

Optimization of microencapsulation of fish oil in the coating of sodium caseinate, maltodextrin, whey protein concentrates and modified starch by mixture design method

Maryam Hasani^{*1}, Mahin Rigi², Shirin Hasani³, Moazameh Kordjazi⁴

1. Corresponding Author, Assistant Prof., Dept. of Food Science and Technology, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran. E-mail: mhasani81@yahoo.com
2. Assistant Prof., Dept. of Aquatic Science, Hamon International Wetland Research Institute, Zabol Research Institute, Zabol, Iran. E-mail: mahin.rigi@uoz.ac.ir
3. Ph.D. Graduate of Sea Food Processing, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: shirin.hasani88@gmail.com
4. Assistant Prof., Dept. of Sea Food Processing, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: kordjazi.m@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 06.28.2023
Revised: 07.27.2023
Accepted: 08.06.2023

Keywords:
Efficiency,
Fish oil,
Microencapsulation,
Mixture design,
Oxidative stability

ABSTRACT

The present research was done with the aim of encapsulation of fish oil with a ratio of 3:1 (oil: coating) with coatings of maltodextrin, sodium caseinate, whey protein concentrate and modified starch with different ratios by freeze dryer and in order to achieve the maximum encapsulation efficiency was optimized using a mixture design. Optimizing the concentration of different walls for microencapsulation using numerical and graphical optimization revealed that the optimal wall composition contains maltodextrin (15.16%), sodium caseinate (20%), whey protein concentrate (20%) and modified starch (19.84%) with the encapsulation efficiency was 89.3%. The results showed that according to the difference in the wall compositions and their ratios, the particle size, poly dispersity index (PDI), and encapsulation efficiency had different values. So that the size of the particles varied from 0.34 μm to 1.3 μm , and the PDI varied from 0.1 to 0.92. Evaluation of oxidative stability in optimal microcapsule powder and free fish oil stored at 0 and 32% humidity during 21 days of storage showed that encapsulated oil at zero humidity had higher oxidative stability during the storage period. In addition, the increase in humidity in the storage environment of microcapsules increased the intensity of oxidation in the treatments stored in 32% humidity. Therefore, it can be concluded that the use of microencapsulation technique is a practical and effective method to increase the oxidative stability of fish oil for use in the food and drug industry.

Cite this article: Hasani, Maryam, Rigi, Mahin, Hasani, Shirin, Kordjazi, Moazameh. 2023. Optimization of microencapsulation of fish oil in the coating of sodium caseinate, maltodextrin, whey protein concentrates and modified starch by mixture design method. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 12 (3), 171-192.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/japu.2023.21506.1794

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

بهینه‌سازی ریزپوشانی روغن ماهی در پوشش کازئینات سدیم، مالتودکسترین، کنستانتره پروتئین آب پنیر و نشاسته اصلاح‌شده به روش طرح مخلوط

مریم حسنی*^۱، مهین ریگی^۲، شیرین حسنی^۳، معظمه کردجزی^۴

۱. نویسنده مسئول، استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران. رایانامه: mhasani81@yahoo.com
۲. استادیار گروه علوم آبزیان، پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون، پژوهشگاه زابل، زابل، ایران. رایانامه: mahin.rigi@uoz.ac.ir
۳. دانش‌آموخته دکتری فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: shirin.hasani88@gmail.com
۴. استادیار گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: kordjazi.m@gmail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	پژوهش حاضر با هدف درون‌پوشانی روغن ماهی با نسبت ۳:۱ (روغن: پوشش) با پوشش‌هایی از مالتودکسترین، کازئینات سدیم، کنستانتره آب پنیر و نشاسته اصلاح شده با نسبت‌های متفاوت توسط خشک‌کن انجمادی انجام شد و با استفاده از طرح مخلوط به منظور دستیابی به حداکثر بهره‌وری کپسولاسیون بهینه‌سازی گردید. بهینه‌یابی غلظت دیواره‌های مختلف برای ریزپوشانی با استفاده از بهینه‌یابی عددی و نموداری مشخص نمود که ترکیب دیواره بهینه حاوی مالتودکسترین (۱۵/۱۶ درصد)، کازئینات سدیم (۲۰ درصد)، کنستانتره آب پنیر (۲۰ درصد) و نشاسته اصلاح شده (۱۹/۸۴ درصد) با راندمان درون‌پوشانی ۸۹/۳ درصد بود. نتایج نشان داد که با توجه به تفاوت در ترکیبات دیواره و نسبت‌های آن‌ها اندازه ذرات، شاخص پراکندگی ذرات و راندمان درون‌پوشانی مقادیر متفاوتی داشتند. به طوری که اندازه ذرات به ترتیب از ۰/۳۴ میکرومتر تا ۱/۳ میکرومتر و شاخص پراکندگی از ۰/۱ تا ۰/۹۲ متغیر بود. ارزیابی ثبات اکسایشی در پودر میکروکپسوله بهینه و روغن ماهی نگهداری شده در رطوبت‌های صفر و ۳۲ درصد طی ۲۱ روز نگهداری نشان داد که روغن کپسوله در رطوبت صفر ثبات اکسیداتیو بالاتری را طی دوره نگهداری داشت. به علاوه، افزایش رطوبت در محیط نگهداری ریزپوشینه‌ها باعث افزایش شدت اکسیداسیون در تیمارهای نگهداری شده در رطوبت ۳۲ درصد گردید. بنابراین می‌توان دریافت به‌کارگیری تکنیک ریزپوشانی روشی کاربردی و مؤثر برای افزایش پایداری اکسیداتیو روغن ماهی به منظور استفاده در صنعت غذا و دارو می‌باشد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۰۷	
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۵/۰۵	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۱۵	
واژه‌های کلیدی: ثبات اکسیداتیو، راندمان، روغن ماهی، ریزپوشانی، طرح مخلوط	

استناد: حسنی، مریم، ریگی، مهین، حسنی، شیرین، کردجزی، معظمه (۱۴۰۲). بهینه‌سازی ریزپوشانی روغن ماهی در پوشش کازئینات سدیم، مالتودکسترین، کنستانتره پروتئین آب پنیر و نشاسته اصلاح‌شده به روش طرح مخلوط. نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۲ (۳)، ۱۹۲-۱۷۱.

DOI: 10.22069/japu.2023.21506.1794



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

مصرف منظم مقادیر کافی اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه (PUFA) برای کاهش بروز انواع بیماری‌ها، از جمله سرطان، آرتریت روماتوئید، بیماری‌های قلبی عروقی، دیابت، اختلالات ریوی، چاقی و استخوان‌های ضعیف بسیار توصیه شده است (۱). روغن ماهی یکی از منابع غذایی اصلی PUFAها، به‌ویژه ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) و دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) است که عملکرد بیولوژیکی و اثرات سلامتی بسیار قوی دارند (۲). با این حال، محدودیت‌هایی در کاربرد روغن ماهی در فرآورده‌های غذایی فراسودمند به دلیل حساسیت اسیدهای چرب امگا ۳ به نور، اکسیژن، بوی نامطلوب و حلالیت کم آن‌ها در آب وجود دارد. رویکردهای مختلفی برای جلوگیری از اکسیداسیون چربی در غذاهای غنی شده با روغن ماهی مورد مطالعه قرار گرفته است و درون‌پوشانی به عنوان موفق‌ترین روش پیشنهاد شده است. انتخاب فناوری درون‌پوشانی مناسب می‌تواند منجر به بهبود قابل‌توجهی در پایداری شیمیایی، قابلیت پخش شدن در آب و فراهمی زیستی اسیدهای چرب ضروری شود (۳).

درون‌پوشانی تکنیکی برای به دام انداختن ترکیبات زیست‌فعال در داخل یک دیوار یا ماده حامل است و یک فرآیند ارزشمند برای افزایش انتقال مولکول‌های فعال زیستی و همچنین آزادسازی کنترل شده آن‌ها است. کپسوله کردن روغن ماهی می‌تواند یک سد محافظ در برابر اکسیداسیون ایجاد کند و طعم ناخوشایند روغن ماهی را بپوشاند. پارامترهای مختلفی بر تولید میکروکپسول اثرگذار هستند که از آن‌ها می‌توان به نوع ماده دیواره و ویژگی‌های آن، نوع ماده هسته، نسبت مواد دیواره به هسته، امولسیون اولیه، مقدار ماده جامد در امولسیون، اندازه قطرات امولسیون، روش‌های

مختلف تهیه امولسیون، روش‌های مختلف تولید میکروکپسول و ... اشاره نمود (۴).

تطابق هسته با دیواره شاخص مهمی برای افزایش راندمان درون‌پوشانی است و دیواره مطلوب باید با توجه به نوع هسته انتخاب گردد. اندازه ذرات هسته نیز در پخش، نفوذپذیری یا رهایش کنترل شده نقش مهمی را ایفا می‌کند. به‌کارگیری هسته با بیش‌ترین غلظت، سبب محفوظ نمودن مقادیر بالایی از هسته در میکروکپسول، کاهش مواد دیواره‌ای، افزایش اثرگذاری فرآورده و همچنین کاهش هزینه می‌شود (۵). در بیش‌تر مطالعات صورت گرفته نسبت هسته به دیواره ۱:۴ در نظر گرفته می‌شود. این ترکیب جهت کپسولاسیون برای انواع دیواره‌های مختلف مانند نشاسته اصلاح شده، صمغ عربی و مالتودکسترین رایج می‌باشد (۲). مهم‌ترین مواد به‌کار برده شده برای ساخت دیواره کپسول‌ها لیپیدها، پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها می‌باشند (۶).

مالتودکسترین محصول هیدرولیز اسیدی یا آنزیمی نشاسته است که الیگومر یا پلی‌مرهای D-گلوکز با پیوندهای $\alpha(1\rightarrow4)$ می‌باشد و معمولاً معادل دکستروز یا DE^۱ کم‌تر از ۲۰ دارد. مالتودکسترین‌ها ترکیباتی هستند که به دلیل توانایی تشکیل شبکه، بالا بودن راندمان درون‌پوشانی، پایین بودن گرانش بودن محلول آن‌ها حتی در غلظت‌های بالا، در دسترس بودن در اوزان مولکولی مختلف، قیمت ارزان و حفاظت مناسب در برابر اکسیداسیون از جمله عوامل تأثیرگذار در استفاده از این ترکیبات در فرآیند درون‌پوشانی است (۷). اگرچه مالتودکسترین به دلیل فقدان خصوصیات بین سطحی مورد نیاز، معمولاً در ترکیب با مواد بیوپلی‌مری دیگری مانند نشاسته اصلاح شده و پروتئین‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۸). نشاسته اصلاح شده برای ثبات امولسیون به‌دلیل

1- Dextrose equivalent

فعالیت سطحی بالا و درون‌پوشانی ترکیبات حساس مورد استفاده قرار می‌گیرند. این نوع نشاسته دارای ویسکوزیته پایینی است که این حالت باعث افزایش کارایی و عملکرد بالا در فرایند کپسوله‌کردن می‌شود (۹). Hi-cap 100 و Capsule دو نوع تجاری متداول از نشاسته‌های اصلاح‌شده می‌باشد، که از ذرت مومی تهیه می‌گردند و اختصاصاً مناسب جهت درون‌پوشانی می‌باشند. کنستانتره پروتئین آب پنیر^۱ محصول جانبی فرایند پنیرسازی است که به وفور و با قیمت پائین در دسترس می‌باشد و از ویژگی‌های عملکردی و ارزش تغذیه‌ای بالایی برخوردار است. کنستانتره پروتئین آب پنیر (WPC) به طور گسترده در امولسیون‌های غذایی به‌عنوان امولسیفایر/ تثبیت‌کننده به تنهایی و یا همراه با پلی‌ساکاریدها در صنایع غذایی استفاده می‌شود، به طوری که نقش مهمی در مقاومت قطرات در برابر لخته شدن و ادغام در طول ذخیره‌سازی طولانی مدت دارد (۱۰).

کازئینات سدیم به عنوان یک پلیمر آمفی‌فیلیک عالی، به طور وسیعی جهت بهبود بافت، مدت زمان ماندگاری و یا ارزش تغذیه‌ای امولسیون‌های روغن در آب و به جهت دارا بودن خصوصیات عملکردی و فیزیکی ایده‌ال، خصوصیات آمفی‌فیلیک و امولسیون‌کنندگی جهت کپسولاسیون مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۱ و ۱۲).

علاوه بر مخلوط پروتئین آب پنیر و یا مالتودکسترین با سایر مواد دیواره، ارزیابی پلی‌مرهای مختلف در سایر مطالعات مورد توجه قرار گرفته است. گارسیا مورنو و همکاران (۱۳) پتانسیل کربوهیدرات‌های مختلف (دکستران یا شربت گلوکز) و مخلوط‌های WPC را به منظور نانو‌پوشانی روغن ماهی گزارش کردند. به همین ترتیب، چارلز و همکاران (۱۴) نشان دادند که ترکیبات نشاسته، مالتودکسترین و ایزوله

پروتئین آب پنیر با موفقیت روغن ماهی تن را درون‌پوشانی کردند. دامرا و همکاران (۱۵) امولسیون‌هایی از روغن ماهی را با استفاده از WPC و برنج به‌عنوان مواد دیواره تهیه کردند و پایداری و راندمان درون‌پوشانی بالایی را به دست آوردند که به حضور WPC نسبت داده شد. جمشیدی و همکاران (۱۶) پایداری امولسیون دوگانه روغن در آب (W1/O/W2) حاوی پروتئین ماهی هیدرولیز شده در کمپلکسی از WPC و اینولین را برای ریزپوشانی روغن ماهی مشاهده نمودند. اوزپورت و همکاران (۱۷) استفاده از ایزوله پروتئین ماهی را در ترکیب با مالتودکسترین برای محصور کردن روغن ماهی آزمایش کردند و ویژگی‌های کیفی بهتری را در مقایسه با مخلوط کازئینات سدیم و مالتودکسترین به عنوان پوشش دیواره گزارش نمودند. اوگروودفکا و همکاران (۱۸) ترکیبات پوششی مختلف (مالتودکسترین، WPC، پروتئین‌های آفتابگردان، برنج و صمغ گوار) را برای درون‌پوشانی روغن ماهی مقایسه کردند و بهترین خصوصیات فیزیکوشیمیایی ریزپوشینه را هنگام استفاده از پوشش پروتئین‌های برنج به دست آوردند. ترکیب WPC و پروتئین برنج باعث کاهش بو و طعم نامطلوب روغن ماهی شد.

یکی از روش‌های مدل‌سازی آماری، به منظور فرمولاسیون فرآورده‌های غذایی، روش طرح آزمایشی مخلوط (Mixture Design) است. روش طرح آزمایشی مخلوط به منظور پیش‌بینی پاسخ برای هر جزء از ترکیبات، تعیین اثر ترکیبات روی پاسخ‌های هر جزء به صورت مجزا و در ترکیب با دیگر اجزا و جهت یافتن مقادیر بهینه در رسیدن به پاسخی هدفمند، بسیار مناسب می‌باشد (۱۹). با توجه به پتانسیل بالای کشورمان در صید ماهی کیلکا و با توجه به کیفیت تغذیه‌ای بسیار بالای روغن ماهی و اثرات مفید آن بر سلامتی، با افزایش پایداری روغن

مخلوط اضافه و ۳۰ ثانیه هم زده شدند. ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و ۳۰ ثانیه مخلوط گردیدند. مخلوط موردنظر با قیف بوختر حاوی کاغذ صافی صاف شده و حاصل صافی به یک دکانتور ۵۰۰ میلی‌لیتری انتقال یافت. جداسازی بعد از جداشدن کامل دو فاز از یکدیگر صورت گرفت. لایه بالایی حاوی آب و متانول و لایه زیرین حاوی کلروفرم بود (حجم کلروفرم حداقل ۱۵۰ لیتر می‌باشد که حاوی روغن خالص شده است). لایه کلروفرمی به بالن ته گرد ۲۵۰ میلی‌لیتری انتقال یافت و با استفاده از روتاری در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد تحت خلاء حلال آن تبخیر و بازده استخراج بر حسب درصد گزارش گردید (۲۰). پس از انجام مراحل استخراج، روغنی زرد رنگ با بازده ۵/۱ درصد به‌دست آمد.

شناسایی پروفایل اسیدهای چرب روغن ماهی کیلکا: جهت تشخیص پروفایل و مقدار اسیدهای چرب از گاز کروماتوگراف: Agilent- 6890, USA, ستون: SGE BPX 70; 120 m × 0.25 mm × 0.20 μm، دتکتور: FID، حرارت انژکتور: ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد، حرارت دتکتور: ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد، 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. پروفایل اسیدهای چرب و هم‌چنین مجموع اسیدهای چرب و نسبت آنها در روغن ماهی کیلکا (*Clupeonella cultriventris caspia*) در جدول ۱ نشان داده شده است.

این ماهی در برابر اکسیداسیون توسط تکنیک درون‌پوشانی و کنترل طعم و بوی نامطلوب روغن ماهی می‌توان به نحو بهینه‌ای از روغن ماهی به منظور غنی‌سازی فرآورده‌های غذایی استفاده نمود. بنابراین در پژوهش حاضر، با توجه به استفاده از چهار نوع ماده دیواره‌ای با اثرات متفاوت در فرایند ریزپوشانی و تولید فرمولاسیون‌هایی به کمک نرم‌افزار Design Expert، خصوصیات فیزیکوشیمیایی ریزپوشینه‌های تولید شده و هم‌چنین اثرات متقابل برخی از پارامترها نسبت به یکدیگر بررسی گردید. در گام بعدی، بهترین فرمولاسیون جهت ارزیابی ثبات اکسیداتیو تعیین و پایداری اکسایشی ریزپوشینه‌ها در مقایسه با روغن آزاد مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

ماهی کیلکا (*Clupeonella cultriventris caspia*) از شرکت خزر تولید واقع در شهرستان بندرانزلی خریداری گردید. کلرید منیزیم از شرکت لوبا شیمی و توئین ۸۰ از شرکت سیگما آلدریچ تهیه شد. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده با درجه آزمایشگاهی از شرکت مرک خریداری گردید. مالتو دکستروزین (۱۸-۲۰ DE) از شرکت Kirsh pharma کشور آلمان، کازئینات سدیم و کنستاتره آب پنیر از شرکت Friesland Campina کشور هلند، نشاسته اصلاح شده با نام تجاری Hi-Cap 100TM از شرکت National Starch کشور آلمان تهیه گردید.

استخراج روغن از ماهی کیلکا: ۱۰۰ گرم ماهی کیلکا با استفاده از آسیاب برقی خرد گردید و با ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم و ۲۰۰ میلی‌لیتر متانول به یک بشر ۵۰۰ میلی‌لیتری انتقال یافت و برای ۴-۲ دقیقه به خوبی مخلوط گردید. سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر کلروفرم به

جدول ۱- پروفایل اسید چرب روغن ماهی کیلکا.

روغن ماهی کیلکا (درصد)	اسیدهای چرب
۳/۸۳ ± ۰/۱۷	C14: 0
۱۹/۷۳ ± ۲/۲۶	C16: 0
۶/۷۴ ± ۰/۴۷	C16: 1
۴/۲۷ ± ۰/۲۱	C18: 0
۲۶/۷۷ ± ۱/۷۳	C18: 1
۲/۲۷ ± ۰/۰۷	C18: 2n-6
۲/۱ ± ۰/۳۰	C18: 3n-3
۲/۶۳ ± ۰/۱۷	C20: 1n-9
۷/۰۳ ± ۰/۲۹	C20: 5n-3 (EPA)
۱/۲۹ ± ۰/۱۰	C22: 5n-3 (DPA)
۱۶/۱ ± ۱/۳۴	C22: 6n-3 (DHA)
	SFA = 31.59%
	MUFA = 39.31%
	PUFA = 29.08%
	ω3/ω6 = 1.4%
	Polyene Index = 0.92%

اضافه شد. غلظت کل ماده جامد حل شده ۲۰ درصد (وزنی / وزنی) در نظر گرفته شد. سپس روغن ماهی به نسبت ۳:۱ به محلول اضافه و با هموژنایزر اولتراتورکس به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۵۰۰۰ rpm کاملاً هموژن شده و امولسیون یکنواخت به دست آمد (۲۱). امولسیون‌های تهیه شده ابتدا به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شده و پس از آن در خشک‌کن انجمادی در فشار تقلیل یافته خشک گردیدند. فرایند خشک شدن امولسیون‌های منجمد در خشک‌کن انجمادی ۷۲ ساعت به طول انجامید. نمونه‌ها در کیسه‌های پلاستیکی کاملاً درب بسته در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا آزمایش‌های فیزیکوشیمیایی لازم بر روی آن‌ها به عمل آید.

تهیه امولسیون: ابتدا جهت تهیه امولسیون، ترکیبات مختلف مواد دیواره‌ای شامل مالتودکسترین، کازئینات سدیم، کنستاتره پروتئین آب پنیر و نشاسته اصلاح شده در آب مقطر حل گردید. مالتودکسترین و نشاسته اصلاح شده (Hi-Cap100) به صورت جداگانه در آب دیونیزه ۴۰ درجه سانتی‌گراد با مگنت هم‌زده و تا ۱۰ درجه سانتی‌گراد سرد گردید. کازئینات سدیم و کنستاتره آب پنیر در آب دیونیزه ۵۵ درجه سانتی‌گراد با مگنت هم‌زده 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 به‌ازای 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

Zetasizer nano ساخت شرکت Malvern، انگلستان) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. برای محاسبه قطر متوسط ذرات که با نماد d_{43} (قطر حجم - طول) نمایش داده می‌شود، از رابطه زیر استفاده شد (۲۲).

$$D_{43} = \frac{\sum z_i d_i^4}{\sum z_i d_i^3} \quad (1)$$

سولفات سدیم بدون آب، حلال توسط روتاری اواپراتور تبخیر گردید. سپس روغن جمع‌آوری و تا رسیدن به وزن ثابت توسط بخار نیتروژن خشک شد. برای استخراج روغن آزاد، ۱۵ میلی‌لیتر هگزان به ۲ گرم پودر در یک شیشه ۳۰ میلی‌لیتری درپوش‌دار افزوده شد. به مدت ۲ دقیقه در دمای محیط هم زده تا روغن آزاد استخراج گردید. محلول از کاغذ واتمن شماره ۱ عبور داده شد و پودر باقی‌مانده روی کاغذ صافی سه مرتبه توسط هگزان شستشو گردید (در هر مرتبه از ۲۰ میلی‌لیتر هگزان استفاده شد). پودرهای باقی‌مانده، خشک و حلال نیز در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد تبخیر شد تا به وزن ثابت برسد. به منظور استخراج 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 درون‌پوشانی به صورت زیر محاسبه شد (۲۳).

$$\text{راندمان درون‌پوشانی} = 100 \times \frac{\text{روغن میکروکپسوله (۱۰۰ گرم پودر / گرم)}}{\text{کل روغن (۱۰۰ گرم پودر / گرم)}} \quad (2)$$

نرم‌افزار Design-Expert 7 استفاده شد و فرمولاسیون خروجی نرم‌افزار در جدول ۳ 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.

اندازه ذرات و شاخص پراکندگی (PDI)^۱: برای اندازه‌گیری متوسط قطر و توزیع اندازه ذرات، ابتدا دیسپرسیون آن‌ها در اتانول تهیه شد و برای جلوگیری از بهم چسبیدن ذرات از امواج اولتراسوند استفاده شد. سپس به کمک دستگاه انکسار نور لیزر (مدل

در این عبارت تعداد ذرات Z_i با قطر d_i می‌باشد.

هم‌چنین شاخص پراکندگی با توجه به منحنی توزیع

اندازه ذرات توسط نرم‌افزار دستگاه محاسبه گردید.

راندمان درون‌پوشانی (Encapsulation efficiency):

ابتدا به منظور استخراج روغن کل یک نمونه ۴ گرمی از پودر را در ۴۰ میلی‌لیتر آب با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد پخش و سپس به آرامی همزده شد. ۴ میلی‌لیتر هیدروکسید آمونیوم ۲۵ درصد 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، در مرحله سوم: ۵۰ میلی‌لیتر دی اتیل اتر و ۵۰ میلی‌لیتر هگزان. بعد از فیلتراسیون از طریق کاغذ صافی حاوی

طراحی فرمولاسیون: فرمولاسیون نمونه‌ها با مخلوط کردن ۴ جزء اصلی مالتودکسترین، کازئینات سدیم، کنستانتره آب پنیر و نشاسته اصلاح شده آماده شد. محدوده درصد وزنی اجزاء در فرمولاسیون‌ها در جدول ۲ آورده شده است. جهت تعیین درصد وزنی اجزاء اصلی در هر فرمولاسیون، از طراحی مخلوط در

جدول ۲- 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
کنستانتره آب پنیر (WPC)	۰	۴۰
نشاسته اصلاح شده (Hi-cap 100)	۰	۴۰

جدول ۳- فرمولاسیون خروجی نرم‌افزار.

فرمولاسیون	مالتو دکسترین	کازئینات سدیم	کنستانتره آب پنیر	نشاسته اصلاح شده
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

برای ترسیم منحنی کالیبراسیون، محلول‌های استاندارد یون فریک (آهن III) تهیه گردید (غلظت‌های ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲۵ و ۱/۵۶۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر). ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول‌های استاندارد به ۹/۷ میلی‌لیتر مخلوط کلروفورم: متانل (به نسبت ۷:۳) اضافه شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۲ مولار کلرید فرو در اسید کلریدریک ۱۰ درصد و ۰/۱ میلی‌لیتر محلول ۳۰ درصد تیوسیانات آمونیوم به سیستم اضافه گردید. پس از هم‌زدن شدید جذب در ۷۰۰ نانومتر قرائت شد. منحنی استاندارد بر اساس تابعیت غلظت‌های استاندارد از جذب خوانده شده برای هر غلظت رسم گردید.

محاسبه میزان پراکسید در نمونه: برای تعیین میزان پراکسید، نمونه‌هایی به وزن ۰/۰۰۱ تا ۰/۰۳۰۰ گرم توزین و به آن ۹/۸ میلی‌لیتر مخلوط کلروفورم: متانل (به نسبت ۷:۳) اضافه شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۲ مولار کلرید فرو در اسید کلریدریک ۱۰ درصد اضافه شد. نمونه پس از هم‌زدن، سه دقیقه به حال خود رها و سپس به آن ۰/۱ میلی‌لیتر محلول ۳۰ درصد تیوسیانات آمونیوم اضافه شد. آن‌گاه جذب نمونه در ۵۰۰ نانومتر قرائت گردید. عدد پراکسید براساس رابطه زیر مورد محاسبه قرار گرفت.

$$PV = \frac{(A_{\text{Sample}} - A_{\text{blank}})m}{55/8 \times 2 \times W} \quad (3)$$

ایزواکتان (شاهد) قرائت گردید (A_b). مقدار ۵ میلی‌لیتر از محلول روغن در ایزواکتان به یک لوله آزمایش و ۵ میلی‌لیتر ایزواکتان، به یک لوله آزمایش دیگر منتقل گردید. یک میلی‌لیتر محلول پارآنیزیدین به هر یک از دو لوله آزمایش اضافه کرده و به خوبی مخلوط شد. پس از ۱۰ دقیقه نگهداری در تاریکی، جذب محلول نمونه (ایزواکتان + روغن + پارآنیزیدین) در برابر شاهد (ایزواکتان + پارآنیزیدین) قرائت گردید (A_s) (۲۶).

با توجه به استفاده از چهار نوع ماده دیواره‌ای با اثرات متفاوت در فرایند درون‌پوشانی و تولید فرمولاسیون‌هایی به کمک نرم‌افزار Design Expert، خصوصیات فیزیکوشیمیایی کپسول‌های تهیه شده و همچنین اثرات متقابل برخی از پارامترها نسبت به یکدیگر بررسی گردید. ریزپوشینه‌های با ترکیب دیواره بهینه با بالاترین راندمان درون‌پوشانی، جهت ارزیابی پایداری اکسیداتیو انتخاب شدند.

بررسی ثبات اکسیداتیو ریزپوشینه‌ها: جهت ارزیابی ثبات اکسیداتیو در ریزپوشینه بهینه تهیه شده، نمونه‌ها و روغن ماهی تحت شرایط نگهداری در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت‌های صفر و ۳۲ درصد به مدت ۲۱ روز قرار گرفته و در فواصل زمانی ۷ روزه آزمون‌های زیر انجام شد (۲۴).

اندازه‌گیری شاخص پراکسید (PV) به روش تیوسیانات: اساس این روش اکسایش آهن II توسط پراکسیدها می‌باشد. آهن III به وجود آمده با تیوسیانات آمونیوم کمپلکس قرمز رنگی ایجاد می‌کند. کمپلکس به وجود آمده در طول موج ۵۰۰ نانومتر دارای بیش‌ترین جذب می‌باشد و به عنوان شاخصی از میزان پراکسید در نظر گرفته می‌شود.

A_{sample} و A_{blank} به ترتیب جذب‌های نمونه و شاهد است m شیب منحنی استاندارد جذب در مقابل غلظت یون فریک و W وزن نمونه است (۲۵).
اندازه‌گیری شاخص آنیزیدین: پارآنیزیدین را در اسید استیک حل نموده و محلولی به غلظت ۰/۲۵ gr/۱۰۰ml تهیه گردید. مقدار ۰/۷ - ۰/۵ گرم نمونه روغن را به دقت در یک بالن ۲۵ میلی‌لیتری توزین کرده (m) و سپس توسط ایزواکتان به حجم رسانده و کاملاً مخلوط گردید. جذب محلول حاصل (ایزواکتان + روغن) در طول موج ۳۵۰ nm در مقابل

$$\text{شاخص آنیزیدین} = \frac{25(1/2A_s - A_b)}{m} \quad (۴)$$

آن در طول موج ۲۳۴ نانومتر در مقابل هگزان (شاهد) قرائت شد و مقدار ترکیبات دی آن کنژوگه از رابطه زیر محاسبه گردید (۲۷).

$$CDV = \frac{A \times 600 \times 1000}{29000} \quad (۵)$$

حامد و همکاران (۱۰) مشاهده کردند که رابطه‌ای بین اندازه ذرات و راندمان درون‌پوشانی وجود ندارد و آن‌ها غلظت بالای مواد جامد را بر روی اندازه ذرات مؤثرتر دانستند که با نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر مطابقت داشت. اندازه‌های بسیار کوچک ذرات می‌توانند پایداری سیستم‌های کپسوله‌سازی را در برابر رسوب یا خامه‌ای شدن فراهم کنند و برای کاربردهای غذایی مناسب هستند. اندازه ذرات و توزیع آن‌ها تأثیر مهمی بر خواص فیزیکی هم‌چون پایداری، کدورت و خواص رئولوژیکی سیستم‌های کلئوئیدی (۲۸) دارد. چوی و همکاران (۲۹) دریافتند که غلظت روغن ماهی اثر قابل توجهی بر اندازه ذرات امولسیون دارد و میانگین اندازه ذرات روغن ماهی محصور شده در بتاسیکلودکستین در محدوده ۲۵۰-۷۰۰ نانومتر بود. در حالی که روغن ماهی ریزپوشانی شده ابا پلی کاپرولاکتون کوچک‌ترین اندازه (۲۰۰ نانومتر) را داشت. بحرانی و همکاران (۳۰) اندازه ذرات ۱۱۸ نانومتر را برای ذرات امگا ۳ نانوپوشانی شده با کمپلکس‌های حاوی ۱ درصد کازئینات سدیم و ۰/۴۵ درصد پکتین گزارش کرد. براساس یافته‌های آن‌ها، غلظت مواد دیواره تا حد زیادی بر اندازه ذرات کمپلکس تأثیر گذاشته است.

اندازه‌گیری شاخص دی آن کنژوگه: به منظور اندازه‌گیری عدد دی آن مزدوج، نمونه روغن با نسبت ۱ به ۶۰۰ با هگزان (با درجه HPLC) رقیق و جذب

که در آن، A اختلاف میزان جذب نمونه در طول موج ۲۳۴ نانومتر و جذب نمونه شاهد است. عدد ۶۰۰ رقت نمونه در هگزان و عدد ۲۹۰۰۰ ضریب خاموشی است.

تجزیه و تحلیل آماری: در پژوهش حاضر از طرح مخلوط جهت بررسی اثر هریک از چهار ترکیب روی راندمان درون‌پوشانی و تعیین فرمولاسیون بهینه استفاده شد. نتایج آزمایش‌ها با استفاده از Design Expert7 آنالیز شدند. آزمایش اسپلٹ پلات در واحد زمان در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. هم‌چنین برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح معنی‌داری $\alpha=5$ درصد استفاده شد. همه تجزیه و تحلیل آماری با نرم‌افزار SPSS15 و نمودارهای موجود با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

اندازه ذرات ریزپوشینه‌ها و شاخص پراکنندگی: نتایج حاصل از اندازه‌گیری ذرات ریزپوشینه‌های تولید شده در جدول ۴ نشان داده شده است. طبق نتایج به دست آمده اختلاف معنی‌داری بین اندازه ذرات مشاهده گردید ($P \leq 0/05$). اندازه ذرات در تیمارها با فرمولاسیون‌های مختلف بین ۰/۳۴ تا ۱/۴ میکرومتر متغیر بود.

جدول ۴- مقادیر اندازه ذرات و شاخص پراکندگی ریزپوشینه‌های تولید شده.

شاخص پراکندگی (PDI)	اندازه ذرات ریزپوشینه (d _{4,3} mμ)	فرمولاسیون	شاخص پراکندگی (PDI)	اندازه ذرات ریزپوشینه (d _{4,3} mμ)	فرمولاسیون
۰/۵۳ ± ۰/۰۳ ^{de}	۰/۵۶ ± ۰/۰۸ ^{ef}	۱۱	۰/۴۷ ± ۰/۰۳ ^{fg}	۰/۸۳ ± ۰/۰۷ ^{cd}	۱
۰/۶۲ ± ۰/۰۵ ^{bc}	۰/۸۹ ± ۰/۱۶ ^c	۱۲	۰/۴۳ ± ۰/۰۲ ^{gh}	۰/۳۴ ± ۰/۰۴ ^h	۲
۰/۴۴ ± ۰/۰۴ ^{gh}	۰/۴۶ ± ۰/۰۶ ^{fgh}	۱۳	۰/۹۲ ± ۰/۰۲ ^a	۱/۴ ± ۰/۱ ^a	۳
۰/۴۴ ± ۰/۰۵ ^{gh}	۰/۵۵ ± ۰/۰۵ ^{ef}	۱۴	۰/۶۷ ± ۰/۰۶ ^b	۰/۷۶ ± ۰/۰۴ ^{cd}	۴
۰/۵۴ ± ۰/۰۳ ^{de}	۰/۶۸ ± ۰/۱ ^{de}	۱۵	۰/۵۲ ± ۰/۰۲ ^{def}	۰/۵۶ ± ۰/۰۶ ^{ef}	۵
۰/۱ ± ۰/۰۱ ^j	۱/۳ ± ۰/۰۸ ^a	۱۶	۰/۴۹ ± ۰/۰۳ ^{efg}	۰/۳۹ ± ۰/۱۱ ^{gh}	۶
۰/۳۹ ± ۰/۰۲ ^h	۰/۴۳ ± ۰/۰۳ ^{fgh}	۱۷	۰/۶۲ ± ۰/۰۲ ^{bc}	۰/۷۹ ± ۰/۱۱ ^{cd}	۷
۰/۵۳ ± ۰/۰۲ ^{de}	۰/۵۱ ± ۰/۰۴ ^{fg}	۱۸	۰/۵۸ ± ۰/۰۳ ^{cd}	۰/۷۳ ± ۰/۰۳ ^d	۸
۰/۴۶ ± ۰/۰۲ ^g	۰/۴۲ ± ۰/۰۲ ^{fgh}	۱۹	۰/۲ ± ۰/۰۴ ⁱ	۰/۷۳ ± ۰/۱۳ ^a	۹
۰/۴۴ ± ۰/۰۴ ^{gh}	۱/۱ ± ۰/۱ ^b	۲۰	۰/۶۵ ± ۰/۰۱ ^b	۰/۶۹ ± ۰/۰۷ ^{de}	۱۰

مقادیر در جدول نشان‌دهنده میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.

حروف کوچک غیرمشابه در جدول نشان‌دهنده معنی داری ($P < 0/05$) بین تیمارها می‌باشد

مقادیر روغن سطحی و روغن کل محاسبه می‌گردد (۲۳). راندمان درون‌پوشانی یکی از فاکتورهای مهم در تعیین پایداری ترکیبات کپسوله شده می‌باشد، زیرا نشانگر وجود روغن سطحی بر سطح ذرات پودر و توانایی ماتریس دیواره در جلوگیری از خروج روغن درونی طی استخراج است (۳۳). در سال‌های اخیر تاکید اصلی درون‌پوشانی روغن‌ها و طعم‌دهنده‌های خوراکی بر افزایش راندمان است که مانع از دست رفتن مواد فرار و سبب افزایش مدت ماندگاری محصولات با کاهش مقدار روغن سطحی بر سطح ذرات می‌گردد. مقادیر راندمان درون‌پوشانی در جدول ۵ آورده شده است. نتایج نشان داد، اختلاف معنی داری ($P \leq 0/05$) در مقادیر راندمان با توجه به تفاوت در ترکیبات دیواره وجود داشت. بیش‌ترین و کم‌ترین درون‌پوشانی به ترتیب در تیمارها با فرمولاسیون‌های ۱۹ و ۶ با مقادیر ۹۰/۰۲ و ۴۵/۶۹ درصد مشاهده گردید. مطالعات مختلف راندمان درون‌پوشانی را تا ۹۵ درصد گزارش کرده‌اند که به

لگاکو و همکاران (۳۱) عدم یکسانی شکل و اندازه پودرها را ناشی از تفاوت در میزان رطوبت پودر حاصله دانستند. نتایج هاندر و همکاران (۳۲) نشان داد که ترکیبات مختلف دیواره و تکنیک درون‌پوشانی هر دو به‌طور معنی‌داری بر روی اندازه، شکل و به‌طورکلی ساختار ریزپوشینه‌ها اثرگذار است.

با توجه به منحنی توزیع اندازه ذرات پودر، منحنی تیمارها با فرمولاسیون‌های ۱، ۳، ۹، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶ و ۲۰ تک قله‌ای بوده که نشان‌دهنده یکنواخت بودن توزیع اندازه ذرات می‌باشد. میانگین قطر ذرات و هم‌چنین شاخص پلی پراکندگی (PDI) که نشان‌دهنده توزیع اندازه و یکنواختی سیستم است در تمامی فرمولاسیون‌ها بین صفر و یک گزارش گردید. بنابراین شاخص پراکندگی در تیمارها با فرمولاسیون‌های ۱۶ و ۹ به‌ترتیب ۰/۱ و ۰/۲ گزارش گردید که نشان‌دهنده پراکندگی کم‌تر در اندازه ذرات می‌باشد.

راندمان درون‌پوشانی: راندمان درون‌پوشانی، تعیین مقدار روغنی است که با موفقیت کپسوله شده و از

درون‌پوشانی برابر با ۸۷/۳ درصد نتیجه نانوکپسوله کردن روغن ماهی از طریق خشک کردن انجمادی توسط بجرافا و همکاران (۲۰۱۰) تعیین شد (۳۷). دروش و همکاران (۳۸) دریافتند که درون‌پوشانی روغن ماهی با کمپلکس پروتئین و کربوهیدرات سبب افزایش راندمان درون‌پوشانی می‌گردد به طوری که با افزایش میزان کازئینات سدیم، مقدار کارایی درون‌پوشانی افزایش یافت. کارنیرو و همکاران (۲۲) گزارش کردند راندمان درون‌پوشانی را نمی‌توان به اندازه قطرات امولسیون یا ویسکوزیته نسبت داد و تفاوت در مقادیر احتمالاً به خاطر تفاوت بین مواد پلی‌مری تشکیل‌دهنده دیواره و نسبت‌های مختلف مورد استفاده است. به‌طورکلی این دیدگاه وجود دارد که پایداری ترکیبات با افزایش ضریب درون‌پوشانی، افزایش می‌یابد و برای دستیابی به شرایط بهینه باید تا حد امکان سعی در افزایش ضریب درون‌پوشانی نمود (۳۸).

نوع و ترکیب مواد دیواره، نسبت هسته به پوشش دیواره، فرآیند خشک کردن و پایداری یا ویژگی‌های فیزیکی امولسیون‌ها بستگی دارد. مطالعات پیشین کاهش در راندمان درون‌پوشانی را به فقدان مواد دیواره‌ای کافی در تولید ماتریکسی قوی، ایجاد لایه‌های نازک‌تر از مواد دیواره بین قطرات روغن کپسوله و نیز بی‌ثباتی قطرات امولسیون طی فرآیند خشک کردن نسبت دادند و افزایش راندمان درون‌پوشانی را به دلیل تشکیل سریع پوسته بر سطح ذرات دانستند.

مشاهدات مشابهی توسط سایر نویسندگان در یافته‌های پیشین گزارش شده است (۳۴، ۳۵، ۳۶)، که مشخص نمودند راندمان درون‌پوشانی زمانی که از یک ترکیب به تنهایی به عنوان پوشش استفاده می‌شود، نسبتاً پایین است و بکارگیری ترکیبی از مواد دیواره‌ای با خصوصیات مختلف نقش محافظتی بهتری ایفا می‌کنند. در تطابق با مطالعات پیشین، راندمان

جدول ۵- مقادیر راندمان درون‌پوشانی (درصد) ریزپوشینه‌های تولید شده.

راندمان درون‌پوشانی (درصد)	فرمولاسیون	ردیف	راندمان درون‌پوشانی (درصد)	فرمولاسیون	ردیف
۷۰/۸۳ ± ۷/۴۹ ^d	۳۷/۵۰۲۲/۱۹۵/۱۵۳/۵۰ F	۱۱	۸۳/۲۳ ± ۴ ^{abc}	۲۰/۳۷۸۰۰۳۵/۳۲۵/۱۹/۲۹۷ F	۱
۶۰/۱۶ ± ۶/۰۲ ^{ef}	۲۶/۶۴۴/۱۰/۸۵۶/۳۷/۵۰ F	۱۲	۷۰/۷۴ ± ۱/۳۱ ^d	۳۷/۵۰۱۰/۴۹۹/۲۰۷۲۲/۲۴/۲۹۹ F	۲
۶۷/۵۱ ± ۳ ^{dc}	۲۰/۰۴۶۲۳/۸۶۸۰۰۳۱/۰۸۶ F	۱۳	۵۸/۸۱ ± ۳/۲۰ ^{fg}	۱/۴۲۷/۴/۱۸۹/۳۷/۵/۳۱/۸۸۴ F	۳
۵۷/۱۸ ± ۳/۹۹ ^{fg}	۵/۱۱۶/۲۰/۳۹۳/۳۷/۵/۱۱/۹۹۱ F	۱۴	۷۵/۷۸ ± ۴/۵۳ ^{cd}	۳/۶۰۲/۳۷/۵/۳۳/۹۸۰ F	۴
۷۴/۳۹ ± ۵/۰۸ ^{cd}	۰/۹۴۶/۳۲/۵۳۵/۴/۰۲/۳۷/۵ F	۱۵	۷۷/۶۶ ± ۴ ^{bcd}	۳/۶۰۲/۳۷/۵/۳۳/۹۸۰ F	۵
۷۴/۳۲ ± ۲ ^{cd}	۳۷/۵۰۲۲/۱۹۵/۱۵۳/۵۰ F	۱۶	۴۵/۶۹ ± ۵/۰۸ ^h	۲۸/۸۰۱/۵۰۰۲/۳۶۹۷/۳۷/۵ F	۶
۸۵/۷۰ ± ۲/۳۵ ^{ab}	۶/۹۹۹/۳۷/۵/۱۳/۶۳/۱۶/۸۳۶ F	۱۷	۷۱/۸۳ ± ۳/۵ ^d	۰/۹۴۶/۳۲/۵۳۵/۴/۰۲/۳۷/۵ F	۷
۶۸/۶۱ ± ۲/۳۹ ^{de}	۱۰/۸۹۴/۸۸۵/۱۰۱۷/۷۵۵/۳۷/۵ F	۱۸	۵۸/۶۴ ± ۳ ^{fg}	۱/۴۲۷/۴/۱۸۹/۳۷/۵/۳۱/۸۸۴ F	۸
۹۰/۰۲ ± ۱/۰۱ ^a	۲۳/۶۶/۳۷/۵۰/۱۳/۸۴ F	۱۹	۶۹/۸۲ ± ۱۰ ^d	۱۴/۶۶۶/۲۰/۱۹۲/۰/۲۲۶/۲۰/۰۸۹ F	۹
۵۰/۰۳ ± ۱/۹۸ ^{gh}	۳۷/۵۰۰۱۹/۵۶/۱۷/۹۴ F	۲۰	۸۷/۰۷ ± ۱۱ ^a	۲۳/۶۶/۳۷/۵۰/۱۳/۸۴ F	۱۰

F_{a,b,c,d}: فرمولاسیونی که درصد وزنی مالتودکسترین، کازئینات سدیم، کنستانتره آب پنیر و نشاسته اصلاح شده در آن به ترتیب d,c,b,a است

مقادیر در جدول نشان‌دهنده میانگین ± انحراف معیار می‌باشد

حروف کوچک غیرمشابه در جدول نشان‌دهنده معنی‌داری (P < ۰/۰۵) بین تیمارها می‌باشد

مدل برای توصیف متغیر پاسخ راندمان درون‌پوشانی پیشنهاد شد.

مقادیر برآورد ضریب و Probability برای هر یک از اجزا و برهمکنش‌های آن‌ها در جدول ۶ نشان داده شده است. برآورد ضریب سنجشی از میزان تأثیر عبارت مربوطه نسبت به سایر عبارتهای مدل بر متغیر وابسته است و هرچه این ضریب بیش‌تر باشد یعنی عبارت مربوطه به آن، اثر بیش‌تری بر متغیر وابسته دارد.

با توجه به نتایج آزمایش‌های انجام گرفته، مهم‌ترین پارامتر در تهیه میکروکپسول‌ها راندمان درون‌پوشانی می‌باشد، در نتیجه جهت استفاده از آن در سیستم مدل غذایی از نرم‌افزار Design Expert 7 برای رسیدن به بهترین فرمولاسیون استفاده گردید.

مدل‌سازی آماری راندمان درون‌پوشانی: با توجه به این‌که در مدل مکعب خاص تمام فاکتورها معنی‌دار و عدم برازش بی‌معنی است و میزان R^2 برای متغیر وابسته ۰/۹۹ می‌باشد. مدل مکعب خاص مناسب‌ترین

جدول ۶- تجزیه واریانس مدل مکعب خاص و برآورد ضرایب اجزاء و برهم‌کنش‌های آن‌ها بر راندمان درون‌پوشانی.

برآورد ضریب	راندمان درون‌پوشانی (درصد) Probability (P)	مربع تغییرات
	<۰/۰۰۰۱	مدل
۷۵۱/۱۳	<۰/۰۰۰۱	A (مالتودکسترین)
۱۱۲۹/۷۹	<۰/۰۰۰۱	B (کازئینات سدیم)
۱۰۷۳/۳۷	<۰/۰۰۰۱	C (کنستانتره آب‌پنیر)
۹۲۵/۹۳	<۰/۰۰۰۱	D (نشاسته اصلاح شده)
-۳۴۱۷/۵۸	<۰/۰۰۰۱	AB
-۳۰۹۶/۱۰	<۰/۰۰۰۱	AC
-۳۳۵۲/۳۰	<۰/۰۰۰۱	AD
-۴۲۲۲/۸۹	<۰/۰۰۰۱	BC
-۴۴۵۰/۴۱	<۰/۰۰۰۱	BD
-۴۰۵۶/۵۷	<۰/۰۰۰۱	CD
۳۲۴۱/۲۸	<۰/۰۰۰۱	ABC
۹۸۴۹/۱۶	<۰/۰۰۰۱	ABD
۸۳۰۸/۲۴	<۰/۰۰۰۱	ACD
۱۲۲۷۸/۶۱	<۰/۰۰۰۱	BCD

مقدار P کم‌تر از ۰/۰۵ و بیش‌تر از ۰/۱ به ترتیب بیانگر معنی‌داری و غیرمعنی‌داری اثر عبارت‌های مدل بر ضریب کپسولاسیون می‌باشد

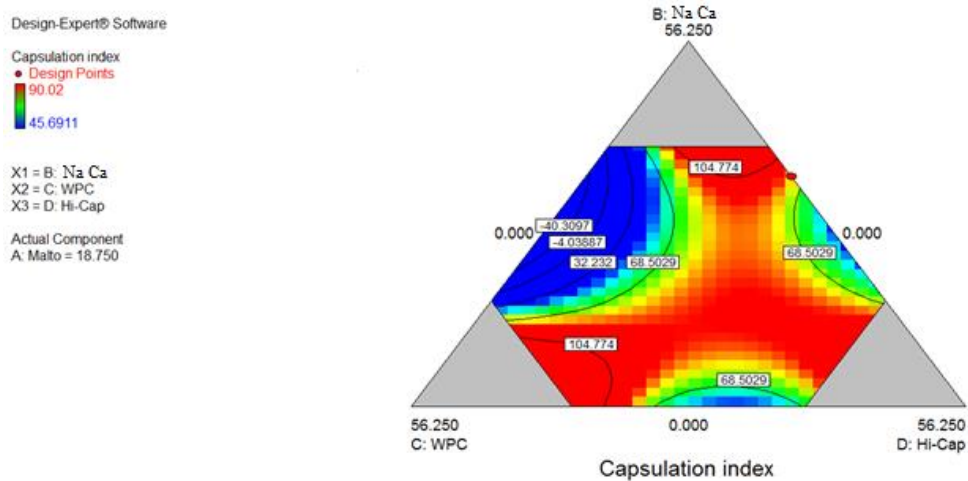
آن‌ها A، B، C و D به ترتیب درصد وزنی مالتودکسترین، کازئینات سدیم، کنستاتره آب پنیر و نشاسته اصلاح شده است.

مدل مکعب خاص با رابطه زیر برای توصیف اثر اجزا بر راندمان درون‌پوشانی مورد تأیید قرار گرفت (مقدار R^2 برای متغیر وابسته ۰/۹۹ می‌باشد). که در

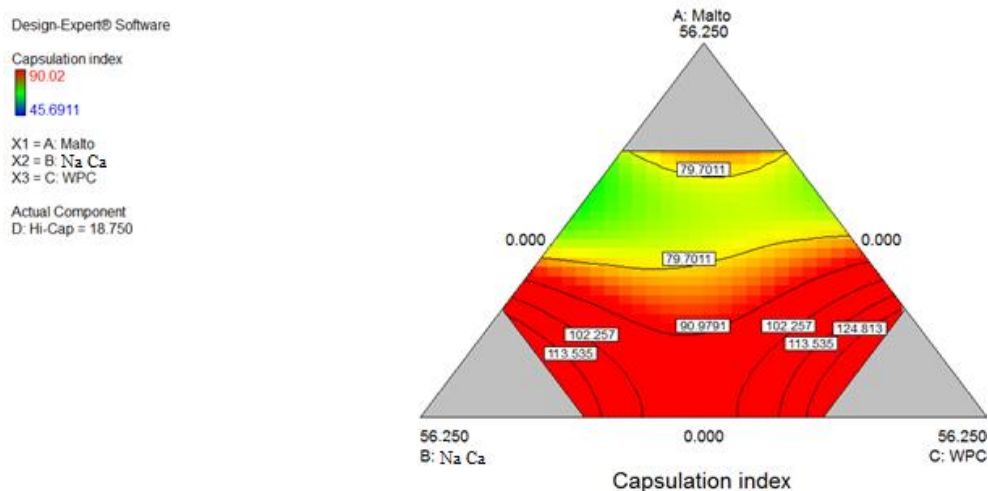
$$\begin{aligned} \text{کپسولاسیون} = & +10/01505 \times A + 15/06386 \times B + 14/31166 \times C + 12/34569 \times D - 0/60757 \times AB - \\ & 0/55042 \times AC - 0/59596 \times AD - 0/75074 \times BC - 0/79118 \times BD - 0/72117 \times CD + 0/0768303 \times ABC + 0/023346 \times \\ & ABD + 0/019694 \times ACD + 0/029105 \times BCD \end{aligned}$$

همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش درصد وزنی کازئینات سدیم و کنستاتره آب پنیر و افزایش نشاسته اصلاح شده راندمان درون‌پوشانی افزایش می‌یابد.

بررسی تأثیر ترکیبات فرمولاسیون بر متغیر پاسخ (راندمان درون‌پوشانی): در شکل ۱ اثرات متقابل کازئینات سدیم، کنستاتره آب پنیر و نشاسته اصلاح شده بر راندمان درون‌پوشانی آورده شده است.



شکل ۱- اثر متقابل کازئینات سدیم، کنستاتره آب پنیر و نشاسته اصلاح شده بر راندمان درون‌پوشانی.



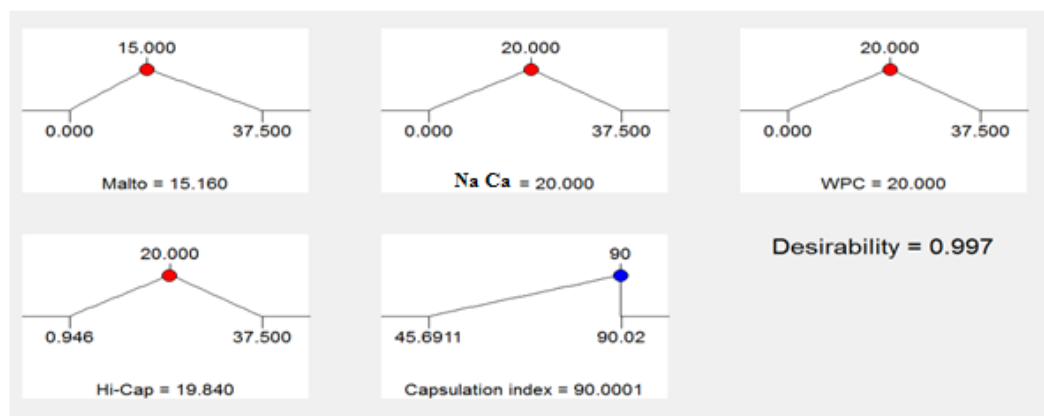
شکل ۲- اثر متقابل کازئینات سدیم، کنستاتره آب پنیر و مالتودکسترین بر راندمان درون‌پوشانی.

مالتودکسترین (۱۵/۱۶ درصد)، کازئینات سدیم (۲۰ درصد)، کنستاتره آب پنیر (۲۰ درصد)، نشاسته اصلاح شده (۱۹/۸۴ درصد) با ضریب کپسولاسیون ۹۰ درصد بود. بر این اساس با به کارگیری این مقادیر می‌توان با اطمینان ۹۹ درصد به فرمولاسیون پودری با راندمان درون‌پوشانی بالا دست یافت.

با توجه به شکل ۲ مشاهده می‌شود با افزایش درصد وزنی کنستاتره آب پنیر و کازئینات سدیم و کاهش مالتودکسترین راندمان درون‌پوشانی افزایش می‌یابد.

با بررسی نتایج حاصل از آزمون‌ها، فرمول بهینه پیشنهادی توسط نرم‌افزار که دارای بالاترین میزان راندمان درون‌پوشانی بود، دارای نسبت‌های

Solutions						
Number	Malto	Na Ca	WPC	Hi-Cap	Capsulation index	Desirability
1	15.160	20.000	20.000	19.840	90.0001	0.997
2	15.000	24.463	15.537	20.000	89.6412	0.895



شکل ۳- فرمولاسیون بهینه خروجی از نرم‌افزار.

خصوصیات ذرات بعد از خشک شدن و در طی انبارداری مؤثر است. 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 کمک قابل توجهی می‌نماید (۴۰). طبق مطالعات انجام شده، نفوذ اکسیژن از شبکه دیواره تحت تأثیر تخلخل ماده دیواره است و پایداری اکسیداسیونی مواد هسته را تعیین می‌کنند (۴۰).

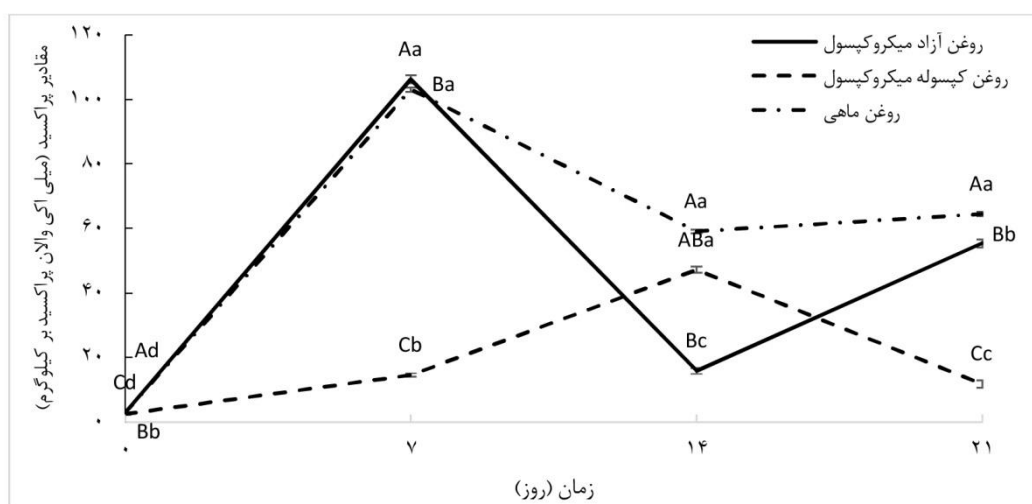
شاخص پراکسید (PV) برای اندازه‌گیری وضعیت اکسیداسیونی چربی‌ها و روغن‌ها (اکسیداسیون اولیه)

پس از تهیه میکروکپسول با فرمولاسیون بهینه که توسط نرم‌افزار طراحی گردیده بود، راندمان درون‌پوشانی آن تعیین گردید. میزان راندمان درون‌پوشانی ۸۹/۳ درصد بود.

نتایج بررسی آزمون‌های ثبات اکسیداتیو ریزپوشینه میزان پراکسید: روغن آزاد کم‌تر در سطح ریزپوشینه‌ها باعث افزایش مدت زمان ماندگاری آن خواهد شد، زیرا حدود ۷۵ درصد از ماده هسته (روغن ماهی) از اسیدهای چرب غیر اشباع تشکیل شده است (۳۹). انتخاب ترکیب مواد دیواره در خواص امولسیون،

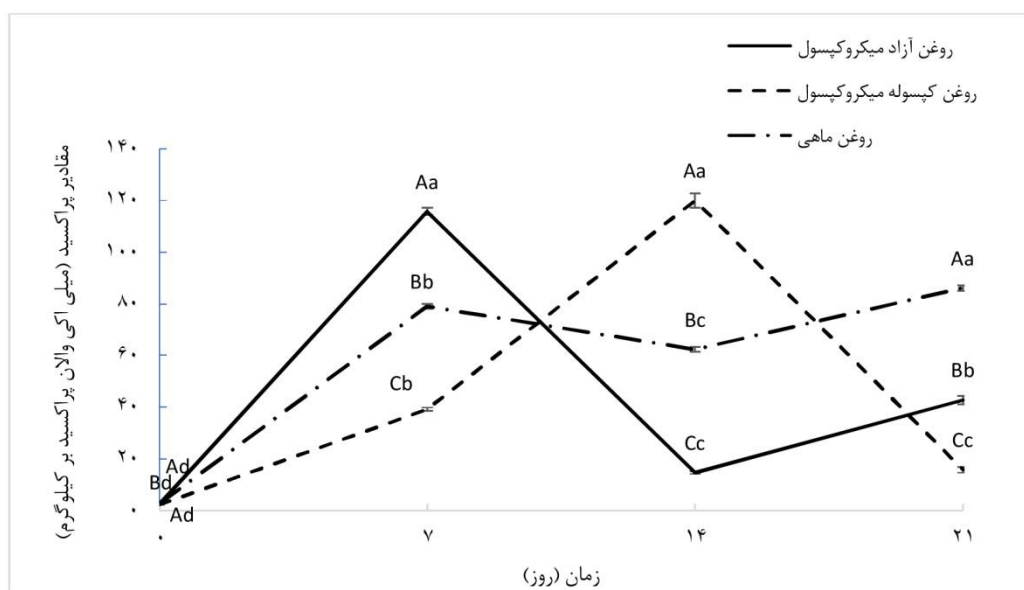
نتایج مقایسه نمودارهای میزان پراکسید در تیمارهای نگهداری شده در رطوبت‌های صفر و ۳۲ درصد نشان داد که رطوبت صفر دارای اثر محافظتی بیش‌تری در برابر اکسیداسیون در روغن‌های کپسوله و آزاد نسبت به رطوبت ۳۲ درصد داشت. که این امر می‌تواند به دلیل افزایش رطوبت در محیط نگهداری باشد که باعث افزایش شدت اکسیداسیون در تیمارهای نگهداری شده در رطوبت ۳۲ درصد شده است. یافته‌های مطالعه حاضر با گزارشات ولاسکو و همکاران (۲۴) در خصوص اثر محافظتی بیش‌تر رطوبت ۳۲ درصد در روغن آزاد نسبت به رطوبت صفر درصد هم‌خوانی نداشت. نتایج به‌دست آمده در این پژوهش هم‌سو با نتایج ذکر شده در مطالعات دیگر (۴۰ و ۴۱) بود که در طی مدت زمان نگهداری، افزایش مقدار اکسیداسیون در روغن ماهی کپسوله شده مشاهده می‌گردد. نتایج قربان‌زاده و همکاران (۳۳) تأیید نمود که میزان شاخص پراکسید تمام تیمارها در طی نگهداری تسریع یافته افزایش یافت و نمونه‌های کپسوله شده حفاظت خوبی در برابر اکسیداسیون نسبت به روغن ماهی از خود نشان دادند.

بعد از فراوری و در طی نگهداری استفاده می‌شود. هیدروپراکسیدها محصولات اولیه اکسیداسیون لیپیدها هستند که نیمه عمر کوتاه‌تری نسبت به محصولات ثانویه اکسیداسیون دارند. به‌طورکلی شاخص پراکسید همه تیمارها با افزایش مدت زمان ماندگاری افزایش یافت. با توجه به نمودارهای میزان پراکسید در تیمارهای نگهداری شده در رطوبت‌های صفر و ۳۲ درصد میزان پراکسید در تیمارهای روغن آزاد میکروکپسول و روغن ماهی تا روز هفتم آزمایش با شدت بیش‌تری نسبت به تیمار روغن کپسوله میکروکپسول افزایش یافت. در روغن کپسوله روند افزایش تا روز ۱۴ نگهداری به حداکثر رسید. مقادیر پراکسید در دو تیمار روغن آزاد و روغن ماهی از روز ۷ نگهداری کاهش یافت که می‌تواند به دلیل تبدیل شدن ترکیبات اولیه حاصل از اکسیداسیون به ترکیبات ثانویه باشد. به‌طورکلی میزان اکسید شدن در روغن آزاد و روغن ماهی نسبت به روغن کپسوله بیش‌تر است و نشان‌دهنده این است که ماتریکس توانایی کنترل اکسیداتیو را در روغن کپسوله دارد.



شکل ۴- نمودار میزان پراکسید تیمارهای نگهداری شده در رطوبت صفر درصد.

حروف بزرگ نشان‌دهنده اختلاف بین تیمارها در یک زمان و حروف کوچک نشان‌دهنده اختلاف بین زمان‌های مختلف در یک تیمار می‌باشد.



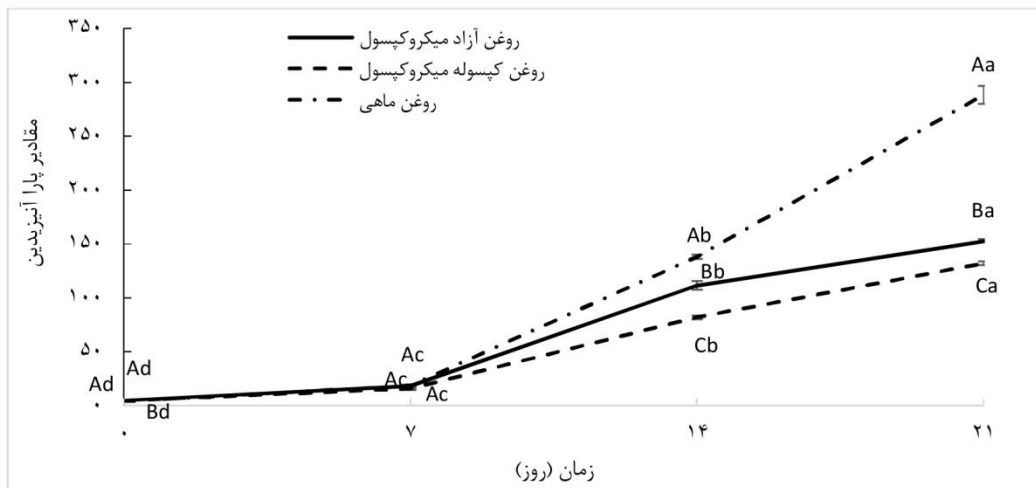
شکل ۵- نمودار میزان پراکسید تیمارهای نگهداری شده در رطوبت ۳۲ درصد.

حروف بزرگ نشان‌دهنده اختلاف بین تیمارها در یک زمان و حروف کوچک نشان‌دهنده اختلاف بین زمان‌های مختلف در یک تیمار می‌باشد.

با توجه به میزان پارآنیزیدین در تیمارهای نگهداری شده در رطوبت‌های صفر و ۳۲ درصد مشخص می‌شود که با گذشت زمان میزان پارآنیزیدین افزایش داشته و این افزایش تا روز ۲۱ نگهداری ادامه یافت و بیش‌ترین افزایش در تیمار روغن ماهی گزارش گردید. به‌طورکلی افزایش مقادیر پارآنیزیدین در تیمارهای نگهداری شده در رطوبت صفر با سرعت کم‌تری صورت می‌گیرد. چن و همکاران (۳۹) گزارش کردند که میزان پارآنیزیدین در تیمارهای نگهداری شده در شرایط تسریع یافته در طول زمان روندی افزایشی داشته و تیمارهای روغن کپسوله میزان پارآنیزیدین کم‌تری نسبت به روغن ماهی و روغن آزاد نشان دادند که با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی داشت.

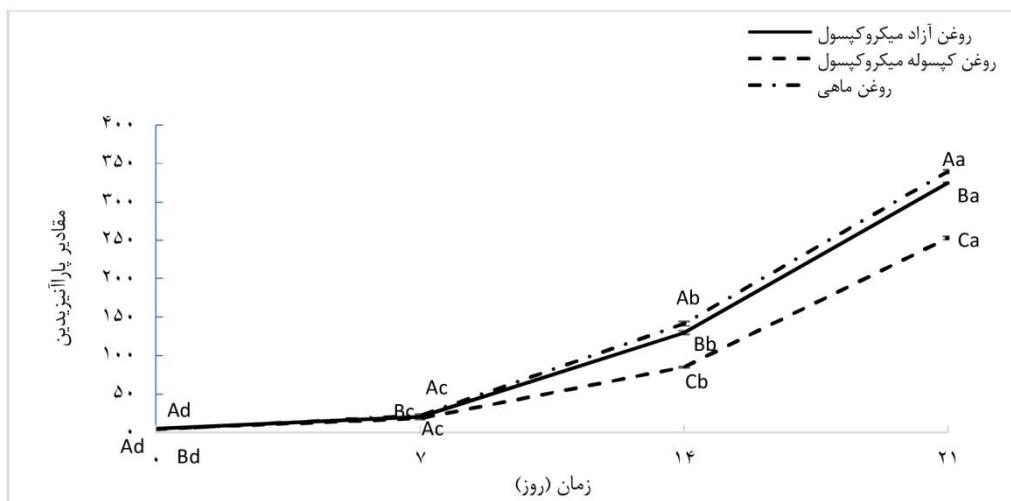
میزان پارآنیزیدین: محصولات اولیه اکسیداسیونی مانند پراکسید شدیداً واکنش‌پذیرند و مستعدند تا به رادیکال‌های آزاد شکسته شوند و به محصولات ثانویه اکسیداسیونی مانند آلدهیدها و کتون‌ها تجزیه خواهند شد (۴۰).

از شاخص آنیزیدین برای اندازه‌گیری محصولات ثانویه اکسیداسیون (آلدهیدها، کتون‌ها و سایر مواد) استفاده می‌گردد (۴۲). معرف آنیزیدین با محصولات حاصل از اکسیداسیون مانند آلدهیدها (به‌طور اساسی ۲- آلکان‌ها و ۲ و ۴- دی انال‌ها) واکنش می‌دهد و ترکیب زرد رنگی را تولید می‌کند. از این‌رو مقدار این شاخص، نشان‌دهنده افزایش مقدار اکسیداسیون می‌باشد. مقدار اکسیداسیون چربی حاصل عملکرد چند فاکتور مانند فعالیت آبی، وجود اکسیژن و وجود آنتی‌اکسیدان می‌باشد (۴۲).



شکل ۶- نمودار میزان پارآئیزیدین تیمارهای نگهداری شده در رطوبت صفر درصد.

حروف بزرگ نشان‌دهنده اختلاف بین تیمارها در یک زمان و حروف کوچک نشان‌دهنده اختلاف بین زمان‌های مختلف در یک تیمار می‌باشد.

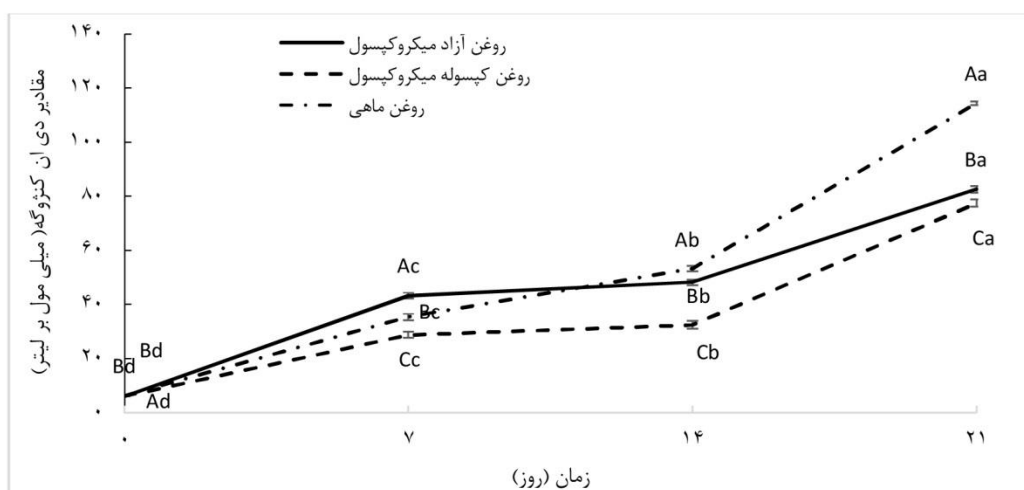


شکل ۷- نمودار میزان پارآئیزیدین تیمارهای نگهداری شده در رطوبت ۳۲ درصد.

حروف بزرگ نشان‌دهنده اختلاف بین تیمارها در یک زمان و حروف کوچک نشان‌دهنده اختلاف بین زمان‌های مختلف در یک تیمار می‌باشد.

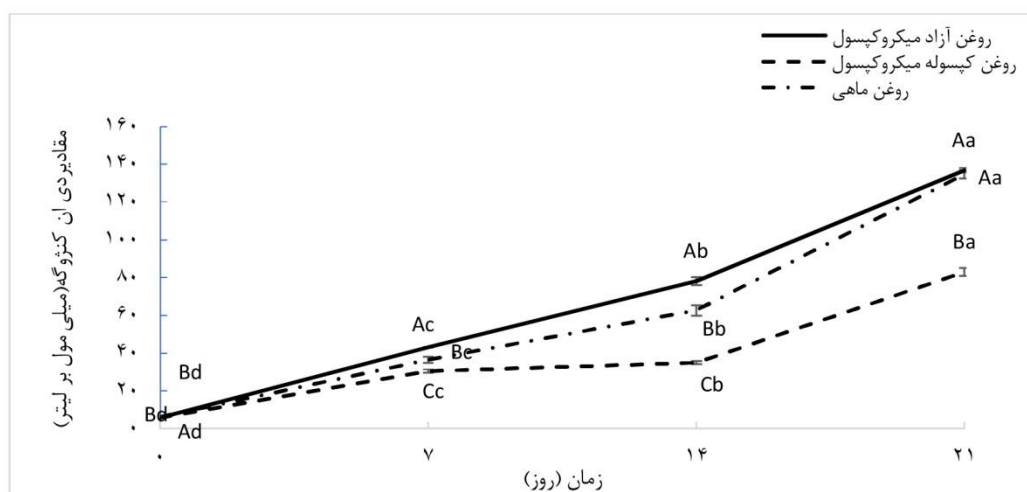
۳۲ درصد طی زمان افزایش یافته و تیمارهای روغن ماهی و روغن کپسوله به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین افزایش را در شرایط رطوبت صفر درصد نشان داد، در صورتی‌که در تیمارهای نگهداری شده در رطوبت ۳۲ درصد مشاهده می‌گردد که بین تیمارهای روغن ماهی و روغن آزاد تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ($P < 0/05$).

میزان دی ان کنژوگه: تغییرات میزان دی ان کنژوگه در تیمارهای نگهداری شده در رطوبت‌های صفر و ۳۲ درصد در شکل‌های ۸ و ۹ نشان داده شده است. دی ان کنژوگه شاخص مناسبی برای نشان دادن میزان اکسایش لیپیدی است و میزان آن با جذب اکسیژن و تشکیل پراکسیدهای لیپیدی افزایش می‌یابد (۴۳). نتایج این پژوهش نشان داد که میزان دی ان کنژوگه در تیمارهای نگهداری شده در رطوبت‌های صفر و



شکل ۸- نمودار میزان دی ان کنژوگه تیمارهای نگهداری شده در رطوبت صفر درصد.

حروف بزرگ نشان‌دهنده اختلاف بین تیمارها در یک زمان و حروف کوچک نشان‌دهنده اختلاف بین زمان‌های مختلف در یک تیمار می‌باشد.



شکل ۹- نمودار میزان دی ان کنژوگه تیمارهای نگهداری شده در رطوبت ۳۲ درصد.

حروف بزرگ نشان‌دهنده اختلاف بین تیمارها در یک زمان و حروف کوچک نشان‌دهنده اختلاف بین زمان‌های مختلف در یک تیمار می‌باشد.

ثبات اکسیداتیو مشخص گردید که روغن کپسوله نسبت به روغن ماهی غیرکپسوله در طی زمان نگهداری دارای ثبات اکسیداتیو بالاتری بودند. به‌علاوه، ارزیابی ثبات اکسایشی در پودر ریزپوشینه بهینه با بالاترین راندمان درون‌پوشانی و روغن ماهی نگهداری شده در رطوبت‌های صفر و ۳۲ درصد طی ۲۱ روز نشان داد که روغن کپسوله پودر در رطوبت صفر ثبات اکسیداتیو بالاتری را طی دوره نگهداری

نتیجه‌گیری کلی

هدف از این پژوهش تهیه ریزپوشینه‌های حاوی روغن ماهی با پوشش‌های مختلف و ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و پایداری اکسایشی آن در شرایط مختلف رطوبتی طی نگهداری بود. یافته‌های حاصل از این بررسی نشان داد که خصوصیات فیزیکوشیمیایی کپسول‌ها با تغییر نوع و نسبت ترکیبات دیواره نتایج متفاوتی داشتند. با بررسی

پایداری اکسیداتیو روغن ماهی، امکان کاربرد گسترده آن در صنایع غذایی و دارویی را فراهم می‌آورد.

داشت. بنابراین با توجه به نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر می‌توان دریافت تکنیک ریزپوشانی با بهبود

منابع

- Venugopalan, V., Ramadevi Gopakumar, L., Kizhakkeppurath Kumaran, A., Sekhar Chatterjee, N., Soman, V., Peeralil, S.H., Mathew, S., McClements, D., & Chandragiri Nagarajarao, R. (2021). Encapsulation and Protection of Omega-3-Rich Fish Oils Using Food-Grade Delivery Systems. *Foods*, 10, 1566.
- Jafari, S. M., Assadpoor, E., Bhandari, B., & He, Y. (2008). Nano-particle encapsulation of fish oil by spray drying. *Food Res. Int.* 41, 172-183.
- Perez-Palacios, P., Ruiz-Carrascal, J., Solomando, J., de-la-Haba, F., Pajuelo, A., & Antequera, T. (2022). Recent Developments in the Microencapsulation of Fish Oil and Natural Extracts: Procedure, Quality Evaluation and Food Enrichment. *Foods*, 11, 3291.
- Jafari, S. M. (2019). Biopolymer Nanostructures for Food Encapsulation Purposes: Volume 1 in the Nanoencapsulation in the Food Industry series (Vol. 1): Academic Press.
- Mahdavi, S. A., Sadeghi, R., Faridi, A., Hedayati, S., Shaddel, R., Dima, C., & Jafari, S. M. (2022). Nanodelivery systems for d-limonene; techniques and applications. *Food Chem.* 132479.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., & Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release – A review. *Int. J. Food Sci. Technol.* 41 (1), 1-21.
- Hasani, Sh., Ojagh, M., Hasani, M., & Ghorbani, M. (2019). Sensory and Technological Properties of Developed Functional Bread Enriched by Microencapsulated Fish Oil. *Prog. Nutr.* 21 (1), 406-415.
- Goula, A. M., & Adamopoulos, K. G. (2012). A new technique for spray-dried encapsulation of lycopene. *Dry. Technol.* 30: 6. 641-652.
- Rocha, G. A., Favaro-Trindade, C. S., & Grosso, C. R. F. 2012. Microencapsulation of lycopene by spray drying: Characterization, stability and application of microcapsules. *Food Bioprod. Process.* 90 (1), 37-42.
- Hamed, S. F., Soliman, T. N., Hassan, L. K., & Abo-Elwafa, G. (2019). Preparation of functional yogurt fortified with fish oil-in-water nanoemulsion. *Egypt. J. Chem.* 62, 301-314.
- Chen, H., & Zhong, Q. (2014). Processes improving the dispersibility of spray-dried zein nanoparticles using sodium caseinate. *Food Hydrocoll.* 35, 358-366.
- Long, Z., Zhao, Q., Liu, T., Kuang, W., Xu, J., & Zhao, M. (2012). Role and properties of guar gum in sodium caseinate solution and sodium caseinate stabilized emulsion. *Food Res. Int.* 49, 545-552.
- García-Moreno, P. J., Pelayo, A., Yu, S., Busolo, M., Lagaron, J. M., Chronakis, I. S., & Jacobsen, C. (2018). Physicochemical Characterization and Oxidative Stability of Fish-oil-loaded Electrosprayed Capsules: Combined Use of Whey Protein and Carbohydrates as Wall Materials. *J. Food Eng.* 231, 42-53.
- Charles, A. L., Abdillah, A. A., Saraswati, Y. R., Sridhar, K., Balderamos, C., Masithah, E. D., & Alamsjah, M. A. (2021). Characterization of freeze-dried microencapsulation Tuna Fish Oil with arrowroot starch and maltodextrin. *Food Hydrocoll.* 112, 106281.
- Damerau, A., Ogródowska, D., Banaszczyk, P., Dajnowiec, F., Tańska, M., & Linderborg, K. M. (2022). Baltic Herring (*Clupea harengus membras*) oil encapsulation by spray drying using a rice and whey protein blend as a coating material. *J. Food Eng.* 314, 110769.
- Jamshidi, A., Antequera, T., Solomando, J. C., & Perez-Palacios, T. (2020). Microencapsulation of oil and protein

- hydrolysate from fish within a high-pressure homogenized double emulsion. *J. Food Sci. Technol.* 57, 60-69.
17. Özyurt, G., Durmu, M., Uçar, Y., & Özogul, Y. (2020). The potential use of recovered fish protein as wall material for microencapsulated Anchovy oil. *LWT.* 129, 109554.
 18. Ogradowska, D., Laaksonen, O., Tanska, M., Konopka, I., & Linderborg, K. M. (2020). Pumpkin oil addition and encapsulation process as methods to improve oxidative stability of fish oil. *LWT.* 124, 109142.
 19. Yilmaz, M. T., Yildiz, O., Yurt, B., Toker, O. S., Karaman, S., & Basturk, A. (2015). A mixture design study to determine interaction effects of wheat, buckwheat, and rice flours in an aqueous model system. *LWT - Food Sci. and Technol.* 61, 583-589.
 20. Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method for total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 911-917.
 21. Gallardo, G., Guida, L., Martínez, 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.
 22. 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, 443-451.
 23. Ojagh, S. M., & Hasani, S. (2018). Characteristics and oxidative stability of fish oil nanoliposomes and its application in functional bread. *J. Food Meas. Charact.* 12 (2), 1084-1092.
 24. Velasco, J., Dobarganes, C., Holgado, F., & Marquez-Ruiz, G. (2009). A follow-up oxidation study in dried microencapsulated oils under the accelerated conditions of the Rancimat test. *Food Res. Int.* 42, 56-62.
 25. Wang, H., Qian, H., & Yao, W. (2012). Melanoidins produced by the Maillard reaction: structure and biological activity. *Food Chem.* 128 (3), 573-584.
 26. International Association of fish Meal Manufacturers (IFFM). (1981). Recommended Method Analysis for Determination of Anisidine Value of Fish Oil, Fish Oil Bulletin, NO.8.
 27. Saguy, I. S., Shani, A., Weinberg, P., & Garti, N. (1996). Utilization of Jojoba oil for deep fat frying of foods, *LWT-Food Sci. Technol.* 29 (5-6), 573-577.
 28. Azizanbari, C., Ghanbarzadeh, B., Hamishekar, H., & Hosseini, M. (2013). Gellan-caseinate nanocomplexes as a Carrier of omega-3 fatty acids: Study of particle size, rheological properties and encapsulation efficiency. *J. Food Process. Preserv.* 5 (2), 19-42.
 29. Choi, M. J., Ruktanonchai, U., Min, S. G., Chun, J. Y., & Soottitantawat, A. (2010). Physical characteristics of fish oil encapsulated by β - cyclodextrin using an aggregation method or polycaprolactone using an emulsion-diffusion method. *Food Chem.* 119, 1694-1703.
 30. Bahrani, S., Ghanbarzadeh, B., Hamishekar, H., & Sowti Khiyabani, M. (2013). Nanoencapsulation of omega-3 fatty acids using caseinate-pectin based complexes: FTIR, DSC, particle size, and encapsulation efficiency. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology.* 8 (3), 1-15.
 31. Legako, J., & Dunford, N. T. (2010). Effect of spray nozzle design on fish oil-whey protein microcapsule properties. *Food Sci.* 75 (6), 394-400.
 32. Hundre, S. Y., Karthik, P., & Anandharamakrishnan, C. (2015). Effect of whey protein isolate and beta cyclodextrin wall systems on stability of microencapsulated vanillin by spray-freeze drying Method. *Food Chem.* 174, 16-24.
 33. Ghorbanzade, T., Jafari, S. M., Akhavan, S., & Hadavi, R. (2017). Nano-encapsulation of fish oil in nanoliposomes and its application in fortification of yogurt. *Food Chemistry,* 216, 146-152.
 34. Ho, S., Thoo, Y. Y., Young, D. J., & Siow, L. F. (2017). Inclusion complexation

- of catechin by β -cyclodextrins: Characterization and storage stability. *LWT - Food Sci. and Technol.* 86, 555-565.
35. da Rocha Neto, A. C., da Rocha, A. B.d. O., Maraschin, M., Di Piero, R. M., & Almenar, E. (2018). Factors affecting the entrapment efficiency of β -cyclodextrins and their effects on the formation of inclusion complexes containing essential oils. *Food Hydrocoll.* 77, 509-523.
36. Rakmai, J., Cheirsilp, B., Cid, A., Torrado-Agrasar, A., Mejuto, J. C., & Simal-Gandara, J. (2018). Encapsulation of essential oils by cyclodextrins: characterization and evaluation. *Cyclo: A Ver. Ing.* 263.
37. Bejrapha, P., Min, S. G., Surassmo, S., & Choi, M. J. (2010). Physicothermal properties of freeze-dried fish oil nanocapsules frozen under different conditions. *Dry. Technol.* 28 (4), 481-489.
38. Drusch, S., Serfert, Y., Berger, A., Shaikh, M. Q., Ratzke, K., Zaporotchenko, V., & Schwarz, K. (2012). New insights into the microencapsulation properties of sodium Caseinate and hydrolyzed casein. *Food Hydrocoll.* 27, 332-338.
39. Chen, Q., McGillivray, D., Wen, J., Zhong, F., & Young Quek, S. (2013). Co-encapsulation of fish oil with phytosterol esters and limonene by milk proteins. *J. Food Eng.* 117, 505-512.
40. Rahmani-Manglano, N., Guadix, E., Jacobsen, CH., & García-Moreno, P. (2023). Comparative Study on the Oxidative Stability of Encapsulated Fish Oil by Monoaxial or Coaxial Electrospraying and Spray-Drying. *Antioxidants.* 12, 266.
41. Kavousi, H. R., Fathi, M., & Goli, S. A. H. (2017). Stability enhancement of fish oil by its encapsulation using a novel hydrogel of cress seed mucilage/chitosan. *Int. J. Food Prop.* 20 (2), 1890-1900.
42. 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.
43. Ghorbanzade, T., Akhavan-Mahdavi, S., Kharazmi, M., Ibrahim, S., & Jafari, S. M. (2022). Loading of fish oil into β -cyclodextrin nanocomplexes for the production of a functional yogurt. *Food Chem.* 15, 100406.