نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان
جلد دوم، شماره چهارم، ۱۳۹۳
http://ejrr.gau.ac.ir

تولید و ارزیابی مکمل‌های ریزپوشانی شده روغن ماهی در شرایط برون‌تنی (آزمایشگاهی): ارزش تغذیه‌ای و مقاومت در برابر زیست هیدروژن‌دار شدن شکمبه‌ای در مقایسه با مکمل‌های کلسیمی

*حامد خلیل‌وندی بهروزیار[۱]، مهدی دهقان‌بنادکی[۲]، محمد غفارزاده[۳]، کامران رضایزدی[۲]، حمید کهرام[۴] و بهزاد اسدنژاد[۵]

[۱]استادیار و [۵]دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، [۲]دانشیار و [۴]استادیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم زراعی و دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، [۳]استادیار گروه علوم و فناوری سیلیکون، پژوهشکده توسعه فرآیندهای شیمیایی، پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۷/۰۹؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۰/۲۱

چکیده

هدف از این پژوهش، تولید و ارزیابی مکمل‌های جامد روغن ماهی با استفاده از روش تولید نمک‌های کلسیمی و ریزکپسوله نمودن با استفاده از سیستم خشک‌کن پاششی بود. دو نوع ماده پوشاننده به‌همراه سطوح مختلف روغن ماهی در ساخت ریزکپسول‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. میزان انواع مواد مغذی و الگوی اسیدهای چرب، میزان پوشانندگی مواد دیواره‌ای مختلف و ارزیابی کیفیت تغذیه‌ای ریزکپسول‌ها بر اساس سیستم پروتئین و کربوهیدرات خالص کورنل بررسی اثر ریزپوشانی بر مقاومت در برابر زیست هیدروژن‌دار شدن شکمبه‌ای و میزان آزادسازی روغن از ترکیب مکمل‌های محافظت‌شده، در مقایسه بانمک‌های کلسیمی در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. ریزکپسول‌های تهیه شده از مواد دیواره‌ای میلارد نسبت به مواد غیر میلارد دارای وضعیت مناسب‌تری از نظر کارآیی ریزپوشانی و شاخصه‌های اُکسایش بودند ($P<۰/۰۵$). کم‌ترین میزان زیست هیدروژن‌دار شدن پس از ٤٨ ساعت در بین منابع محافظت شده مربوط به ریزکپسول‌های حاصل از محصولات

*نویسنده مسئول: h.khalilvandi@urmia.ac.ir

واکنش میلارد و بیش‌ترین میزان مربوط به ریزکپسول‌های غیر میلارد بوده و نمک‌های کلسیمی حالت بینابینی از خود نشان دادند (P<۰/۰۵). میزان روغن موجود در ترکیب ریزکپسول‌ها، میزان زیست هیدروژن دار شدن و الگوی اسیدهای چرب را به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار داد (P<۰/۰۵). تفاوت معنی‌داری بین میزان آزادسازی شکمبه‌ای و پس از شکمبه‌ای ریزکپسول‌های نوع میلارد و غیر میلارد وجود داشت (P<۰/۰۵). با وجود محافظت مناسب اسیدهای چرب غیراشباع از زیست هیدروژن‌دار شدن در ارتباط با ریزکپسول‌های میلارد، عدم آزادسازی کامل روغن از ساختار ریزکپسول‌ها بیانگر لزوم انجام مطالعات بیشتر به‌خصوص مطالعات درون تنی در این ارتباط است.

واژه‌های کلیدی: خشک‌کن پاششی، آزادسازی روغن، ریزکپسول

مقدمه

اهمیت استفاده از چربی‌ها از گذشته به‌عنوان منبع انرژی در جیره‌های غذایی نشخوارکنندگان پرتولید به‌ویژه گاوهای شیری در ابتدای دوره شیردهی به‌علت توازن منفی انرژی شناخته شده است. به‌علاوه، اهمیت فیزیولوژیکی برخی از اسیدهای چرب غیراشباع، زمینه را برای استفاده هدفمند از اسیدهای چرب مختلف صرف‌نظر از تأمین انرژی پدید آورده است (رینالدز و همکاران، ۲۰۰۳؛ سانتوس و همکاران، ۲۰۰۸). در این میان توجه ویژه‌ای به روغن ماهی (ایکوزاپنتانوئیک‌اسید و دکوزاهگزانوئیک‌اسید) در جیره‌های غذایی حیوانات مزرعه‌ای پرتولید، به‌منظور بهبود کارایی تولیدمثلی و متابولیسمی (کریس- اترتون و همکاران، ۲۰۰۲؛ ماشک و همکاران، ۲۰۰۵) شده است. حساسیت فوق‌العاده بالای اسیدهای چرب غیراشباع به اُکسایش و مشکلات موجود در ارتباط با نگهداری و مصرف آن‌ها به شکل مایع، زیست هیدروژن‌دار شدن گسترده در شکمبه و اثرات نامطلوب بر عملکرد طبیعی شکمبه، مهم‌ترین موانع در استفاده مزرعه‌ای از آن‌ها است (چیلارد و همکاران، ۲۰۰۷). نمک‌های کلسیمی تنها منابع تجاری اسیدهای چرب غیراشباع بدون اثر نامطلوب بر متابولیسم شکمبه‌ای می‌باشند (لاک و همکاران، ۲۰۰۵؛ جنکینز و پالمیکوئیست، ۱۹۸٤؛ فتوحی و جنکینز، ۱۹۹۲). با افزایش درجه غیراشباع بودن اسیدهای چرب در ترکیب نمک‌های کلسیمی و اسیدی‌تر شدن شکمبه، میزان محافظت در برابر زیست‌هیدروژن‌دار شدن و بی‌اثر بودن نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب غیراشباع، کاهش می‌یابد (رلینگ و رینالدز، ۲۰۰۷؛ جنکینز و بریدجز، ۲۰۰۷).

مطالعات کمی در زمینه ریزپوشانی بر محافظت اسیدهای چرب غیراشباع در برابر زیست هیدروژن‌دار شدن شکمبه‌ای و آزادسازی آن‌ها در دستگاه گوارش وجود دارد. صفری و همکاران (۲۰۱۲) به مطالعه میزان آزادسازی روغن از ریزکپسول‌های پروتئین آب پنیر و اسیدتانیک در شرایط اسیدیته شبیه‌سازی شده شکمبه و شیردان پرداختند ولی هیچ داده‌ای در ارتباط با کارایی محافظت در برابر زیست هیدروژن‌دار شدن و یا آزادسازی در شرایط فعالیت آنزیمی در دستگاه گوارش گزارش نشده است. در مطالعه‌ای دیگر، مایرز و همکاران (۲۰۰۵) به بررسی میزان محافظت اسیدلینولئیک مزدوج پوشش‌دار شده با استفاده از پروتئین فرمآلدهیدی پرداختند، ولی هیچ‌گونه اطلاعاتی در ارتباط با نوع پروتئین مورد استفاده، روش پوشینه‌دار کردن و یا میزان فراهمی در دستگاه گوارش ارایه نشده است. هدف اصلی این تحقیق، تولید ریزکپسول‌های روغن‌ماهی با استفاده از مواد پوشاننده فرآوری شده، ارزیابی مواد مغذی موجود در ترکیب ریزکپسول‌های تولیدی و بررسی تأثیر ریزپوشانی بر محافظت شکمبه‌ای اسیدهای چرب غیراشباع و میزان فراهمی آن‌ها در محیط‌های شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش در شرایط برون تنی در مقایسه با نمک‌های کلسیمی بود.

مواد و روش کار

این پژوهش به‌صورت مشترک در گروه علوم دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه و پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران انجام شده است. حیوانات مورد استفاده بر اساس راهنمای نگهداری و استفاده از حیوانات مزرعه‌ای در تحقیقات علوم دامی (فدراسیون انجمن‌های علوم دامی آمریکا، ۲۰۱۰) نگهداری شدند. باتوجه به حساسیت متفاوت اسیدهای چرب آزاد و روغن‌ها به اکسیداسیون و زیست هیدروژن‌دار شدن، از روغن (در مقایسه با روغن موجود در ریزکپسول‌ها) و اسیدهای چرب آزاد (در مقایسه با اسیدهای چرب موجود در ساختار نمک‌های کلسیمی)، به‌عنوان شاهد استفاده شد. اسیدهای چرب آزاد با استفاده از روش گانگا و همکاران (۱۹۹۸) از روغن ماهی استحصال شد.

الف) تولید و ارزیابی مکمل‌های چربی: شرایط تهیه امولسیون‌ها و مراحل خشک کردن و نگهداری ریزکپسول‌های تولیدی بر اساس (کوساراجو و همکاران، ۲۰۰۹؛ کامپایگن و فوستیر، ۲۰۰۷) و با اندکی تغییرات در ارتباط با دمای ورودی به خشک کن‌پاششی، نوع مواد پوشاننده و نسبت روغن به مواد پوشاننده به شرح زیر انجام شد. کازئین (۸۳ درصد پرتئین‌خام، کازئینات ایران) پودر گلوکز و

مالتودکسترین (دکستروز ایران) به نسبت مساوی به‌عنوان مواد پوشاننده مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور تحریک آغاز واکنش میلارد، اسیدیته مخلوط با استفاده از هیدروکسید سدیم ۱ مولار به ۷/۵ رسانده شده و مخلوط حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۸۹ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت (کوساراجو و همکاران، ۲۰۰۹). پس از هم زدن و یکنواخت کردن مخلوط پروتئین و کربوهیدرات با استفاده از یکنواخت‌ساز[1] اولتراسونیک (سونوپلاس، آلمان)، روغن ماهی با نسبت‌های ۱:۲، ۱:۱ و ۲:۱ (مواد پوشاننده به روغن) به مخلوط اولیه افزوده و یکنواخت‌سازی تکرار شد. میزان ماده خشک امولسیون‌ها به وسیله افزودن آب دوبار تقطیر به ۳۰ درصد کل تصحیح شد. جدول ۱ نشان‌دهنده ترکیب انواع امولسیون‌های مورد استفاده برای تولید ریزکپسول‌ها است. جهت خشک کردن امولسیون‌ها از دستگاه خشک‌کن پاششی (مینی اسپری درایر، مدل ۲۷۰) با دمای هوای ورودی ۱۳۰ درجه سانتی‌گراد و دمای خروجی ۷۰-۶۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. امولسیون‌ها در طول زمان خشک شدن هم زده شدند. محصولات جمع شده در محفظه نگهداری محصول، توزین و تحت گاز آرگون بسته‌بندی‌شده و تا آزمایش‌های بعدی در دمای ۲۰- درجه نگهداری شدند. نمک‌های کلسیمی (پرشیافت ماهی®) توسط شرکت کیمیا دانش الوند در اتمسفر خنثی ایجاد شده توسط گاز آرگون تولید شدند.

جدول ۱- ترکیب امولسیون‌های مورد استفاده در تولید انواع ریزکپسول‌ها.

	آب (درصد)	پروتئین (درصد)	کربوهیدرات (درصد)	روغن (درصد)
ریزکپسول ۱	۷۰	٦/۳	۱۳/۷	۱۰
ریزکپسول ۲	۷۰	۵	۱۰	۱۵
ریزکپسول ۳	۷۰	۳/٤	٦/٦	۲۰
ریزکپسول ٤	۷۰	٦/۳	۱۳/۷	۱۰
ریزکپسول ۵	۷۰	۵	۱۰	۱۵
ریزکپسول ٦	۷۰	۳/٤	٦/٦	۲۰

جهت تعیین چربی کل مکمل‌های تولیدی از روش گوارش اسیدی و استخراج با حلال و با استفاده از روش توصیه شده توسط انجمن شیمیدانان رسمی کشاورزی[2] (روش ۹٤۵/۰۲) صورت گرفت. ماده خشک و خاکستر محصولات تولیدی به‌ترتیب با روش توصیه شده توسط انجمن

1- Hemogenizer
2- AOAC (2000)

شیمیدانان رسمی کشاورزی (روش ۹٤۲/۰۵) و میزان کلسیم با استفاده از دستگاه جذب اتمی (شیمادزو، مدل ای ای-٦٧٠)[1] تعیین شد. نیتروژن موجود در نمونه‌ها، بخش‌های مختلف دیواره سلولی (نیتروژن نامحلول در شوینده خنثی[2] و نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی[3]) و بخش‌های مختلف سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کورنل با استفاده از دستگاه کجلدال به روش توصیه شده توسط انجمن شیمیدانان رسمی کشاورزی (روش ۹۹۰٦۰۲) تعیین شد. الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی با روش ون‌سوست و همکاران (۱۹۹۱) با استفاده از آنزیم آلفا- آمیلاز مقاوم به حرارت، بدون استفاده از سدیم سولفیت و با استفاده از دستگاه خودکار فایبرتک (فوس، مدل ۱۰۱۰) تعیین شدند. میزان نشاسته با روش هضم اسیدی و استفاده از آنترون (رز و همکاران، ۱۹۹۱)، میزان قندها با روش چو و لاندهاسر (۲۰۰٤) و لیگنین کلاسون با روش کوسینس (۱۹۷٦) تعیین گردید. به‌منظور تعیین الگوی اسیدهای چرب در محصولات تولیدی از روش توصیف‌شده در بخش زیست هیدروژن‌دار شدن استفاده شد.

برای تعیین بخش‌های مختلف نیتروژن از روش استاندارد شده لیسترا و همکاران (۱۹۹٦) استفاده شد. بخش‌های مختلف کربوهیدرات بر اساس معادلات ارائه شده لانزاس و همکاران (۲۰۰۷) محاسبه شدند. به‌منظور تعیین شاخصه‌های اکسیداسیون، استخراج روغن بر اساس روش هوگان و همکاران (۲۰۰۳) با استفاده از اتمسفر خنثی گاز آرگون انجام و شاخص پراکسید بر اساس روش شانت و دکر (۱۹۹٤) و شاخص آنیسیدین و تیوباربیتوریک‌اسید به‌ترتیب بر اساس روش استاندارد انجمن شیمیدان‌های روغن آمریکا[4] اندازه‌گیری شد. کلیه تجزیه‌های شیمیایی توصیف شده در این بخش با سه تکرار انجام گرفت.

ب) تعیین میزان زیست هیدروژن‌دار شدن: مایع شکمبه از ۳ رأس گاو هلشتاین چند بار زائیده غیر شیرده مجهز به فیستولای شکمبه‌ای با میانگین وزنی ۲۰±٦۸۰ کیلوگرم تهیه شد. خوراک با نسبت علوفه به کنسانتره‌ی برابر با ٦۰:٤۰ با نرم‌افزار سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل متوازن و به‌میزان ۱۰ درصد بالاتر از سطح نگهداری از ۱۵ روز قبل از شروع آزمایش در ۲ وعده برابر در ساعات ۸ صبح و ۱٦ عصر تغذیه شد (جدول ۲). مایع شکمبه قبل از خوراک‌دهی صبح از بخش‌های

1- AA-670, Shimadzu
2- NDIN
3- ADIN
4- American oil chemist's society (AOCS)

مختلف شکمبه و با استفاده از پمپ خلأ گرفته شده و با نسبت مساوی مخلوط و در داخل دمابان‌های[1] دمابان‌های[1] با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد ریخته شد. به‌منظور جدا شدن باکتری‌های متصل به الیاف و اطمینان از حضور تمامی میکرواورگانیزم‌های شکمبه در محیط کشت، مایع شکمبه با مخلوط کن با سرعت بالا به‌مدت ۲ دقیقه مخلوط (بوئنو و همکاران، ۲۰۰۵) و سپس با استفاده از پارچه توری ٤ لایه صاف و با حجم برابر از بافر مک دوگال (مک‌دوگال، ۱۹٤۸) مخلوط شده و تحت جریان پیوسته گاز دی‌اکسید کربن قرار گرفت (فیوز و همکاران، ۲۰۰۷). انکوباسیون منابع مختلف روغن بر اساس روش ون‌نول و دمایر (۱۹۹٦) و با اندکی تغییرات صورت گرفت. به‌منظور از بین بردن تأثیر روز و زمان انکوباسیون و تأثیر زمان بر کیفیت مایع شکمبه حیوانات، انکوباسیون در سه دوره (سه روز متفاوت) با فاصله یک روزه بین اتمام یک دوره و آغاز دوره بعد انجام‌شده و در هر دوره ٦ فلاسک (با ظرفیت ۱۰۰ میلی‌لیتر) برای هر کدام از مکمل‌ها در هر زمان (۱۲، ۲٤ و ٤۸ ساعت، به‌منظور مطالعه اثر زمان و سرعت‌های مختلف عبور از شکمبه) اختصاص یافت (فیوز و همکاران، ۲۰۰۷؛ دوهم و همکاران، ۲۰۰۳). به‌علاوه در هر دوره انکوباسیون، شش فلاسک حاوی مخلوط مایع شکمبه و بافر، مکمل‌های خوراکی و فاقد مکمل چربی به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد (انجالبرت و همکاران، ۲۰۰۳). ۳۵ میلی‌گرم روغن از هر کدام از مکمل‌ها (ون‌نول و دمایر، ۱۹۹٦)، ۵۰۰ میلی‌گرم خوراک کامل (مشابه با خوراک تغذیه شده، آسیاب شده با الک ۱ میلی‌متری و ۱۰ میلی‌گرم کربنات هیدروژن آمونیوم در داخل هر فلاسک ریخته (ون‌نول و دمایر، ۱۹۹٦؛ ابوغزاله و جنکینز، ۲۰۰٤) و در نهایت ۵۰ میلی‌لیتر از مخلوط مایع شکمبه و بافر تحت جریان مداوم دی‌اکسید کربن در داخل هر کدام از فلاسک‌ها افزوده شده و درب فلاسک‌ها پلمپ شد. انکوباسیون در حمام آبی شیکردار در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد انجام شد. اسیدیته فلاسک‌ها قبل و پس از اتمام انکوباسیون با استفاده از دستگاه pH متر اندازه‌گیری شده و در نهایت یک میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۱۰ نرمال به‌منظور خاتمه فرایندهای میکروبی به هر فلاسک اضافه شد. استخراج چربی از مایع شکمبه با استفاده از متانول- کلروفرم با نسبت حجمی ۲:۱ (فولچ و همکاران، ۱۹۵۷)، سه بار تکرار شد. در هر دوره، چربی استخراج شده از دو فلاسک باهم مخلوط و در مجموع ۳ نمونه از هر دوره به ازای هر مکمل و هر ساعت انکوباسیون برای آنالیز مورد استفاده قرار گرفت. متیل استراسیدهای چرب بر اساس روش ایکیهارا و فوکوباباشی

1- Flask

(۲۰۱۰) و با استفاده از اسیدکلریدریک متانولی ساخته و از نونادکانوئیک‌اسید به‌عنوان استاندارد داخلی استفاده شد. تعیین الگوی اسیدهای چرب با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (واریان، مدل ۳۸۰۰) مجهز به شناساگر شعله یونی[1] و ستون مویین[2] با مشخصات، طول ۱۰۰ متر، قطر خارجی ۲۵۰ میکرومتر و قطر داخلی ۰/۲ میکرومتر انجام شد. اسیدهای چرب با توجه به قله اسید چرب متناظر در مخلوط استاندارد تزریق شده در شرایط مشابه با نمونه‌ها شناسایی شده و از نیتروژن به‌عنوان گاز حامل استفاده شد. دمای محل تزریق و شناساگر ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد، مقدار تزریق ۱ میکرولیتر و نسبت تقسیم[3] (ورود به ستون) برابر با ۱:۵۰ و برنامه دمایی ستون بر اساس لی و همکاران (۲۰۰۵) انتخاب شد. از مقایسه سطح زیر منحنی متیل استر اسیدهای چرب با سطح زیر منحنی استاندارد داخلی و غلظت اسیدهای چرب در مخلوط استاندارد به‌منظور محاسبه غلظت متیل استر اسیدهای چرب مختلف استفاده شد (لی و همکاران، ۲۰۰۵). از تغییرات مقدار هر کدام از اسیدهای چرب غیراشباع در هر زمان نسبت به زمان صفر جهت محاسبه میزان زیست هیدروژن‌دار شدن ظاهری استفاده و مقادیر اسیدهای چرب در هر زمان نسبت به بلانک تصحیح شد (انجالبرت و همکاران، ۲۰۰۳؛ ابوغزاله و جنکینز، ۲۰۰٤؛ فیوز و همکاران، ۲۰۰۷).

پ) ارزیابی میزان آزادسازی روغن در محیط‌های شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش: محیط‌های شبیه‌سازی شده معده، روده باریک و کولون به‌ترتیب با مقادیر اسیدیته ۱/۲، ٦/۸ و ۷/۰ به‌ترتیب با استفاده از پپسین، پانکراتین و بتاگلوکوزیداز (سیگما- آلدریچ) تهیه شدند. مقدار پانکراتین مورد استفاده ۱۰ برابر بیش‌تر از مقدار توصیه شده انتخاب شد تا با میزان ماده خشک مورد استفاده هم‌خوانی داشته باشد (کوساراجو و همکاران، ۲۰۰۹).

به‌منظور ارزیابی میزان آزادسازی روغن از روش کوساراجو و همکاران (۲۰۰۹) با اعمال تغییرات به شرح زیر، در چهار حالت مختلف در سه روز مجزا استفاده شد. در حالت اول مواد محافظت‌شده به صورت جداگانه و در حالت دوم به‌طور متوالی تحت تأثیر محیط‌های مختلف (بدون قرارگیری در معرض مایع شکمبه) قرار گرفتند. در حالت سوم و چهارم میزان آزادسازی نهایی پس از قرارگیری متوالی در معرض مایع شکمبه و تمامی محیط‌های شبیه‌سازی شده محاسبه شد. با این تفاوت که در

1- Flame ionization detector (FID)
2- Capillary
3- Split ratio

روش چهارم یک مرحله خیساندن با بزاق مصنوعی قبل از انکوباسیون با مایع شکمبه گنجانده شده بود. مکمل‌ها به‌مدت ٢٤ ساعت در معرض مایع شکمبه (فیوز و همکاران، ۲۰۰۷) و به‌ترتیب به‌مدت ۲، ۳ و ۵ ساعت در معرض محیط‌های شبیه‌سازی شده معده، روده و کولون قرار گرفتند. در حالت چهارم، مکمل‌ها قبل از قرار گرفتن در معرض مایع شکمبه به‌مدت ۳۰ دقیقه در معرض بافر مکدوگال قرار گرفتند. تمامی انکوباسیون‌ها در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد و حمام آبی شیکردار با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه و در شرایط بی‌هوازی انجام شد. به‌منظور تصحیح روغن با منشأ غیر از مکمل‌های مورد مطالعه سه بطری به‌عنوان بلانک در نظر گرفته شد. در حالت اول میزان روغن آزادشده با حلال پترولیوم اتر از محیط موردنظر جدا شد. در سایر حالات میزان اسیدیته محیط نسبت به‌میزان اسیدیته محیط بعدی تصحیح‌شده و محیط بعدی مورد استفاده قرار گرفت (کوساراجو و همکاران، ۲۰۰۹).

چ) تجزیه آماری داده‌ها: از طرح کاملاً تصادفی در تجزیه و تحلیل آماری داده‌های مربوط به ترکیب شیمیایی، الگوی اسیدهای چرب و بخش‌های مختلف کربوهیدرات و پروتئین خالص کورنل استفاده شد. طرح آماری مورد استفاده در تعیین میزان زیست هیدروژن‌دار شدن طرح کاملاً تصادفی بود. اثر روزهای مختلف انجام آزمون زیست هیدروژن‌دار شدن به‌عنوان یکی از عوامل وارد مدل آماری شد و اثر زمان انکوباسیون به‌عنوان عامل تکرارشونده در مدل قرار گرفت. به‌علاوه اثر متقابل زمان انکوباسیون و نوع مکمل در مدل آماری قرار گرفت. آنالیز آماری با استفاده از رویه میکس شده نرم‌افزار آماری SAS نسخه ویرایش شده ۹/۱ صورت پذیرفت. داده‌ها به‌صورت میانگین حداقل مربعات و خطای استاندارد میانگین‌ها در جداول مربوطه گزارش‌شده و تصحیح داده‌ها با استفاده از آزمون توکی و مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال آماری ۰/۰۵ انجام شد. طرح آماری مورد استفاده در آنالیز آماری داده‌های مربوط به الگوی اسیدهای چرب، کارآیی ریزپوشانی و میزان آزادسازی روغن طرح کامل تصادفی بود که در نهایت با توجه به عدم معنی‌داری اثر روزهای مختلف انجام آزمون آزادسازی روغن و تعیین میزان زیست هیدروژن‌دار شدن، این اثر از مدل‌های آماری مربوطه حذف شده و میانگین داده‌های سه روز برای آنالیز آماری مورد استفاده قرار گرفت. آنالیزهای آماری مربوط به‌این بخش با استفاده از رویه مدل خطی تعمیم یافته[1] و مقایسات میانگین با استفاده از آزمون دانکن انجام شد. برای محاسبه ضرایب همبستگی از رویه همبستگی در نرم‌افزار آماری مربوطه استفاده شد.

1- GLM

در تمامی مراحل تجزیه و تحلیل آماری از سطح احتمال آماری ۰/۰۵ الی ۰/۱ به‌عنوان شاخص تعیین‌کننده وجود تمایل به معنی‌داری استفاده شد.

نتایج و بحث

الف) **ترکیب شیمیایی، الگوی اسیدهای چرب، کارآیی تولید و ریزپوشانی**: ترکیب شیمیایی و میزان انرژی موجود در ترکیب نمک‌های کلسیمی در جدول ۳ آورده شده است. مقادیر ارائه شده قابل مقایسه با مقادیر ارائه‌شده برای نمک‌های کلسیمی در مطالعات پیشین و جداول مواد خوراکی در نرم‌افزارهای ارزیابی مواد خوراکی است (انجمن ملی تحقیقات، ۲۰۰۱). به‌علاوه تفاوتی بین محصولات تولید شده با دو روش مختلف (استفاده از روغن و یا اسیدهای چرب آزاد به‌عنوان مواد اولیه) وجود ندارد. میانگین ترکیب شیمیایی ریزکپسول‌های تولیدی در این آزمایش با استفاده از مواد پوشاننده مختلف در جدول ٤ آورده شده و جدول ۵ نشان‌دهنده میانگین خصوصیات و کارآیی تولیدی ریزکپسول‌ها در سیستم‌های مختلف تولید و شاخصه‌های اُکسایش روغن فرآوری نشده و محصولات تولیدی است. میزان تولید ریزکپسول‌ها و نیز کارآیی ریزپوشانی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر نسبت روغن به مواد پوشاننده قرار گرفت. بالاترین میزان تولید ریزکپسول و کارآیی ریزپوشانی مربوط به سیستم‌های دیواره‌ای میلارد بود. کاهش میزان تولید ریزکپسول با افزایش غلظت روغن در امولسیون را می‌توان با اثر چسبانندگی روغن ریزکپسوله نشده به سطح داخلی دستگاه در اثر ناکافی بودن مواد پوشاننده توجیه کرد (تان و همکاران، ۲۰۰۵). به‌علاوه این امر سبب کاهش کارآیی ریزپوشانی و افزایش اُکسایش روغن در اثر افزایش روغن سطحی در ریزکپسول‌ها نیز می‌شود. آگوستین و همکاران (۲۰۰٦) و کوساراجو و همکاران (۲۰۰۹) از محصولات واکنش میلارد برای ریزپوشانی روغن ماهی استفاده کردند. نتایج کوساراجو و همکاران (۲۰۰۹) نشان‌دهنده کارآیی یکسان مواد پوشاننده میلارد و غیر میلارد در ریزپوشانی روغن ماهی در مقادیر ۲۵ و ۵۰ درصد روغن بود که با نتایج حاصل از این مطالعه هم هم‌خوانی دارد. در این مطالعه با وجود کاهش کارآیی ریزپوشانی در اثر استفاده از سطوح بالاتر روغن در هر دو نوع مواد پوشاننده، میزان کارآیی مواد میلارد به‌صورت معنی‌داری بیش‌تر از مواد غیر میلارد بود. این امر را می‌توان با استفاده از خصوصیات امولسیفایری مواد میلارد توجیه کرد که سبب توزیع یکنواخت تر روغن در امولسیون شده و علاوه‌بر ایجاد امولسیون پایدارتر (داده‌ها آورده نشده‌اند)، سبب افزایش کارآیی ریزپوشانی شده است (دیکنسون،

۲۰۰۹؛ الیور و همکاران، ۲۰۰٦). با توجه به اندازه ذرات بسیار کم ریزکپسول‌ها (داده‌های گزارش نشده) و به‌دلیل گرفتگی بسیار سریع منافذ کیسه‌های نایلونی، عملاً امکان به‌دست آوردن نتایج قابل‌اطمینان از آزمایش‌های برون‌تنی وجود نداشت و به‌همین دلیل نتایج این بخش در مقاله ارایه نشده است.

جدول ۳- میانگین ماده خشک (گرم بر کیلوگرم) و ترکیب شیمیایی نمک‌های کلسیمی (گرم بر کیلوگرم ماده خشک).

ماده اولیه	ماده خشک	چربی	کلسیم	خاکستر	انرژی خالص شیردهی (مگاکالری بر کیلوگرم ماده خشک)
روغن†	۹۷۲/۲۰	۸۷۳/۵٦	۱۱۳/۵۳	۱۲٦/٤٤	۵/۸٤
اسیدچرب	۹۷۳/۸۸	۸۷۲/٦	۱۱٤/۱۱	۱۲۷/۳۳	۵/۸۲
خطای استاندارد	۱۱/۱٤۲	۱۵/٤۹۰	۱٤/۲۷۲	۱۵/٤۹۰	۰/۲۷

† انرژی خالص شیردهی بر اساس معادلات نشریه احتیاجات مواد مغذی گاوهای شیری NRC (۲۰۰۱) و داده‌های مؤلفین در ارتباط با قابلیت هضم مکمل‌های چربی محاسبه شده است.

جداول ٦ و ۷ به‌ترتیب نشان‌دهنده توزیع بخش‌های تشکیل‌دهنده پروتئین و کربوهیدرات ریزکپسول‌ها بر اساس سیستم کرنل است. قندها (گلوکز) و نشاسته بخش قابل توجه کربوهیدرات‌های دیواره‌ای ریزکپسول‌های غیرمیلارد را به خود اختصاص دادند. در این میان سهم بالاتر قندها را می‌توان به واسطه استفاده از مالتودکسترین با عدد معادل دکستروز[1] بالا (۱۸) دانست که در واقع در تقسیم‌بندی کربوهیدرات‌ها در دسته الیگوساکاریدها قرار می‌گیرد. به‌علاوه روش مورد استفاده در اندازه‌گیری نشاسته که در اولین مرحله از اتانول داغ ۸۰ درصد برای استخراج قندها استفاده می‌کند، در ورود بخش‌اعظم مالتودکسترین به بخش ترکیبات قندی تأثیر به‌سزایی دارد. بخشی از افزایش سهم نشاسته با افزایش میزان روغن موجود در ترکیب ریزکپسول‌های میلارد و غیرمیلارد را می‌توان به‌دلیل اثرات مقادیر بالای موادآلی محلول در حلال‌های غیرقطبی (اتانول) در توانایی حلال برای استخراج کامل مواد قندی دانست.

1- Dextrose equivalent (DE)

جدول ٤- میانگین ترکیب شیمیایی ریزکپسول‌های تولیدی در این آزمایش با استفاده از مواد پوشاننده مختلف.

	ماده خشک	چربی خام	پروتئین خام	نیتروژن غیرپروتئینی	پروتئین محلول	نیتروژن نامحلول در شوینده خنثی	نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی	کربوهیدرات کل	کربوهیدرات غیرالیافی	نشاسته	قند	الیاف محلول	الیاف نامحلول	خاکستر
† ریزکپسول ۱	۹۷/٦۱	۳۲/٤۷^{c}	۲۲/۸۸^{a}	٦/۷٥^{ab}	۲٦/٦٥^{d}	۱۳/٦۲^{b}	۱۰/٥٦^{c}	٤٤/۱٦^{a}	۸٤/٥۳^{c}	۲۸/٦۲^{a}	٥۳/۱۷^{b}	۲/۷٤^{b}	۱٥/٤۷^{cd}	۰/٤۹
ریزکپسول ۲	۹۷/۷٤	٥۱/٥۳^{b}	۱٦/٤۲^{b}	٤/٦۷^{bc}	۲۹/۸٥^{c}	۱۱/۳۷^{c}	۱۲/٥٤^{b}	۳۱/٦۹^{b}	۸٥/۲۳^{c}	۳۰/۰۱^{a}	٥۲/۱۱^{b}	۳/۱۱^{ab}	۱٤/۷۷^{d}	۰/۳٦
ریزکپسول ۳	۹۷/۲٤	٦٦/٤٥^{a}	۱۱/۳۷^{c}	٥/٤۸^{b}	۲۷/۱۲^{d}	۱۱/۱۳^{c}	۱۳/۳۷^{ab}	۲۱/۹٤^{c}	۸۳/۲۲^{c}	۲۳/۹۲^{c}	٥٥/٦۲^{b}	۳/٦۸^{a}	۱٦/۷۸^{c}	۰/۲٤
ریزکپسول ٤	۹۷/٦۲	۳۲/۱٥^{c}	۲۲/۹۹^{a}	۷/٥۹^{a}	۳۷/۲۱^{ab}	۲/۹۱^{e}	۱/۰۲^{e}	٤٤/۳۷^{a}	۹٥/٥۱^{a}	۲٦/٦٥^{b}	٦٥/٦۳^{a}	۳/٥^{a}	٤/٤۹^{f}	۰/٤۹
ریزکپسول ٥	۹۷/٥۲	٥۲/۰۱^{b}	۱٦/۲٦^{b}	۸/۲۲^{a}	۳٥/٥۸^{b}	۲/۷۹^{e}	۱/۲٥^{e}	۳۱/۳۸^{b}	۹٥/۳۹^{a}	۲۸/۱۲^{a}	٦٥/٥۹^{a}	۱/٦۸^{c}	٤/٦۱^{f}	۰/۳٥
ریزکپسول ٦	۹۷/۳۸	٦۸/٦٤^{a}	۱۰/٦۳^{c}	۷/۱۱^{a}	۳۹/۱۱^{a}	۳/۰٦^{e}	۱/۱۱^{e}	۲۰/٥۱^{c}	۹٥/۰۷^{a}	۲۷/۹٦^{ab}	٦۳/۹٤^{a}	۳/۱۷^{ab}	٤/۹۳^{f}	۰/۲۲
خطای استاندارد	۰/٥۷٤	۱/۰۱۲	۰/۹٥۳	۰/۸٥۲	۱/۲٤٤	۰/٤٥۱	۱/۰٥۳	۱/۲٤۱	۱/۱۲۲	۲/۱۱٤	۱/٤٥۲	۰/٤۲٤	۰/۷٥٤	۰/۱۲٤

علامت بالانویس متفاوت در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار آماری بین انواع مکمل‌های محافظت شده است (P≤۰/۰٥).

جدول ٥- میانگین خصوصیات و کارآیی تولیدی ریزکپسول‌ها در سیستم‌های مختلف تولید و شاخصه‌های اکسایش روغن فرآوری نشده و محصولات تولیدی.

	روغن	روغن حرارت دیده	اسید چرب	اسید چرب حرارت دیده	نمک کلسیمی	ریزکپسول ۱	ریزکپسول ۲	ریزکپسول ۳	ریزکپسول ٤	ریزکپسول ٥	ریزکپسول ٦	خطای استاندارد
کل روغن						۳۲/٤۷^{d}	٥۱/٥۳^{c}	٦٦/٤٥^{b}	۳۲/۱٥^{d}	٥۲/۰۱^{c}	٦۸/٦٤^{b}	۱/۰۱۲
تولید کپسول (درصد)						۹۸/۳۷^{a}	۹٤/٤٥^{b}	۷۸/۱۰^{c}	۹۳/۱۳^{b}	٦۷/٥۷^{d}	٤۸/۸۳^{e}	۱/۱۰٤
کارایی کپسوله شدن (درصد) (درصد)						۹۸/۰۱^{a}	۹۹/۰٥^{a}	٦۲/٤۸^{c}	۸۹/٤٥^{b}	٥٤/٦٦^{d}	٤۲/۲٥^{e}	۰/۳۹۱
عدد پراکسید (میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم)	۱/۷٤٤^{e}	۱۲/٥۷۰^{a}	۱/۷٦٤^{e}	۱۳/٦٥۸^{a}	۱/۷۹۸^{e}	۱/۷۸۰^{e}	۱/۷٦٦^{e}	٦/۲۳۱^{d}	۱/۸۰۸^{e}	۳/۱۰٥^{c}	۱۰/٤۸۲^{b}	۰/٤٦۱
آنیسیدین	۷/۹۷۹^{cd}	۳۲/٥۳۷^{a}	۷/۹٦۰^{cd}	۳۳/۲۸۳^{a}	۷/۹۰۰^{cd}	۷/٥۳۲^{cd}	۷/۱۳٤^{d}	۷/۹٥۷^{cd}	۸/٦۷٤^{c}	۸/۲۸۳^{b}	۱۹/٤۸٥^{b}	۰/٤۳۸
تیوباربیتوریک (میکرومول بر گرم)	۰/٥٦۳^{e}	۲۰/۸٤۰^{b}	۰/٥٦۰^{e}	۲٤/۷۸۰^{a}	۰/٥۷۰^{e}	۰/٥۹۰^{e}	۰/٥۲۲^{e}	۳/۸٦۷^{d}	۰/٥٦۷^{e}	۰/۸۹۳^{e}	۲٦/۲۹۰^{a}	۰/۹٤۱

علامت بالانویس متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار آماری بین انواع مکمل‌های محافظت شده است (P≤۰/۰٥).

مواد دیواره‌ای میلارد دارای مقادیر بیش‌تری از بخش دیواره سلولی و دیواره سلولی غیرقابل دسترس نسبت به مواد غیرمیلارد بودند. البته مقادیر این بخش‌ها در کل کربوهیدرات‌ها کم‌ترین بخش در هر دو نوع مواد پوشاننده بود. باتوجه به این‌که مواد مورد استفاده در تهیه مواد پوشاننده شامل مالتودکسترین و پودر گلوکز با خلوص بالا بودند، ایجاد محصولات واکنش میلارد در فرایند تهیه مواد دیواره‌ای میلارد و فرایند خشک کردن محصولات را می‌توان دلیل بازیابی بخشی از کربوهیدرات‌ها در این دو بخش دانست. گزارشات مختلفی در زمینه بازیابی محصولات واکنش میلارد به‌صورت لیگنین یا سایر ترکیبات دیواره‌ی سلولی وجود دارد (لیسترا و همکاران، ۱۹۹٦؛ ون‌سوست و همکاران، ۱۹۹۱). متأسفانه در حال حاضر گزارش مشابهی به‌منظور مقایسه نتایج وجود ندارد. باتوجه به این‌که حرارت نسبتا بالایی در جریان فرایند خشک کردن امولسیون به آن وارد می‌شود (۱۳۰ درجه سانتی‌گراد)، این مرحله نیز می‌تواند در شکل‌گیری محصولات میلارد مؤثر باشد. وجود ترکیبات دیواره سلولی گیاهی موجود در ساختار ریزکپسول‌های واکنش میلارد در اثر تحریک واکنش میلارد قبل و در حین خشک نمودن، می‌تواند به‌عنوان عاملی بالقوه در جهت تغییر در میزان یا محل آزادسازی روغن موجود در ترکیب ریزکپسول‌ها (با توجه به رفتار متفاوت آن‌ها در محیط‌های هضمی دستگاه گوارش) مورد استفاده قرار گیرد. جدول ٦ به بررسی بخش‌های مختلف پروتئین پوشش دیواره‌ای ریزکپسول‌ها پرداخته است. در محصولات غیرمیلارد و میلارد بخش اندکی از پروتئین در بخش نیتروژن غیرپروتئینی است که با توجه به ساختار کازئین قابل پیش‌بینی است. بخش اعظم پروتئین ترکیبات دیواره ریزکپسول‌ها در بخش پروتئین محلول در سیستم کورنل قرار گرفت که نشان‌دهنده محلول بودن کازئین در بافر بورات- فسفات و رسوب با تری‌کلرو استیک‌اسید[1] است. تفاوت معنی‌داری در بخش‌های مختلف پروتئین بین ترکیبات میلارد و غیرمیلارد وجود داشت.

لیگنین در آنالیز شیمیایی مواد تشکیل دهنده ترکیبات دیواره ریزکپسول‌ها، کلیه موارد مشاهده شده: کاهش بخش پروتئین محلول و افزایش بخش محلول و غیرمحلول در شوینده خنثی و افزایش قابل ملاحظه بخش نامحلول در شوینده اسیدی از مهم‌ترین اثرات واکنش میلارد بر کازئین موجود در ترکیب دیواره ریزکپسول‌ها بود. باتوجه به عدم وجود ترکیباتی همانند الیاف نامحلول در شوینده خنثی

1- Tri-Chloro Acetic Acid (TCA)

و اسیدی و در بخش‌های کربوهیدراتی و پروتئینی ناشی از القای واکنش میلارد در مراحل آماده‌سازی امولسیون‌ها و حرارت ناشی از فرایند خشک کردن امولسیون‌ها با خشک‌کن پاششی بوده است.

جدول ٦- میزان پروتئین (گرم بر صدگرم ماده خشک) و توزیع بخش‌های مختلف پروتئین (گرم در صد گرم پروتئین) ریزکپسول‌ها در سیستم CNCPS.

	ریزکپسول[†] ۱	ریزکپسول ۲	ریزکپسول ۳	ریزکپسول ٤	ریزکپسول ٥	ریزکپسول ٦	خطای استاندارد
CP	۲۲/۸۸^{a}	۱٦/٤۲^{b}	۱۱/۳۷^{c}	۲۲/۹۹^{a}	۱٦/۲٦^{b}	۱۰/٦۳^{c}	۰/۹٥
A	٦/۷٥^{ab}	٤/٦۷^{b}	٥/٤۸^{b}	۷/٥۹^{a}	۸/۲۲^{a}	۷/۱۱^{a}	۱/۰۱
B1	۲٦/٦٥^{c}	۲۹/۸٥^{c}	۲۷/۱۲^{c}	۳۷/۲۱^{ab}	۳٥/٥۸^{b}	۳۹/۱۱^{a}	۱/۲٤
B2	٤۲/٤۳^{b}	٤۱/٥۷^{b}	٤۲/۹۰^{b}	٥۱/۲۷^{a}	٥۲/۱٦^{a}	٤۹/٦۱^{a}	۱/٥۳
B3	۱۳/٦۲^{a}	۱۱/۳۷^{b}	۱۱/۱۳^{b}	۲/۹۱^{c}	۲/۷۹^{c}	۳/۰٦^{c}	۰/٤٥
C	۱۰/٥٦^{b}	۱۲/٥٤^{a}	۱۳/۳۷^{a}	۱/۰۲^{c}	۱/۲٥^{c}	۱/۱۱^{c}	۱/۰٥

علامت بالانویس متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار آماری بین انواع مکمل‌های محافظت شده است ($P\leq۰/۰٥$).

جدول ۷- میزان کربوهیدرات (گرم به درصد گرم ماده خشک) و توزیع بخش‌های مختلف کربوهیدرات (گرم در صد گرم کربوهیدرات) ریزکپسول‌هادر سیستم CNCPS.

	ریزکپسول ۱	ریزکپسول ۲	ریزکپسول ۳	ریزکپسول ٤	ریزکپسول ٥	ریزکپسول ٦	خطای استاندارد
CHO	٤٤/۱٦^{a}	۳۱/٦۹^{b}	۲۱/۹٤^{c}	٤٤/۳۷^{a}	۳۱/۳۸^{b}	۲۰/٥۱^{c}	۱/۲٤
C	٦/۳٥^{b}	٦/۱۳^{b}	۷/۱٤^{a}	۱/۳۸^{c}	۱/٤٥^{c}	۱/٤۷^{c}	۰/۲۳
B3	۹/۱۲^{ab}	۸/٦٤^{b}	۹/٦٤^{a}	۳/۱۱^{c}	۳/۱٦^{c}	۳/٤٦^{c}	۰/۱٦
NFC	۸٤/٥۳^{b}	۸٥/۲۳^{b}	۸۳/۲۲^{b}	۹٥/٥۱^{a}	۹٥/۳۹^{a}	۹٥/۰۷^{a}	۱/۱۲
A4	٥۳/۱۷^{b}	٥۲/۱۱^{b}	٥٥/٦۲^{b}	٦٥/۳٦^{a}	٦٥/٥۹^{a}	٦۳/۹٤^{a}	۱/٤٥
B1	۲۸/٦۲^{a}	۳۰/۰۱^{a}	۲۳/۹۲^{b}	۲٦/٦٥^{ab}	۲۸/۱۲^{a}	۲۷/۹٦^{ab}	۲/۱۱
B2	۲/۷٤^{b}	۳/۱۱^{a}	۳/٦۸^{a}	۳/٥^{a}	۱/٦۸^{c}	۱۳/۷^{a}	۰/۳٤

علامت بالانویس متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار آماری بین انواع مکمل‌های محافظت شده است ($P\leq۰/۰٥$).

جدول ۸ نشان دهنده تجزیه واریانس مربوط به الگوی اسیدهای چرب مکمل‌های مختلف تولیدی در مقایسه با روغن ماهی است. برخی از تیمارهای مربوط به فرایند ریزپوشانی سبب کاهش اسیدهای چرب غیراشباع شده‌اند. تغییر در الگوی اسیدهای چرب در تیمارهایی مشاهده شده است که در آن‌ها میزان کارآیی ریزپوشانی پایین‌تر بوده است. تغییر الگوی اسیدهای چرب را می‌توان در اثر اُکسایش روغن در حین تولید ریزکپسول‌ها دانست. عملکرد بهتر سیستم‌های پوشاننده میلارد در حفظ الگوی اسیدهای چرب را می‌توان علاوه‌بر بهبود کارآیی ریزپوشانی، به اثرات آنتی‌اکسیدانی محصولات واکنش میلارد و در نتیجه کاهش اُکسایش در حین فرایند خشک کردن نسبت داد. عدم تغییر در ترکیب اسیدهای چرب در فرایند تولید نمک‌های کلسیمی با وجود استفاده از دماهای بالاتر در مقایسه با فرایند ریزپوشانی را می‌توان در اثر به کارگیری محیط خنثی با استفاده از گاز آرگون دانست.

ب) اثر سیستم‌های مختلف محافظتی بر میزان زیست هیدروژن‌دار شدن شکمبه‌ای: الگوی اسیدهای چرب غیراشباع در روغن ماهی و اسیدهای چرب ماهی در مقایسه با منابع محافظت شده پس از قرارگیری در محیط شکمبه در ساعت‌های مختلف پس از انکوباسیون در جدول ۹ آورده شده است. جدول ۱۰ نشان‌دهنده میانگین درصد زیست هیدروژن‌دار شدن مجموع اسیدهای چرب امگا-۳ و اسیداولئیک در ساعات مختلف انکوباسیون است. افزایش زمان انکوباسیون سبب افزایش زیست هیدروژن‌دار شدن ظاهری اسیدهای چرب غیراشباع شده است. تفاوت معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) بین میزان زیست هیدروژن‌دار شدن روغن ماهی و اسیدهای چرب آزاد روغن ماهی در زمان‌های ۱۲ و ۲٤ وجود داشت که نشان‌دهنده محدود کننده بودن سرعت لیپولیز بر فرایند زیست هیدروژن‌دار شدن است. با افزایش زمان انکوباسیون از ۱۲ به ۲٤ و ٤۸ ساعت میزان زیست هیدروژن‌دار شدن اسیدهای چرب در ترکیب روغن ماهی افزایش یافت که این امر را می‌توان با افزایش لیپولیز و فراهمی اسیدهای چرب غیراستریفه با گذشت زمان توجیه کرد (دوهم و همکارن، ۲۰۰۳). دوهم و همکاران (۲۰۰۳) به پایین‌تر بودن نرخ لیپولیز دکوزاهگزانوئیک‌اسید و ایکوزاپنتانوئیک‌اسید در مقایسه با لینولئیک‌اسید اشاره کرده‌اند که می‌تواند دلیل افزایش میزان زیست هیدروژن‌دار شدن با افزایش زمان انکوباسیون از ۲٤ به ٤۸ ساعت در این مطالعه باشد که معمولا در مطالعات مربوط به اسیدهای چرب غیراشباع کوتاه زنجیرتر مشاهده نمی‌شود (گولاتی و همکاران، ۱۹۹۷).

جدول ۸- ترکیب اسیدهای چرب موجود در روغن ماهی و محصولات تولیدی (گرم بر صد گرم کل اسیدهای چرب).

روغن ماهی اسید چرب نمک کلسیمی ریزکپسول ۱†	ریزکپسول ۲	ریزکپسول ۳	ریزکپسول ٤	ریزکپسول ٥	ریزکپسول ٦	خطای استاندارد
۱۲:۰	۰/۱۳۰	۰/۱۳۱	۰/۱۲۹	۰/۱۳۰	۰/۱۲٦	۰/۱۳٥	۰/۱۳۱	۰/۱٤۷	۰/۱٥٤	۰/۰۰۳۸
۱٤:۰	۱/۱۲٦	۱/۱۳٥	۱/۱۱۷	۱/۱۲۹	۱/۰۹٤	۱/۱۷۲	۱/۱۳٦	۱/۲۷٦	۱/۲٤۱	۰/۰۳٤
۱٥:۰	۲/۱۲۲	۲/۱۳۹	۲/۱۰٦	۲/۱۲۹	۲/٥٦۲	۲/۲۰۹	۲/۱٤۱	۲/٤۰٦	۲/٥۲۹	۰/٦٤۰
۱٦:۰	۳/۱۱۹ [b]	۳/۱٤٤ [b]	۳/۰۹٤ [b]	۳/۱۲۸ [b]	۳/۱۹۰ [b]	۳/۸٤٦ [a]	۳/۱٤٦ [b]	۳/٥۳٥ [a]	۳/۷۱٦ [a]	۰/۰۹٤
۱٦:۱ cis-9	٤/۱۱٥	٤/۲۸۸	٤/۰۸۳	٤/۱۲۷	٤/۲۹۸	٤/۲۸۳	٤/۱٥۱	٤/۲٦٥	۳/۹۰۳	۰/۱۲٤
۱٦:۲	٥/۱۱۲	٥/۱٥۳	٥/۰۷۲	٥/۱۲۷	٥/۲٦٦	٥/۳۲۰	٥/۱٥۷	٥/۷۹٤	٥/۰۹۰	۰/۱٥٥
۱٦:٤ n-3	٦/۱۰۸	٦/۱٥۷	٦/۰٦۰	٦/۱۲٦	٥/۹۳٥	٦/۳٥۷	٦/۱٦۲	٦/۲۲٤	٦/۲۷۷	۰/۱۸٥
۱۷:۰	۷/۱۰٥	۷/۱٦۱	۷/۰٤۹	۷/۱۲٥	٦/۹۰۳	۷/۳۹٤	۷/۱٦۷	۷/۰٥۳	۷/٤٦٤	۰/۲۱٥
۱۸:۰	۸/۱۰۱	۸/۱٦٦	۸/۳۷۸	۸/٥۸۰	۸/۷٦۳	۹/۸۷۸	۸/٦۲۳	۸/٦۹۸	۹/۱۹٤	۰/۳٦٥
۱۸:۱ cis-9	۲٦/۱٥۷ [a]	۲٥/٦٦٦ [a]	۲٥/۹٥۲ [a]	۲٦/۲۳۳ [a]	۲٥/٤۱۳ [a]	۲۱/۷٤۲ [bc]	۲٦/۳۸۲ [a]	۲۳/۰٤۲ [b]	۲۱/۱۱۳ [c]	۰/٦٥٥
۱۸:۱ trans	۱/٤۱٥	۱/٤۲٦	۱/٤۰٤	۱/٤۱۹	۱/۳۷٥	۱/۲۷٦	۱/۳٦۸	۱/۲۳٥	۱/۳۸۷	۰/۰٦۰
۱۸:۲ n-4	۰/۳٦۹ [a]	۰/۳۷۲ [a]	۰/۳٦٦ [a]	۰/۳۷۰ [a]	۰/۳٥۸ [a]	۰/۳۳٦ [a]	۰/۳٥٦ [a]	۰/۲۷۰ [b]	۰/۲۲۸ [c]	۰/۰۱٥
۱۸:۲ n-6	۲/۰۸٥ [a]	۲/۰٥٥ [a]	۲/۰٥٥ [a]	۱/۹۸۰ [a]	۱/۹۹٤ [a]	۱/۷٤۲ [b]	۱/۹۸۳ [a]	۱/٥۳۷ [c]	۱/٤۰٤ [c]	۰/۰۹۲
۱۸:۳ n-3	۲/٥۳۱ [a]	۲/٥۷۰ [a]	۲/۷۱۸ [a]	۲/٥۳۳ [a]	۲/٤۷٤ [a]	۲/۱۱۲ [a]	۲/٤٦۲ [a]	۱/۸٥۸ [b]	۱/۷۷۳ [b]	۰/۰۹۷
۱۸:٤ n-3	۳/۱۳۹ [a]	۳/۱٦٤ [a]	۳/۱۱٤ [a]	۳/۱٤۸ [a]	۳/۰٥۰ [a]	۲/٦۰۹ [b]	۳/۰۳٥ [a]	۲/٤۹٦ [b]	۱/۹٤٥ [c]	۰/۱۳٤
۲۰:۰۰	۰/۱٦۹	۰/۱۷۱	۰/۱٦۸	۰/۱۷۰	۰/۱٦٥	۰/۱٤۱	۰/۱٤٤	۰/۱٥٥	۰/۱٤٤	۰/۰۱۷
۲۰:۱ cis	۱/۲٤٦ [a]	۱/۲٥٦ [a]	۱/۲۹٦ [a]	۱/۲٤۹ [a]	۱/۲۱۰ [a]	۱/۰۳٥ [b]	۱/۲۰٤ [a]	۱/۰۱۱ [b]	۰/۹۹۲ [b]	۰/۰٥۳
۲۰:٤ n-3	۰/۸۸۷ [a]	۰/۸۹٤ [a]	۰/۸۸۰ [a]	۰/۸۸۹ [a]	۰/۸٦۲ [a]	۰/۷۳۰ [b]	۰/۸٥۷ [a]	۰/٦٤۲ [c]	۰/٥٤۳ [d]	۰/۰۳۸
۲۰:٦ n-6	۰/۷۸۲ [a]	۰/۷۹۳ [a]	۰/۷۸۱ [a]	۰/۷۸۹ [a]	۰/۷٦٥ [a]	۰/٦٤۸ [b]	۰/۷٦۱ [a]	۰/٥٦۹ [c]	۰/٥۸۲ [c]	۰/۰۳۳
۲۰:٥ n-3	۹/۸۹۷ [a]	۱۰/۰٤۹ [a]	۹/۹۰۱ [a]	۹/٦۷٥ [a]	۸/۱۸٦ [b]	۹/٦۲٥ [a]	۷/۱۹٤ [c]	٦/۰۸۸ [d]	۷/۱۹٤ [c]	۰/۳۷۸
۲۲:۱ cis	۰/۲۳۹	۰/۲٤۱	۰/۲۳۷	۰/۲٤۰	۰/۲۳۲	۰/۲۲۷	۰/۲۳۱	۰/۲۳۳	۰/۲٤٦	۰/۰۱۰
۲۲:٥ n-3	۱/۷۳٥ [a]	۱/۷٤٦ [a]	۱/۷۲۱ [a]	۱/٦۸۳ [a]	۱/٦۸٦ [a]	۱/٤٤۹ [b]	۱/۳۷٦ [b]	۱/۰۸۱ [c]	۱/۰۸۱ [c]	۰/۰۷۲
۲۲:٦ n-3	۱۰/۲۰۱ [a]	۱۰/۱۹۲ [a]	۱۰/۲۲۰ [a]	۱۰/۰۲۷ [a]	۹/۸٥۸ [a]	۸/٤٦۱ [b]	۹/۸۰٦ [a]	۷/٤٥۰ [c]	٦/۳۱۲ [d]	۰/۳٤٦
Other	۲/۱۱۰	۱/۹۱٤	۲/۰۲۸	۱/٦۹۳	۱/۹۰۱	۱/۸۰۳	۱/۸۸٥	۱/٦۰۸	۱/۳۷٤	۰/۳۳٤
SFA	۲۱/۸۷۲	۲۲/۰٤۷	۲۲/۰٤۱	۲۲/۳۹۱	۲۲/۸۰۳	۲۳/۱۷٥	۲۲/۵۰۸	۲٤/۲٥۹	۲٤/٤٥۳	۰/٦۹٤
MUFA	۳۳/۱۷۲ [a]	۳۲/۸۷۷ [a]	۳۲/۹۷۲ [a]	۳۳/۲٦۸ [a]	۳۲/۸۲۹ [a]	۳۰/٤۳٤ [b]	۳۳/۳۳۷ [a]	۳۰/۸۲٦ [ab]	۲۸/۸۱۱ [b]	۰/۷۳۹
PUFA	٤۱/۸٤۹ [a]	٤۲/۲۸۰ [a]	٤۱/۹٤۳ [a]	٤۱/٥۷۳ [a]	٤۱/۲٥٥ [a]	۳۸/۸۸۳ [b]	٤۰/۸۷٥ [a]	۳٥/٦۷۸ [c]	۳۲/۷۳٦ [d]	۰/۸٥٤

ریزکپسول ۱ الی ۳ مربوط به سیستم میلارد و ریزکپسول ٤ الی ٦ مربوط به سیستم غیرمیلارد به‌ترتیب با نسبت روغن به مواد پوشاننده ۱:۲، ۱:۱ و ۲:۱ است.

اعداد گزارش شده میانگین حداقل مربعات و و اشتباه استاندارد میانگین‌های ۳ اندازه‌گیری مجزا برای هرکدام از فرآوری‌ها هستند. میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P<0/05$).

مقادیر بالای زیست هیدروژن‌دار شدن ظاهری اسیدهای چرب غیراشباع روغن ماهی و اسیدهای چرب آزاد محافظت نشده در این آزمایش با نتایج سایر محققین (چیلارد و همکاران، ۲۰۰۰؛ واچیرا و همکاران، ۲۰۰۰؛ اسکولان و همکاران، ۲۰۰۱) مطابقت دارد. تولید نمک‌های کلسیمی و ریزکپسول‌های روغن ماهی سبب کاهش معنی‌دار میزان زیست هیدروژن‌دار شدن شد ($P<۰/۰۵$). با این حال در ارتباط با کلیه مکمل‌های تولیدی، افزایش زمان انکوباسیون سبب افزایش معنی‌دار میزان زیست هیدروژن‌دار شدن شد ($P<۰/۰۵$). در زمان‌های مختلف انکوباسیون، اختلاف معنی‌داری بین انواع مکمل‌های ریزپوشانی شده وجود داشت. بیش‌ترین میزان محافظت مربوط به پوشش‌های میلارد بود. به‌علاوه افزایش نسبت روغن به مواد پوشاننده سبب افزایش معنی‌دار میزان زیست هیدروژن‌دار شدن شد که ریزکپسول‌های دارای مواد پوشاننده غیرمیلارد افزایش بیش‌تری در میزان زیست هیدروژن‌دار شدن داشتند. افزایش زمان انکوباسیون از ۱۲ به ۲٤ و ٤۸ ساعت سبب افزایش میزان زیست هیدروژن‌دار شدن در نمک‌های کلسیمی شد که با افزایش آزاد شدن اسیدهای چرب از ساختار نمکی با کاهش اسیدیته مایع شکمبه در اثر تخمیر مواد در محیط کشت قابل توجیه است (ون‌نول و دمایر، ۱۹۹٦؛ سوخیجا و پالمکوئیست، ۱۹۹۰). با افزایش زمان انکوباسیون، اسیدیته محیط کاهش یافت (داده های گزارش نشده) که این امر با نتایج تحقیقات سایر محققین مطابقت دارد (ون‌نول و دمایر، ۱۹۹٦).

افزایش میزان زیست هیدروژن‌دار شدن با افزایش میزان روغن در ریزکپسول‌ها را می‌توان با کاهش کارآیی ریزپوشانی توجیه کرد که با افزایش میزان روغن سطحی، سبب افزایش دسترسی آنزیم‌های میکروبی به روغن موجود در ترکیب ریزکپسول‌ها و در نهایت سبب افزایش لیپولیز و زیست هیدروژن‌دار شدن می‌شود. بخشی ازمقاومت بالاتر مکمل‌های تولید شده با مواد پوشاننده میلارد در برابر زیست هیدروژن‌دار شدن را می‌توان به بالاتر بودن نسبت روغن کپسوله شده در مقایسه با مکمل‌های غیرمیلارد نسبت داد (جدول ۵). در حالت کلی برخلاف فن‌آوری نمک‌های کلسیمی (ایجاد تغییر شیمیایی در ساختار اسید چرب به‌منظور از دسترس خارج کردن گروه کربوکسیل)، در روش ریزپوشانی هدف استفاده از حفاظت فیزیکی به واسطه‌ی ایجاد پوششی مناسب در اطراف منبع اسیدهای چرب، به‌منظور کاهش دسترسی میکروارگانیسم‌ها و یا آنزیم‌های میکروبی و گیاهی موجود در محیط شکمبه با اسید چرب هدف و در نهایت افزایش عبور اسیدهای چرب غیراشباع به روده باریک است.

جدول ۹- الگوی اسیدهای چرب غیراشباع در روغن ماهی و اسیدهای چرب ماهی در مقایسه با منابع محافظت شده پس از قرارگیری در محیط شکمبه در ساعات مختلف.

	گرم بر صد گرم	روغن	اسیدهای چرب	نمک کلسیمی	ریزکپسول ۱	ریزکپسول ۲	ریزکپسول ۳	ریزکپسول ٤	ریزکپسول ٥	ریزکپسول ٦	خطای استاندارد
ساعت ۱۲	۱۸:۱ cis-9	۱۳/٦۳٥ f	۹/۲۸۰ h	۱۹/۲۷۰ c	۲۳/۲٥۰ a	۲۱/۹٦۲ b	۱۸/۰۸۹ d	۱۸/٥۸۳ d	۱٤/٥٦٦ e	۱۰/۹٦۹ g	۰/۳۰۲۱
	۱۸:۲ n-6	۱/۰۲۷ e	۰/۷۲۹ f	۱/٥۲٦ c	۱/٦۹۱ a	۱/٥۹۷ b	۱/۳۱٦ d	۱/۲۹٦ d	۱/۰۰٥ e	۰/۷۸۷ f	۰/۰۲۳۹
	۱۸:۳ n-3	۱/۲۰۹ f	۰/۹۰۲ h	۱/۸۷۰ c	۲/۲۳۲ a	۲/۱۰۸ b	۱/۷۳٦ d	۱/۷۷۰ d	۱/۳۸٥ e	۱/۰٤۹ g	۰/۰۲٤۱
	۱۸:٤ n-3	۱/٤۹۱ f	۱/۱۱٤ h	۲/۳۱۲ c	۲/۷۹۰ a	۲/٦۳٥ b	۲/۱۷۱ d	۲/۲۳۰ cd	۱/۷٤۸ e	۱/۳۱٦ g	۰/۰۳۲۷
	۲۰:٥ n-3	٤/۷۲۹ e	۳/٥۲۹ g	۷/۳۱۰ c	۸/۷۲۳ a	۸/۲٤۰ b	٦/۷۸۷ d	٦/۹۱۷ d	۳/۹٤٦ f	۲/۹۰۰ h	۰/۰۱۸۱
	۲۲:٥ n-3	۰/۸٤۸ e	۰/٦۱٥ g	۱/۲۷۸ c	۱/٤٤۹ a	۱/۳٦۹ b	۱/۱۲۷ d	۱/۱۱۹ d	۰/٤٥۲ h	۰/۷۰۹ f	۰/۰۱۸۱
	۲۲:٦ n-3	٤/۹۳۷ e	۳/٦۰۳ g	۷/٥۱٤ c	۸/۷٦۰ a	۸/۲۷٤ b	٦/۸۱٤ d	٦/۸۹٤ d	٤/۰۷۹ f	۲/٦۷٥ h	۰/۰۹٦۳
	PUFA	۱٤/۲٤۰ c	۱۰/٤۹۲ d	۲۱/۸۱۰ b	۲٥/٦٤٥ a	۲٤/۲۲۳ a	۱۹/۹٥۱ a	۲۰/۲۲٥ b	۱۲/٦۱٥ c	۹/٤۳۸ d	۰/۳۳۸٤
ساعت ۲٤	۱۸:۱ cis-9	۱۰/۰۹۷ e	٦/۷٤۸ f	۱٥/٦۳۲ c	۲۰/٤٤۱ a	۱۸/۰۹۹ b	۱٥/۰۲٤ c	۱۳/٤٦۰ d	۹/٦٦۹ e	٤/۲٦۳ g	۰/۳۰۲۱
	۱۸:۲ n-6	۰/٤۸۳ e	۰/۲۱۸ g	۱/۲۳٦b	۱/٤۸۰a	۱/۲٦۱ b	۰/٦۸۷ d	۰/۹۷٥ c	۰/۷۲۹ d	۰/۳٤۸ f	۰/۰۲۳۹
	۱۸:۳ n-3	۰/٥۸٦ g	۰/۲۸۸ i	۱/٥۱۷ c	۱/۹٥۹ a	۱/۷۲۳ b	۰/۸٦٤ f	۱/۲۹۰ d	۰/۹۳٤ e	۰/٤۱٦ h	۰/۰۲٤۱
	۱۸:٤ n-3	۰/۷۲۷ f	۰/۳٥۷ h	۱/۸۷٦ c	۲/٤٥۳ a	۲/۱۷۲ b	۱/۰۷۲ e	۱/٦۱٥ d	۱/۱٦۰ e	۰/٥۱٤ g	۰/۰۳۲۷
	۲۰:٥ n-3	۲/۲۹۲ g	۱/۱۲٥ i	٥/۹۳۲ c	۷/٦٥۸ a	٦/۷۳٥ b	۳/۳۷۹ e	۳/۷۲۰ d	۲/٦۰۷ f	۱/٤۰٤ h	۰/۰۹٥۲
	۲۲:٥ n-3	۰/٤۰۲ e	۰/۱۹۱ g	۱/۰۳۷ b	۱/۲٦۸ a	۱/۰۸۹ b	۰/٥۸۱ d	۰/۸۳٥ c	۰/۳۹٦ e	۰/۲٦۱ f	۰/۰۱۸۱
	۲۲:٦ n-3	۱/۳٦٦ h	٦/۰۹۱ c	۷/٦۹۰ a	٦/۷۱۱ b	۳/٤٤۰ d	۳/٥۲٦ d	۲/٦۹٤ e	۱/٤٥٥ g	۰/۰۹٦۳	
	PUFA	٦/۸٦۰ f	۳/۳۱٥ g	۱۷/٦۸۹ c	۲۲/٥۰۷ a	۱۹/٦۹۱ b	۱۰/۰۲٤ d	۱۱/۹٦۱ d	۸/٥۲۰ e	٤/۳۹۹ g	۰/۳٦۸٥
ساعت ٤۸	۱۸:۱ cis-9	٥/۱۳۳ e	٤/٦٤۷ f	۹/۸۰٥ c	۱٤/٥۳۱ b	۱٥/۲۷۰ a	۱۰/٦۱٤ c	۹/۲۰۳ d	۵/۰۲۳ e	۳/۷٦۱ g	۰/۳۰۲۱
	۱۸:۲ n-6	۰/۲۳٥ g	۰/۱٥۰ h	۰/۷۱۳ b	۱/۱۱٤ a	۱/۱٦٤ a	۰/٤۸٥ d	۰/٦۹٥ c	۰/٤۰٥ e	۰/۲٦٤ e	۰/۰۲۳۹
	۱۸:۳ n-3	۰/۲۹٥ g	۰/۱۹۸ h	۰/۹٤۱ b	۱/٤۰٦ a	۱/٤۷٥ a	۰/٦۱۱ d	۰/۸۸۹ c	۰/٤۹۰ e	۰/۳۳۳	۰/۰۲٤۱
	۱۸:٤ n-3	۰/۳٦٦ f	۰/۲٤٦ g	۱/۱۷۷ b	۱/۷٤٤ a	۱/۸۳۲ a	۰/۷٥۷ c	۱/۱۰٤ b	۰/٦۰٥ d	۰/٤۱۳ e	۰/۰۳۲۷
	۲۰:٥ n-3	۱/۱٥٥ e	۰/۷۷٥ f	۳/٦۷۸ b	٥/٤۹٦ a	٥/۷٦٦ a	۳/٤۷٦ b	۳/۸۹۷ d	۱/۸۹۷ d	۱/۳۰۲ e	۰/۰۹٥۲
	۲۲:٥ n-3	۰/۱۹۸ e	۰/۱۳۲ f	۰/٦۱۱ b	۰/۹٤۳ a	۰/۹۸٥ a	۰/٤۱۰ c	۰/٥۹۱ b	۰/۳۳٦ d	۰/۲۲٤ e	۰/۰۱۸۱
	۲۲:٦ n-3	۱/۱۷٦ e	۰/۷۸۳ f	۳/٦۹٤ b	٥/٥۸۸a	٥/۸٦۰ a	۲/٤۳۱ c	۳/٥۱۷ b	۱/۹٦٤ d	۱/۳۲٤ e	۰/۰۹٦۳
	PUFA	۳/٤۲٥ e	۲/۲۸۳ f	۱۰/۸۱٥ b	۱٦/۲۸۹ a	۱۷/۰۸۲ a	۷/۰۸۲ c	۱۰/۲۷۲ b	٥/٦۹۸ d	۳/۸٥۹ e	۰/۳٦۸٤

اعداد گزارش شده میانگین حداقل مربعات و اشتباه استاندارد میانگین‌های ۳ اندازه‌گیری مجزا برای هر کدام از فرآوری‌ها هستند میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰٥).

بنابراین علت اساسی کاهش میزان زیست هیدروژن‌دار شدن اسیدهای چرب در منابع کپسوله شده در مقایسه با منابع آزاد روغن ماهی یا اسیدهای چرب روغن ماهی را می‌توان کاهش دسترسی میکروبی به روغن با کنترل میزان آزادسازی آن به محیط شکمبه دانست. پیوندهای بین کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها در اثر انجام واکنش میلارد دارای مقاومت نسبی در برابر تجزیه میکروبی هستند که از این

عامل به عنوان روشی جهت افزایش عبور پروتئین به روده باریک استفاده شده است (مک‌نیون و همکاران، ۲۰۰۲؛ نواک ووایلگالا، ۲۰۰۵). بنابراین اساسی‌ترین عامل بالاتر بودن مقاومت درمقابل زیست هیدروژن‌دار شدن در ریزکپسول‌های میلارد نسبت به ریزکپسول‌های غیرمیلارد را می‌توان کاهش توان تجزیه میکروارگانیسم‌های شکمبه در برابر پیوندهای میلارد دانست. افزایش زمان انکوباسیون تأثیر کم‌تری بر میزان محافظت ریزکپسول‌های میلارد داشت.

جدول ۱۰- میانگین درصد زیست هیدروژن‌دار شدن مجموع اسیدهای چرب امگا-۳ و ٦ †و اسیداولئیک در ساعات مختلف انکوباسیون.

	اسیدهای چرب امگا-۳ و ٦			اسید اولئیک		
	۱۲	۲٤	٤۸	۱۲	۲٤	٤۸
روغن ماهی	۵۱/۹۷۳ ^{b}	۷٦/۸٤۵ ^{bx}	۸۸/٤۱٦ ^{bx}	٤۷/۸۷۱ ^{b}	٦۱/۳۹٦ ^{by}	۸۰/۳۷۱ ^{ay}
اسیدهای چرب	٦٤/۷۹۷ ^{a}	۸۸/۸٤۳ ^{ax}	۹۲/۳۲۲ ^{ax}	٦٤/۸۰۲ ^{a}	۷٤/٤۰۷ ^{ay}	۸۲/۳۷٤ ^{ay}
نمک کلسیمی	۲۵/۷٤۹ ^{e}	۳۹/۷٦۷ ^{e}	٦۳/۰۹٤ ^{e}	۲۱/۷٤۹ ^{d}	۳۵/۷٦۵ ^{d}	۵۹/۲۲۰ ^{d}
ریزکپسول ۱	۱۲/۷۱۰ ^{h}	۲۳/٤۳۱ ^{g}	٤٤/۳٦۹ ^{f}	۱۱/۳٦۹ ^{f}	۲۲/۰۷۹ ^{f}	٤٤/٦۰۹ ^{f}
ریزکپسول ۲	۱٦/۳۳۷ ^{g}	۳۲/۲۷٤ ^{fx}	٤۰/۷٤۹ ^{f}	۱۳/۵۸۰ ^{ef}	۲۸/۷۸۲ ^{ey}	۳۹/۹۱۳ ^{g}
ریزکپسول ۳	۱۹/٦۲۸ ^{f}	۵۹/٤۱۵ ^{cx}	۷۱/۳۲۸ ^{dx}	۱٦/۸۰۲ ^{e}	۳۰/۸۹۹ ^{ey}	۵۱/۱۸٤ ^{ey}
ریزکپسول ٤	۳۰/۰۵٦ ^{d}	۵۳/٤٦٤ ^{dx}	٦٤/۲۰۰ ^{e}	۲۹/۵٦۲ ^{c}	٤۸/۹۷۹ ^{cy}	٦۵/۱۱۷ ^{c}
ریزکپسول ۵	۳۹/۸۱۳ ^{cx}	۵۸/۰۵٦ ^{cx}	۷۳/٦۳۲ ^{d}	۲۳/۵۰۸ ^{dy}	٤۹/۲۲٤ ^{cy}	۷۵/٦۲۳ ^{b}
ریزکپسول ٦	٤۱/٦۰۷ ^{cx}	۷۵/۰۱۹ ^{b}	۷۹/۰۵۳ ^{cx}	۳۱/۹۲۹ ^{cy}	۷۳/۵٤٤ ^{a}	۷٦/٦۵۹ ^{by}
خطای استاندارد	۱/۰۰۸٦	۱/۰۰۸٦	۱/۰۰۸٦	۱/۲۵۳۵	۱/۲۵۳۵	۱/۲۵۳۵

a، b، c علامت بالانویس متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار آماری بین انواع مکمل‌ها یک زمان انکوباسیون است.

x، y در هر ردیف نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار آماری در هر زمان انکوباسیون بین دو دسته اسیدچرب مورد بررسی در هر مکمل است.

† مجموع اسیدهای چرب امگا ۳ و ٦ از اسیدهای چرب ارایه شده در جدول ۹ استخراج شده و سایر اسیدهای چرب امگا ۳ و ٦ مدنظر نمی‌باشد.

آزادسازی روغن از منابع محافظت شده در محیط‌های مختلف دستگاه گوارش: اختلاف معنی‌داری بین مکمل‌های ریزکپسوله مختلف در میزان آزادسازی روغن در محیط‌های مختلف دستگاه گوارش و نیز در مقایسه با نمک‌های کلسیمی وجود داشت ($P<۰/۰۵$). جداول ۱۱ و ۱۲ نشان‌دهنده مقادیر

آزادسازی روغن از ریزکپسول‌ها و نمک‌های کلسیمی روغن ماهی در محیط‌های مختلف دستگاه گوارش است. کم‌ترین میزان آزادسازی روغن در سری اول آزمایشات در ارتباط با کلیه محیط‌های مورد بررسی مربوط به روغن ریزپوشانی شده با استفاده از مواد پوشاننده میلارد بود (P<۰/۰۵). با افزایش میزان روغن در ترکیب ریزکپسول‌ها، میزان آزادسازی روغن در محیط شکمبه‌ای و محیط‌های شبیه‌سازی شده معده و روده به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵) که این امر را می‌توان به‌دلیل افزایش روغن سطحی دانست که با نتایج مربوط به بالاتر بودن مقادیر زیست هیدروژن‌دار شدن در این محصولات هم‌خوانی دارد. مقادیر کم‌تر آزادسازی روغن از ترکیبات دیواره‌ای میلارد به‌دلیل کم‌تر بودن قابلیت تجزیه‌پذیری آن‌ها و نیز بالاتر بودن کارآیی ریزپوشانی در آن‌ها در مقایسه با ریزکپسول‌های غیرمیلارد بوده است (لیاردون و هارل، ۱۹۸۳). بالاترین میزان آزادسازی روغن در محیط شبیه‌سازی شده معده مربوط به نمک‌های کلسیمی بود که به‌دلیل pH پایین این محیط که سبب جداشدن کلسیم از گروه کربوکسیل اسیدهای چرب می‌شود، کاملاً قابل پیش‌بینی بود. در این محیط پایین‌ترین میزان آزادسازی روغن با کم‌تر از ۷ درصد مربوط به ریزکپسول‌های میلارد بوده و ریزکپسول‌های غیرمیلارد حالت بینابینی از خود نشان دادند. پایین‌تر بودن قابلیت آزادسازی روغن از منابع میلارد را می‌توان به‌دلیل کاهش حساسیت پروتئین‌ها در اثر واکنش میلارد به هضم پپسین دانست (کوساراجو و همکاران، ۲۰۰۹). پایین بودن نسبی میزان آزادسازی روغن از منابع غیرمیلارد در محیط شبیه‌سازی شده معده را می‌توان به‌دلیل عدم توانایی پپسین در هضم آنزیمی کازئین و یا به‌دلیل اثرات pH پایین بر تغییر آرایش پروتئین‌های کازئین دانست که سبب کاهش قابلیت هضم می‌شوند (میراندا و پایسیر، ۱۹۸۱). با وجود استفاده وسیع از روش‌های مختلف جهت تعیین قابلیت هضم پس‌شکمبه‌ای مواد پروتئینی حرارت داده شده در نشخوارکنندگان اطلاعات بسیار اندکی در زمینه هضم شیردانی محصولات واکنش میلارد وجود دارد. با این‌حال در معدود آزمایش‌های انجام شده، عدم توانایی هضم اسیدی و آنزیمی شیردان در جبران کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای و در نتیجه افزایش ورود پروتئین از منشأ خوراک فرآوری شده به دوازدهه گزارش شده است (حسین و همکاران، ۱۹۹۵؛ دمیانک و همکاران، ۱۹۹۵). میزان آزادسازی روغن از ریزکپسول‌ها در محیط شبیه‌سازی شده روده‌ای در مقایسه با محیط شبیه‌سازی شده معده به‌صورت معنی‌داری (P<۰/۰۵) بیش‌تر یود که احتمالا به‌دلیل تنوع بیش‌تر آنزیم‌های پروتئاز و عملکرد همزمان آنزیم‌های تجزیه کننده کربوهیدرات و پروتئین‌ها در روده است (کوساراجو و همکاران، ۲۰۰۹). بیش‌ترین میزان آزادسازی روغن در این محیط مربوط به

ریزکپسول‌های غیرمیلارد و کم‌ترین میزان مربوط به نمک‌های کلسیمی بود که با توجه به عدم تأثیر هضم آنزیمی مورد انتظار در پانکراتین بر پیوندهای نمکی بین اسیدچرب و کلسیم و بالا بودن pH، مورد انتظار بود. همان‌طور که در جدول ۱۱ قابل مشاهده است، مقادیر آزادسازی روغن از ترکیبات محافظت شده در مایع شبیه‌سازی شده کولون بسیار جزئی بوده و تفاوتی بین مواد ریزپوشانی شده با مواد دیواره‌ای میلارد و یا غیر میلارد در مقادیر مشابه روغن وجود نداشت. این امر می‌تواند به‌دلیل عدم تأثیرگذاری آنزیم بتاگلوکوزیداز بر دیواره ریزکپسول‌ها باشد که با نتایج کوساراجوو همکاران (۲۰۰۹)، مطابقت دارد. افزایش میزان آزادسازی با افزایش میزان روغن موجود در ترکیب ریزکپسول‌ها به‌دلیل افزایش روغن کپسوله نشده بوده است.

جدول ۱۱- درصد آزادسازی روغن از مکمل‌های محافظت شده در مایع شکمبه و محیط‌های شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش.

	مایع شکمبه	شیردان	روده	کولون	خطای استاندارد
نمک‌های کلسیمی	۳۱/۳٤٥ ^{ey}	۸۷/٤۲٦ ^{ax}	۳/۸٦۳ ^{gz}	٤/۱۱٤ ^{cz}	۰/۳۹۱۰
ریزکپسول ۱	۱۷/۰٦۰ ^{gy}	۱/٥۰۳ ^{fz}	۲٦/۲٦٦ ^{fx}	۲/٥۱٤ ^{dz}	۰/۳۱۳۹
ریزکپسول ۲	۲٥/۰۸۳ ^{fy}	۲/۰۸۳ ^{fz}	۲۹/۰٤٦ ^{ex}	۲/۲٥۹ ^{dz}	۰/۲٤۸٥
ریزکپسول ۳	٤۸/۳۹٥ ^{dx}	٦/٦۹۳ ^{ez}	۳۷/۳٤۲ ^{dy}	٥/٤٥۲ ^{by}	۰/٥٦۲۱
ریزکپسول ٤	٥۲/۱۱٥ ^{cx}	۱٥/۸٤٤ ^{dz}	٤۷/۱۹۳ ^{cy}	۲/۸٥٤ ^{dz}	۰/٥۱۲۸
ریزکپسول ٥	٥٥/٥٤۱ ^{bx}	۲۳/۸۳ ^{cy}	٥٦/۳۹٦ ^{bx}	۲/۹۳۸ ^{dz}	۰/۷۸۰٦
ریزکپسول ٦	۷۲/۹٦۰ ^{ax}	۳٥/۰۲۰ ^{by}	۷۱/۷۲۲ ^{ax}	۲۱/٥٦۰ ^{az}	۰/۷٤۲٦
SEM	۰/٦٥۰۱	۰/۳۰۲	۰/٥۸۷۷	۰/۱۳۸٥	

a، b، c علامت بالانویس متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار آماری بین انواع مکمل‌های محافظت شده است ($P\leq۰/۰٥$).

x، y، z، در هر ردیف نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار آماری بین محیط‌های مختلف دستگاه گوارش در هر مورد از مکمل‌های مورد بررسی است ($P\leq۰/۰٥$).

جدول ۱۲ نشان‌دهنده میزان آزادسازی روغن از منابع مختلف پس از قرارگیری پیوسته در محیط‌های مختلف دستگاه گوارش با و بدون مایع شکمبه و پیش انکوباسیون با بزاق مصنوعی است. بالاترین میزان آزادسازی نهایی در ارتباط با منابع محافظت شده مربوط به نمک‌های کلسیمی بود که می‌تواند به‌علت آزادسازی کامل در اثر کاهش pH در محیط شبیه‌سازی شده معده توجیه شود. میزان

آزادسازی روغن از ترکیب ریزکپسول‌های میلارد پس از قرارگیری متوالی در معرض تمامی محیط‌های شبیه‌سازی شده به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) پایین‌تر از ریزکپسول‌های با دیواره غیرمیلارد بود که کاهش قابلیت هضم ترکیبات پوشاننده در اثر واکنش میلارد را می‌توان مهم‌ترین دلیل دانست (کوساراجو و همکاران، ۲۰۰۹).

جدول ۱۲- درصد آزادسازی روغن از مکمل‌های محافظت شده پس از قرارگیری متوالی در معرض محیط‌های شبیه‌سازی شده.

	محیط‌های متوالی بدون مایع شکمبه	محیط‌های متوالی با مایع شکمبه	محیط‌های متوالی با مایع شکمبه و بزاق مصنوعی	خطای استاندارد
نمک‌های کلسیمی	۹۳/٤۷۲ ^{a}	۹۳/۸۵۲^{a}	۹۳/٤۲٦ ^{a}	۰/٦۱۲٥
ریزکپسول ۱	۱٤/۰۸٦ ^{gy}	٤۸/٥۲۲ ^{fx}	٤۹/٦۱۹ ^{dx}	۰/٥۲۰۷
ریزکپسول ۲	۱۸/۰٤٤ ^{fy}	٥۳/۷۳۳ ^{ex}	٥۱/٤۷٤ ^{dx}	۰/٦۳۹۹
ریزکپسول ۳	۲۳/۱٥۷ ^{ez}	۷۸/۰٦۹ ^{dy}	۸۰/۸٥۸ ^{bx}	۰/٥۲۹۳
ریزکپسول ٤	٦۲/۱۹۸ ^{dy}	۷٥/۳۹۰ ^{dx}	۷٤/۲٦۰ ^{cx}	۰/٥۳۷۰
ریزکپسول ٥	٦۹/۱۳۲ ^{cy}	۸٤/۷۸٤ ^{cx}	۸۲/۸٥٥ ^{bx}	۰/٦۹۹۳
ریزکپسول ٦	۸۱/۹٤٥ ^{by}	۹۰/٥۳٤ ^{bx}	۹۲/٤۱۸ ^{ax}	۰/٦٥٦۱
خطای استاندارد	۰/٤۸٦۱	۰/۷۰۷۸	۰/٦۲۸۷	

a، b، c علامت بالانویس متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار آماری بین انواع مکمل‌های محافظت شده است (P≤۰/۰۵).

x، y، z در هر ردیف نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار آماری بین محیط‌های مختلف دستگاه گوارش در هر مورد از مکمل‌های مورد بررسی است (P≤۰/۰۵).

با این حال میزان آزادسازی روغن از ریزکپسول‌های میلارد پس از قرارگیری متوالی در معرض محیط‌های مختلف دستگاه گوارش نسبت به قرارگیری در محیط شبیه‌سازی روده‌ای کاهش یافت که می‌توان آن را به‌دلیل عدم آزادسازی مناسب در محیط شبیه‌سازی شده شیردان و اثر منفی قرارگیری در معرض pH پایین شیردان بر ساختار مولکولی و حلالیت کازئین (آنما و همکاران، ۲۰۰٤؛ آنما و کولستمایر، ۱۹۹۷) و کاهش متعاقب هضم روده‌ای دانست (کوساراجو و همکاران، ۲۰۰۹). قرارگیری در محیط شکمبه‌ای قبل از قرارگیری در معرض محیط‌های شبیه‌سازی شده، سبب جبران بخشی از

کاهش مشاهده شده در میزان روغن آزاد شده از مکمل‌های ریزکپسوله شد. با این حال نتایج مربوط به پیش انکوباسیون منابع محافظت شده با بزاق مصنوعی نشان‌دهنده عدم تأثیرگذاری معنی‌دار پیش انکوباسیون با بزاق مصنوعی بر میزان آزادسازی روغن از منابع ریزپوشانی شده است ($P<۰/۰۵$). جدول ۱۳ نشان‌دهنده ضرایب همبستگی بین خصوصیات آزادسازی روغن، میزان زیست هیدروژن‌دار شدن و میزان کارآیی ریزپوشانی است. وجود ضرایب همبستگی مثبت و معنی‌دار بین میزان روغن کپسوله نشده و میزان روغن قابل استحصال تأییدی بر مطالب فوق‌الذکر است. به‌علاوه همبستگی مثبت و معنی‌داری میان توانایی آزادسازی روغن و میزان زیست هیدروژن‌دار شدن وجود دارد.

جدول ۱۳- ضرایب همبستگی پیرسون بین شاخصه‌های مختلف مربوط به ریزکپسول‌های روغن ماهی.

	درصد روغن	کارآیی ریزپوشانی	زیست هیدروژن‌دار شدن اسیدهای چرب تک غیراشباع	زیست هیدروژن‌دار شدن چندغیراشباع پس از ٤٨ ساعت	آزادسازی در مایع شکمبه	آزادسازی مایع شبیه‌سازی شده شیردان	آزادسازی مایع شبیه‌سازی شده رومه	آزادسازی مایع شبیه‌سازی شده کولن
درصد روغن								
کارآیی ریزپوشانی	۰/۷۵۸							
زیست هیدروژن‌دار شدن ۱	¥۰/۲۷۵	۰/۷۸۱						
زیست هیدروژن‌دار شدن ۲	۰/۵٦۸	۰/۹۱۵	۰/۸٦۵					
آزادسازی در مایع شکمبه	۰/۵٦۱	۰/۸٦۵	۰/۸۹۹	۰/۹۳۸				
آزادسازی مایع شبیه‌سازی شده شیردان	†۰/٤۲۸	۰/۸۲۵	۰/۹۵۳	۰/۸۲۰	۰/۹۱۲			
آزادسازی مایع شبیه‌سازی شده رومه	†۰/٤۷۳	۰/۸٤۵	۰/۹٤۷	۰/۸۵۰	۰/۹٤۲	۰/۹۹٤		
آزادسازی مایع شبیه‌سازی شده کولن	۰/٦۳۲	۰/۷۰۹	۰/۵۷۱	۰/۵۸٦	۰/٦۹۷	۰/۷۵۵	۰/۷٦۱	
آزادسازی در کل دستگاه گوارش	۰/٦۱٦	۰/۹۲۱	۰/۸۵٦	۰/۹۷۹	۰/۹٦۹	۰/۸٤۷	۰/۸۷۹	۰/٦۳۹

† نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح ۰/۰۱ و ¥ نشان‌دهنده عدم معنی‌داری با سطح ۰/۱۰٤ می‌باشد. در بقیه موارد ضرایب همبستگی در سطح ۰/۰۰۱ معنی‌دار بود.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان‌دهنده کارایی مناسب نمک‌های کلسیمی در محافظت شکمبه‌ای و اهمیت نسبت روغن موجود در ریزکپسول‌ها بر خصوصیات پایداری و ارزش تغذیه‌ای آن‌ها است. بر اساس

نتایج پژوهش حاضر، محافظت بیش‌تر اسیدهای چرب غیراشباع روغن ماهی در برابر زیست هیدروژن دار شدن در اثر استفاده از فرایند ریزپوشانی در مقایسه با نمک‌های کلسیمی، نشان‌دهنده توانایی این روش برای تولید محصولات محافظت شده در شکمبه است. با این حال عدم آزادسازی کامل روغن ریزپوشانی شده و وجود محدودیت در میزان روغن قابل بارگذاری در ساختار ریزکپسول‌ها نسبت به نمک‌های کلسیمی می‌تواند عاملی محدود کننده در زمینه استفاده عملی از این فرایند باشد. انجام آزمایش‌های بیش‌تر به‌خصوص در شرایط درون‌تنی به‌منظور بررسی دقیق‌تر قابلیت محافظت و آزادسازی در دستگاه گوارش می‌تواند سبب روشن شدن بیش‌تر مزایا و معایب ریزپوشانی در محافظت اسیدهای چرب غیراشباع در مقایسه با سایر روش‌ها باشد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش تحت پوشش حمایت مالی صندوق حمایت از پژوهشگران کشور در قالب طرح تحقیقاتی شماره ۸۹۰۰۰۶۷۷ انجام شده است. مؤلفین از معاونت پژوهشی دانشگاه تهران و پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران برای تأمین بخشی از هزینه‌های این تحقیق و آقایان ساجدی و پاغنده جهت همکاری‌های با ارزش در طول تحقیق سپاسگزاری می‌نمایند.

منابع

AbuGhazaleh, A.A. and Jenkins, T.C. 2004. Short communication: Docosahexaenoic acid promotes Vaccenic acid accumulation in mixed ruminal cultures when incubated with linoleic acid. J. Dairy Sci. 87: 1047-1050.

Anema, S.G. and Klostermeyer, H. 1997. Heat-induced, pH-dependent dissociation of casein micelles on heating reconstituted skim milk at temperatures below 100 °C.J. Agr. Food Chem. 45: 1108-1115.

Anema, S.G., Lowe, E.K. and Lee, S.K. 2004. Effect of pH at heating on the acid-induced aggregation of casein micelles in reconstituted skim milk. LWT- Food Sci. Tech. 37: 779-787.

AOAC. 2000. *Official Methods of Analysis*. (17th ed.) Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C.

AOCS. 2004. *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society*. Champaign: American Oil Chemists' Society, USA.

Augustin, M.A., Patten, G., De Luca, A., Abeywardena, M., Lockett, T., Head, R. and Sanguansri, L. 2006. Intestinal passage of microencapsulated fish oil in rats following oral administration. Food Func. 2: 684-696.

Block E., Chalupa W., Evans E., Jenkins T., Moate P., Palmiquist D. and Sniffen C. 2005. Calcium salts are highly digestible. Feedstuffs. 77: 55-71.

Champagne, C.P. and Fustier, P. 2007. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. Curr. Opin. Biotech. 18: 184-190.

Chilliard, Y., Ferlay, A., Mansbridge, R.M. and Doreau, M. 2000. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, Trans and conjugated fatty acids. Ann. De Zootech., 49: 181-205.

Chilliard, Y., Glasser, F., Ferlay, A., Bernard, L., Rouel, J. and Doreau, M. 2007. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. Euro. J. Lipid Sci. Tech. 109: 828-855.

Chow, P.S. and Landhausser, S.M. 2004. A method for routine measurements of total sugar and starch content in woody plant tissues. Tree Phys. 24: 1129 –1136

Cousins, W.J. 1976. Elastic modulus of lignin as related to moisture content. Wood Sci. Tech. 10: 9-17.

Demjanec, B., Merchen, N.R., Cremin, J.D., Aldrich, C.G. and Berger, L.L. 1995. Effect of roasting on site and extent of digestion of soybean meal by sheep: I. Digestion of nitrogen and amino acids. J. Anim. Sci. 73: 824-834.

Dohme, F., Fievez, V., Raes, K. and Demeyer, D.I. 2003. Increasing levels of two different fish oils lower ruminal biohydrogenation of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid *in vitro*. Anim. Res. 52: 309-320.

Enjalbert, F., Eynard, P., Nicot, M.C., Troegeler-Meynadier, A., Bayourthe, C. and Moncoulon, R. 2003. *In Vitro* versus *in Situ* rruminal biohydrogenation of unsaturated fatty acids from a aaw or extruded mixture of ground canola seed/canola meal. J. Dairy Sci. 86: 351–359.

FASS. 2010. *Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching*. 3rd rev. ed. Federation of Animal Sciences Societies Savoy, IL.

Fievez, V., Vlaeminck, B., Jenkins, T., Enjalbert, F. and Doreau, M. 2007. Assessing rumen biohydrogenation and its manipulation *in vivo*, *in vitro* and *in situ*. Eur. J. Lipid Sci. Tech. 109: 740-756.

Folch, J., Lees, M. and Stanley, G.H.S. 1957. A simplified method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem. 226: 497-509.

Fotouhi, N. and Jenkins, T.C. 1992. Resistance of fatty acyl amides to degradation and hydrogenation by ruminal microorganisms. J. Dairy Sci. 75: 1527-1532.

Ganga, A., Nieto, S., Sanhuez, J., Romo, C., Speisky, H. and Valenzuela, A. 1998. Concentration and stabilization of n-3 polyunsaturated fatty acids from sardine oil. J. American Oil Chem. Soc. 75: 733-736.

Gulati, S.K., Scott, T.W. and Ashes, J.R. 1997. *In-vitro* assessment of fat supplements for ruminants. Anim. Feed Sci. Tech. 64: 127-132.

Hogan, S.A., O'Riordan, E.D. and O'Sullivan, M. 2003. Microencapsulation and oxidative stability of spray-dried fish oil emulsions. J. Microencap. 20: 675-688.

Hussein, H.S., Demjanec, B., Merchen, N.R., and Aldrich, C.G. 1995. Effect of roasting on site and extent of digestion of soybean meal by sheep: II. Digestion of artifacts of heating. J. Anim. Sci. 73: 835-842.

Ichihara, K.I. and Fukubayashi, Y. 2010. Preparation of fatty acid methyl esters for gas-liquid chromatography. J. Lipid Res. 51: 635-640.

Jenkins, T.C. and Bridges, W.C. 2007. Protection of fatty acids against ruminal biohydrogenation in cattle. Euro. J. Lipid Sci. Tech. 109: 778-789.

Jenkins, T.C. and Palmquist D.L. 1984. Effect of fatty acids or calcium salts on rumen and total nutrient digestibility of dairy rations. J. Dairy Sci. 67: 978-986.

Kosaraju, S.L., Weerakkody, R. and Augustin, M.A. 2009. *In-vitro* evaluation of hydrocolloid-based encapsulated fish oil. Food Hydrocol. 23: 1413-1419.

Lanzas, C., Sniffen, C.J., Seo, S., Tedeschi, L.O. and Fox, D.G. 2007. A revised CNCPS feed carbohydrate fractionation scheme for formulating rations for ruminants. Anim. Feed Sci. Tech. 136: 167-190.

Lee, M.R.F., Tweed, J.K.S., Moloney, A.P. and Scollan, N.D. 2005. The effects of fish oil supplementation on rumen metabolism and the biohydrogenation of unsaturated fatty acids in beef steers given diets containing sunflower oil. J. Anim. Sci. 80: 361-367.

Liardon, R., and Hurrell, R.F. 1983. Amino acid racemization in heated and alkali-treated proteins. J. Agric. Food Chem. 31: 432-437.

Licitra, G., Hernandez, T.M. and Van Soest, P.J. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feed. Anim. Feed Sci. Tech. 57: 347-358.

Lundy, F.P., Block, E., Bridges, W.C., Jr., Bertrand, J.A. and Jenkins, T.C. 2003. Ruminal biohydrogenation in Holstein cows fed Soybean fatty acids as amides or calcium salts. J Dairy Sci. 87: 1038–1046.

McDougall, E.I. 1948. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. Biochem. J. 43: 99-109.

Miranda, G. and Pelissier, J.P. 1981. *In vivo* studies on the digestion of bovine caseins in the rat stomach. J. Dairy Res. 48: 319-326.

NRC 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*.7th Ed, National Academy Press, Washington, DC. USA.

Oliver, C.M., Melton, L.D. and Stanley, R.A. 2006. Creating proteins with novel functionality via the Maillard reaction: A review. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 46: 337-350.

Pires, J.A.A., Pescara, J.B., Brickner, A.E., Silva del Rio, N., Cunha, A.P. and Grummer, R.R. 2008. Effects of abomasal infusion of linseed oil on responses to glucose and insulin in Holstein cows. J. Dairy Sci. 91: 1378–1390.

Relling, A.E. and Reynolds, C.K. 2007. Feeding rumen-inert fats differing in their degree of saturation decreases intake and increases plasma concentrations of gut peptides in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 90: 1506-1515.

Reynolds C.K., Aikman, P.C., Lupoli, B., Humphries, D.J. and Beever, D.E. 2003. Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. J. Dairy Sci. 86: 1201-1217.

Rose, R., Rose, C.L., Omi, S.K., Forry, K.R., Durall, D.M. and Bigg, W.L. 1991. Starch determination by perchloric acid vs enzymes: evaluating the accuracy and precision of six colorimetric methods. J. Agric. food chem. 39: 2–11.

Safari, R., Valizadeh, R., KadKhodayi, R., Alamolhoda, B.N., Tahmasebi, A.M. and Naserian, A.A. 2012. Resistance of fish oil microencapsules in rumen condition and effects on *in vitro* gas production and digestibility. Iranian Journal of Animal Science Research. 4: 265-273. (In Persian)

Samiei Zafarghandi, M., Ghoorchi, T. and Ahani–Azari, M. 2010. A determination of the effects of chemical treatment of two barley cultivars on ruminal dry matter and starch disappearance and on CNCPS carbohydrate fraction characteristics. Iranian J. Anim. Sci., 41: 21-32. (In Persian)

Santos, J.E.P., Bilby, T.R., Thatcher, W.W., Staples, C.R. and Silvestre, F.T. 2008. Long chain fatty acids of diet as factors influencing reproduction in cattle. Repr. Domes. Anim. 43: 23-30.

SAS Institute Inc. (2002). *Statistical Analysis System (SAS) User's Guide*. SAS Institute. Cary. N.C. USA.

Scollan, N.D., Dhanoa, M.S., Choi, N.J., Maeng, W.J., Enser, M. and Wood, J.D. 2001. Biohydrogenation and digestion of long chain fatty acids in steers fed on different sources of lipid. J. Agric. Sci. 136: 345-355.

Shantha, N.C. and Decker, E.A. 1994. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. J. AOAC Int. 77: 421–424.

Sukhija, P.S. and Palmquist, D.L. 1990. Dissociation of calcium soaps of long-chain fatty acids in rumen fluid. J. Dairy Sci. 73: 1784-1787.

Van Nevel, C.J. and Demeyer, D.I. 1996. Effect of pH on biohydrogenation of polyunsaturated fatty acids and their Ca-salts by microorganisms in vitro. Arch. Anim. Nut. 49: 151-158.

Van Soest, P.J., Robertson, J.B. and Lewis, B.A. 1991. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74: 3583-3597.

Wachira, A.M., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G., Hallett, K., Enser, M. and Wood, J.D. 2000. Rumen biohydrogenation of n-3 polyunsaturated fatty acids and their effects on microbial efficiency and nutrient digestibility in sheep. J. Agric. Sci. 135: 419-428.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Ruminant Research, Vol. 2(4), 2015
http://ejrr.gau.ac.ir

Production and in vitro evaluation of microencapsulated fish oil: Nutritive value and biohydrogenation resistance compared with fish oil ca-salts

***H. Khalilvandi Behroozyar[1], M. Dehghan Banadaky[2], M. Ghaffarzadeh[3], K. Rezayazdi[2], H. Kohram[4] and B. Asad Nejad[5]**

[1]Assitant Prof., and [5]MS.c. Student., Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, [2]Associate Prof., and [4]Assistant Prof., Dept. of Animal Science, Faculty of Agronomy and Animal Science, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran, [3]Assistant Prof., Chemistry and Chemical engeenering Research Institute
Received: 10/01/2014; Accepted: 01/11/2015

Abstract

In this study we produced and evaluate solid state fish oil supplements using spray drying and ca-salt formation. In the case of microencapsulation, two different types of wall materials (with different levels of fish oil were used. Nutrient content and fatty acid profiles, covering properties of different wall systems and protein and carbohydrate fractions according to CNCPS were addressed. Also, series of in vitro studies were carried out to determine potential of spray dry microencapsulation on ruminal biohydrogenation and gastrointestinal release of fish oil in comparison with ca-salts. Maillard wall materials provided more oxidative protection and encapsulation efficiency than non-maillard ones ($p<0.05$). Protein and carbohydrate fractions were different between maillard and non-maillard walled microcapsules ($p<0.05$). Highest biohydrogenation in all of the incubation times was belong to unprotected oil and free fatty acids, after that, lowest and highest biohydrogenation after 48 hours of incubation was seen with maillard and non-maillard encapsulated fish oil, respectively and ca-salts had intermediated behavior ($p<0.05$). Oil content in microcapsules affected fatty acid profile and biohydrogenation extent in all of the incubation times ($p<0.05$). Ruminal and post ruminal oil release from maillard and non-maillard microcapsules was statistically different ($p<0.05$). Although protecting from ruminal Biohydrogenation, incomplete oil release from microcapsules despite of high rumen protection, particularly in the case of maillard wall materials, warrants further in vivo studies.

*Corresponding author: h.Khalilvandi@urmia.ac.ir

Keywords: Spray-Drying, CNCPS, Oil release. Microencapsule