability of microencapsulated fish oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 81, 355-360.
- [44] Drusch, S., Serfert, Y., Heuvel, A. V. D., Schwarz, K. (2006). Physicochemical characterization and oxidative stability of fish oil encapsulated in an amorphous matrix containing trehalose. *Food Res. Int.*, 39, 807-815.
- [45] Peng, Z., Li, J., Guan, Y., Zhao, G. (2013). Effect of carriers on physicochemical properties, antioxidant activities and biological components of spray-dried purple sweet potato flours. *LWT – Food Sci. Technol.* 51, 348-355.
- [46] Imagi, J., Kako, N., Nakanishi, K., Matsuno, R. (1990). Entrapment of Liquid Lipids in Matrixes of Saccharides. *J. Food Eng.*, 12, 207-222. doi: 10.1002/9780470277881.fmatter