



بهینه‌سازی امولسیون‌های لیکوپن در صمغ عربی و مالتودکسترین با استفاده از روش سطح پاسخ

آزاده سلیمی^{۱*}، یحیی مقصودلو^۲، سید مهدی جعفری^۱، علیرضا صادقی ماهونک^۳، مهدی کاشانی‌نژاد^۱

امان محمد ضیایی‌فر^۳

^۱استادیار علوم و صنایع غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران
^۲آستاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
^۳دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۱۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۸/۲۷

چکیده

سابقه و هدف: لیکوپن رنگدانه کاروتنوئیدی با تاثیرات مثبت بر سلامتی انسان است و تحقیقات حاکی از آن بوده‌اند که در پیشگیری برخی بیماری‌ها مانند سرطان می‌تواند مثر ثمر باشد. با این حال، به دلیل وجود چندین پیوند دوگانه در ساختار، بسیار حساس به شرایط محیطی است. تخریب سریع آن در طی فرآیند، یکی از موانع استفاده از این ترکیب مفید در صنایع غذایی بوده است. یکی از روش‌های کنترل تخریب آن، ریزپوشانی و احاطه کردن توسط مواد بیوپلیمری درون میکروکپسول‌هاست. از آنجا که لیکوپن ترکیبی غیرقطبی است، گام اول در این راستا، تولید امولسیون‌هایی با حداکثر پایداری است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش از بیوپلیمر صمغ عربی (AG) به همراه مالتودکسترین به عنوان مواد جامد با قابلیت انحلال در آب، استفاده شد تا همراه با لیکوپن وارد فرآیند امولسیون‌سازی گردند. بدین منظور، ابتدا لیکوپن در روغن حل شد تا ماده روغنی لیکوپن ۵٪ تولید شود. سپس صمغ عربی و مالتودکسترین بطور جداگانه در آب مقطر حل شدند و یک شب ماندند تا از انحلال کامل آن‌ها اطمینان حاصل شود. سپس مواد آماده شده وارد فرآیند امولسیون‌سازی شدند. برای تولید امولسیون‌ها، دور هموژنایزر، مقدار مواد جامد و لیکوپن به‌عنوان متغیرهای مستقل در نظر گرفته شده و با استفاده از روش سطح پاسخ و طرح مرکب مرکزی، نتایج بهینه‌سازی شدند. همچنین مقدار آلفا بر اساس انتخاب گزینه وجهه مرکزی، معادل یک گرفته شد. به منظور انجان فرآیند بهینه‌سازی، از نرم افزار دیزاین اکسپرت نسخه ۶،۰،۲ استفاده شد. بر اساس چیدمان طرح روش سطح پاسخ، اثر سه متغیر مستقل شامل سرعت دور هموژنایزر (۱۴۰۰۰-۱۸۰۰۰ دور در دقیقه)، مقدار ماده جامد (صمغ عربی+ مالتودکسترین، ۳۰-۴۰٪ وزنی/وزنی) و مقدار لیکوپن (۱۰-۲۰٪ وزنی/وزنی) بر سه متغیر وابسته شامل اندازه قطرات امولسیون، اندیس کرمی شدن و ویسکوزیته به عنوان پاسخ‌ها، مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: بر اساس نتایج بدست آمده، تاثیر افزایش دور هموژنایزر، مقدار مواد جامد و لیکوپن بر هر سه متغیر وابسته، معنی دار بود ($P < 0/05$). بدین ترتیب که با افزایش دور هموژنایزر، اندازه قطرات، اندیس کرمی شدن کاهش یافتند اما ویسکوزیته تا حدودی افزایش یافت. با افزایش مقدار مواد جامد در سیستم، ویسکوزیته افزایش یافت اما اندیس کرمی شدن و اندازه قطرات کاهش یافتند. از طرفی دیگر، با افزایش مقدار لیکوپن، ویسکوزیته، اندازه قطرات و اندیس کرمی شدن افزایش یافتند. در پایان، با

*مسئول مکاتبه: a.salimi@semnan.ac.ir

اعمال فرآیندهای بهینه‌سازی، بهترین شرایط برای تولید پایدارترین امولسیون عبارت بود از ۳۷/۰۲٪ مواد جامد، ۱۹/۵۲٪ لیکوپن و سرعت ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه برای هموژنایزر.

استنتاج: با توجه به نتایج به دست آمده، برای اینکه بتوانیم به پایداری مطلوب در امولسیون‌های لیکوپن برسیم، لازم است دور هموژنایزر و مقدار مواد جامد را افزایش دهیم اما این عمل نباید منجر به افزایش بیش از حد ویسکوزیته و یا احتمال برخورد مجدد قطرات فاز گسسته و نهایتاً ناپایداری کل سیستم گردد.

واژه‌های کلیدی: لیکوپن، صمغ عربی، مالتودکسترین، امولسیون، روش سطح پاسخ

مقدمه

امروزه به دلیل افزایش سطح آگاهی مصرف کنندگان نسبت به مواد غذایی و فرآورده‌های فرآوری شده، گرایش به استفاده از محصولاتی که حداقل مواد شیمیایی و سنتزی در ترکیب آن‌ها وجود دارد، افزایش یافته است. همچنین ظاهر مناسب و به‌خصوص رنگ به کار رفته در هر محصولی، اثر به‌سزایی در جلب توجه مصرف کنندگان دارد. در این راستا، با توجه به تنوع رنگدانه‌های طبیعی و مزایای به‌کارگیری آن‌ها در فرآورده‌های فرآوری شده، صنعت‌گران و محققین، توجه خاصی به این مقوله دارند.

از جمله رنگدانه‌های طبیعی و مفید موجود، می‌توان به لیکوپن اشاره کرد. این رنگدانه که بیشتر در فرآورده‌هایی مانند گوجه‌فرنگی رسیده، هندوانه و... وجود دارد و عامل ایجاد رنگ قرمز می‌باشد، در دسته رنگدانه‌های کاروتنوئیدی قرار گرفته و می‌تواند غیر از ایجاد رنگ مناسب در ترکیب ماده غذایی، سرعت برخی واکنش‌های نامناسب از قبیل اکسیداسیون را کاهش دهد (۳۹). تحقیقات انجام شده در مورد لیکوپن نشان داده‌اند که این رنگدانه، غیر از ویژگی‌هایی مانند ایجاد رنگ مناسب در ماده غذایی، نقش به‌سزایی در کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی - عروقی و انواع سرطان‌ها نیز دارد (۶ و ۲۷).

در ساختار لیکوپن، پیوندهای دوگانه مزدوج وجود دارند و با افزایش تعداد آن‌ها، ته رنگ سرخ تری به وجود می‌آید و حداقل هفت پیوند دوگانه لازم است تا ته رنگ زرد ظاهر گردد. وجود همین پیوندها باعث شده که کاروتنوئیدها نسبت به عوامل محیطی مانند دما و اکسیژن حساس شوند و در طول فرآیندهایی مانند آب‌گیری، تولید پالپ، خشک کردن و پخت مواد، با افت قابل توجهی روبرو گردند. به همین دلیل استفاده از لیکوپن خالص و یا گوجه‌فرنگی به‌عنوان منبع شناخته شده لیکوپن، تا حدی دچار محدودیت شده است (۱۴).

با توجه به آنچه ذکر شد، یافتن روش‌هایی در راستای افزایش مقاومت این رنگدانه مفید و امکان به‌کارگیری آن در ترکیبات غذایی بسیار مورد توجه قرار گرفته است و یکی از روش‌های پیشنهادی بدین منظور، ریزپوشانی می‌باشد. ریزپوشانی با استفاده از بیوپلیمرهای مختلف، یکی از روش‌های مورد استفاده برای افزایش مقاومت انواع مواد حساس در برابر شرایط محیطی است (۲ و ۳۹). یکی از رایج‌ترین روش‌ها برای تولید میکروکپسول از موادی مانند لیکوپن و مواد چرب که تمایل به اختلاط با محیط‌های آب ندارند، تشکیل امولسیون پایدار از مواد هسته و دیواره می‌باشد که در گام بعدی لازم است با استفاده از روش‌های مناسب، این امولسیون‌ها خشک شده و به‌صورت پودر یکنواختی درآیند (۲۲).

دارند و حتی در مقادیر زیاد نیز موجب افزایش شدید ویسکوزیته نمی‌گردند. همچنین به دلیل وجود بارهای یونی، بیشتر تحت تاثیر مقدار نمک محیط و pH قرار می‌گیرند. از جمله ویژگی‌های عملکردی صمغ عربی می‌توان به ویسکوزیته پایین در غلظت‌های بالا و قابلیت امولسیفایری مناسب اشاره کرد (۲۶، ۲۸ و ۴۶).

بهینه‌سازی عبارت است از بهبود عمل‌کرد یک سیستم، فرآیند یا تولید به منظور دستیابی به حداکثر سود از آن. لغت بهینه‌سازی معمولاً در مباحث شیمیایی به‌عنوان وسیله‌ای برای تعیین شرایطی که در آن اجرای فرآیند موجب رسیدن به بهترین پاسخ می‌شود، تعریف می‌گردد. از میان چندین روش موجود برای بهینه‌سازی یک فرآیند، روش رویه سطح پاسخ، رایج‌ترین روش می‌باشد که اولین بار توسط باکس و همکاران در سال ۱۹۵۷ ارائه شد (۴). روش سطح پاسخ، مجموعه‌ای از روش‌های ریاضی و آماری است که برای مدل‌سازی و تجزیه و تحلیل مسائلی مورد استفاده قرار می‌گیرد که در آن‌ها پاسخ مورد نظر، به هدف بهینه‌سازی آن پاسخ، تحت تأثیر چندین متغیر گوناگون قرار دارد. هدف از اعمال این روش، یافتن بهترین مجموعه از سطوح عامل برای رسیدن به بعضی ویژگی‌های خاص و مورد نظر می‌باشد. بدین منظور، روش‌های آماری و ریاضی که براساس انطباق معادلات چند جمله‌ای با داده‌های آزمایشی بنا شده‌اند، به گونه‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند که بتوانند رفتار مجموعه داده‌ها را با توجه به هدف نهایی، پیش‌بینی کنند. بر این اساس، تابع‌های چند جمله‌ای (خطی، درجه دو و بالاتر) برای توصیف شرایط سیستم تحت بررسی و سوق دادن آن به سمت یک نقطه بهینه مورد استفاده قرار می‌گیرند. عموماً روش سطح پاسخ، به منظور بهینه‌سازی طرح‌ها و با هدف کاهش هزینه‌های روش‌های تجزیه و تحلیل

میزان پایداری امولسیون‌ها تا حدود زیادی وابسته به اندازه ذرات و میزان پراکندگی ذرات فاز گسسته در فاز پیوسته، نوع امولسیفایر و ویسکوزیته امولسیون است (۵، ۱۹ و ۲۳). به‌منظور داشتن امولسیون‌هایی پایدار و متعاقباً، تولید میکروکپسول‌هایی مناسب، استفاده از مواد جامدی که هم نقش پایدارکنندگی امولسیون و هم ایجاد دیواره مناسب در میکروکپسول‌ها را دارند، الزامی است. برخی ویژگی‌های این دسته از مواد مانند ویژگی امولسیفایری، خواص رئولوژیکی، پایدارکنندگی، تشکیل فیلم و قابلیت خشک شدن مناسب جزو عواملی هستند که می‌توانند بر کارایی ریزپوشانی میکروکپسول‌های نهایی تاثیر بگذارند (۲۱).

مالتودکسترین کربوهیدراتی است که از هیدرولیز جزئی نشاسته به دست می‌آید و به همین دلیل به نشاسته هیدرولیز شده نیز مشهور است. واحدهای سازنده آن گلوکز بوده و بر اساس شاخصی به نام دکستروز اکی والان، طبقه بندی می‌شوند. از ویژگی‌های مهم مالتودکسترین می‌توان به ارزان بودن، ویسکوزیته پایین در مقدار مواد جامد بالا، طعم خنثی و قابلیت بالا در تشکیل فیلم و پوشش دادن ترکیبات هسته در فرآیند ریزپوشانی اشاره کرد (۱۶، ۱۷ و ۲۲). صمغ عربی که به نام صمغ آگاسیا نیز مشهور است، از درختان خودروبی که عمدتاً در مناطق بیابانی کشور ساحل عاج، در آفریقای جنوبی و کشورهای سنگال و سومالی می‌روید، به دست می‌آید. در ساختار صمغ عربی، مخلوطی از گلیکوپروتئین‌ها و پلی ساکاریدها وجود دارد و منشاء اولیه قندهای آرابینوز و ریوز نیز بوده است. آرابینوگالاکتان بیوپلیمری است که از آرابینوز و گالاکتوز تشکیل شده و در ساختار صمغ عربی به چشم می‌خورد (۴۹). صمغ عربی از لحاظ ساختاری جزو صمغ‌های انشعابی است. این نوع صمغ‌ها تمایل کمتری به افزایش ویسکوزیته

مالتودکسترین با دکستروز اکی والان ۲۰ از شرکت کینهانگدائو لیهو (کینگهدائو، چین) تهیه شد. روغن سویا ماهک ساخته شده در از شهرک صنعتی سلیمی (تبریز، ایران)، از بازار محلی خریداری شد، سدیم آزاید (سیگما، آمریکا) و سدیم دودسیل سولفات (مرک، آلمان)

دستگاه‌های مورد استفاده: هموژنایزر دور بالا (D91126، شرکت هایدولف، آلمان)، بن ماری (WB14، ممرت، آلمان)، میکروسکوپ دیجیتالی (VIVA-BW1008، گانگ دانگ، چین)، ویسکومتر (D220، بروکفیلد، آمریکا)

گران‌قیمت و همچنین کنترل خطاهایی عددی به‌کار گرفته می‌شود (۳۰).

با توجه به آنچه ذکر شد، هدف از این پژوهش، بررسی شرایط و عوامل مهمی که می‌توانند بر تولید امولسیون‌هایی با حداکثر پایداری تاثیر بگذارند و همچنین یافتن بهترین شرایط تولید آن با استفاده از روش سطح بوده است.

مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده: کلیه مواد مورد استفاده از تولید کنندگان معتبر و باکیفیت تهیه شدند. لیکوپن از شرکت آنهویی مینمتالز دولوپمنت (آنهویی چین) خریداری شد، ژلاتین از شرکت فرمند تهیه گردید،

جدول ۱: سطوح واقعی و کد شده متغیرهای مستقل

Table 1- Coded and actual levels of independent variables

سطوح کد شده Coded levels			متغیرهای مستقل Independent variables	نماد symbol
1	0	-1		
18000	16000	14000	سرعت هموژنایزر (دور در دقیقه) Speed of homogenizer (rpm)	X ₁
20	15	10	لیکوپن (%وزنی/وزنی) Lycopene (%w/w)	X ₂
40	35	30	ماده جامد شامل صمغ عربی+مالتودکسترین (%وزنی/وزنی) solid materials including AG+MD(%w/w)	X ₃

مالتودکسترین، ۳۰-۴۰٪ وزنی/وزنی) و مقدار لیکوپن (۱۰-۲۰٪ وزنی/وزنی) بر سه متغیر وابسته شامل اندازه قطرات امولسیون، اندیس کرمی شدن و ویسکوزیته به عنوان پاسخ‌ها، مورد استفاده قرار گرفت. بر اساس چیدمان ارائه شده توسط نرم افزار، هجده دستور آزمایشی طراحی شده و امولسیون‌ها بر آن اساس تولید شدند. در نهایت با قرار دادن مقادیر پاسخ‌ها در نرم‌افزار، برای بررسی تاثیر هر یک از متغیرهای مستقل بر آن‌ها، مدل‌های ریاضی و آماری ارائه شده و در پایان نقاط بهینه برای هر یک از

روش‌های آماری و طرح آزمایشات: برای بهینه‌سازی فرآیند، از روش سطح پاسخ و نرم‌افزار دیزاین اکسپرت^۱ نسخه ۶،۰،۲ استفاده شد. بدین منظور از طرح مرکب مرکزی^۲ با نقاط مرکزی در هر وجه^۳ و ۴ نقطه مرکزی برای بررسی تاثیر سه متغیر مستقل شامل سرعت دور هموژنایزر (۱۴۰۰۰-۱۸۰۰۰ دور در دقیقه)، مقدار ماده جامد (صمغ عربی+)

¹ Design Expert

² Central Composite Design (CCD)

³ Face Center

حل گردد (۳۸). برای تولید امولسیون‌ها، محلول روغنی لیکوپن به‌طور تدریجی به مخلوط‌های تهیه شده از ترکیب مالتودکسترین و صمغ عربی اضافه شد. بدین منظور و برای مخلوط کردن دو فاز، از هم‌وزنایزر دور بالا استفاده شد. در مرحله اول برای تولید امولسیون اولیه با ذرات درشت، از سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه و سپس برای تولید نهایی امولسیون‌ها، از سرعت‌های ۱۴۰۰۰ تا ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد (۳۵ و ۳۸). در نهایت ۰/۰۲ درصد وزنی از سدیم آزاید به‌عنوان عامل ضد میکروبی به امولسیون‌ها اضافه گردید تا بتوان آن‌ها را در طول مدت نگهداری به منظور بررسی پایداری امولسیون‌ها، از حمله و فساد میکروبی در امان نگه داشت (۲۳). برای بررسی کیفیت امولسیون‌های تولید شده، شاخص کرمی شدن، اندازه قطرات امولسیون و ویسکوزیته همگی امولسیون‌ها مورد آزمایش قرار گرفت.

بررسی شاخص کرمی شدن امولسیون‌ها: برای اندازه‌گیری اندیس کرمی شدن در امولسیون‌ها، تغییرات فازی در امولسیون‌هایی که در لوله‌های آزمایش نگهداری می‌شدند مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، ۱۵ میلی-لیتر امولسیون در لوله آزمایش‌هایی با ارتفاع ۱۶ سانتی‌متر و قطر ۱/۵ سانتی‌متر ریخته شده، درب لوله‌ها کاملاً با فویل آلومینیوم بسته شد و نمونه‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری نگهداری شدند. در طول نگهداری به مدت هشت هفته، مشاهده شد که امولسیون‌ها به سه قسمت شامل یک لایه بالایی کدر، لایه میانی و لایه‌ای شفاف در پایین لوله آزمایش تفکیک شدند. مجموعه ارتفاع لایه کدر بالایی و لایه شفاف پایینی اصطلاحاً لایه سرم نامیده می‌شود و با داشتن ارتفاع کل امولسیون اولیه، به کمک رابطه ۱ می‌توان اندیس کرمی شدن امولسیون‌ها را محاسبه کرد (۲۹).

بلوک‌ها در بین هجده تیمار آزمایشی، تعیین شدند. سطوح کد شده و واقعی متغیرها که توسط نرم افزار ارائه شده بودند، در جدول ۱ آورده شده‌اند.

معنی‌دار بودن یا نبودن هر یک از ضرایب مدل‌های ارائه شده توسط نرم‌افزار، از طریق بررسی p -value مشخص شد و مقادیری که ارزشی بالاتر از ۰/۰۵ داشتند، معنی‌دار نبوده و از مدل‌ها حذف شدند تا مدل‌های جدیدی با پارامترهای معنی‌دار ($P < 0.05$) به‌دست آیند. کیفیت مدل‌های مناسب از طریق بررسی ضریب همبستگی و ضریب همبستگی تنظیم شده^۱ مورد بررسی قرار گرفت. همچنین برای بررسی تصویری و گرافیکی تاثیرات متغیرهای مستقل، بنا بر توصیه سایر محققین، از طرح‌های سه بعدی^۲ و کتور^۳ مدل‌های رگرسیونی^۴ استفاده شد (۱۱).

تولید امولسیون‌ها: به منظور تولید امولسیون‌ها، گام اول حل کردن مواد جامد در آب بود. پودر مالتودکسترین در تمامی امولسیون‌ها وجود داشته و برای آماده‌سازی آن، مقدار محاسبه شده در آب مقطر حل شد و برای اطمینان از انحلال کامل آن، به مدت یک شب باقی ماند تا محلول شفاف به‌دست آید. صمغ عربی نیز پس از مخلوط شدن با آب مقطر، به مدت یک شب در بن‌ماری با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد باقی ماند تا کاملاً جذب آب کرده و حل شود (۲۴).

در مرحله بعد، لیکوپن خریداری شده با روغن سویا مخلوط شد تا محلول یکنواخت ۵ درصد وزنی/حجمی لیکوپن در روغن تهیه شود. بدین منظور ابتدا ۵ گرم لیکوپن با مقداری روغن ترکیب شد و در بالن ۱۰۰ به حجم رسانیده شد. سپس مخلوط خوب هم زده شد تا لیکوپن کاملاً در روغن

¹ Adjusted R²

² 3D Plots

³ Counter Plots

⁴ Regression Model

$$\text{رابطه (۱)} = \frac{100 \times \text{مجموعه ارتفاع لایه کدر بالایی و لایه شفاف پایینی}}{\text{ارتفاع کل امولسیون اولیه}} = \text{اندیس کرمی شدن (د)}$$

در جدول ۲ مشخص است، مقادیر تجربی به دست آمده هم‌خوانی مناسبی با مقادیر پیش‌بینی شده توسط روش سطح پاسخ داشتند و ضرایب همبستگی نشان می‌دهند که مدل‌های انتخاب شده به خوبی با داده‌ها هماهنگ شده‌اند.

همچنین از جدول آنالیز واریانس‌ها برای بررسی معنی‌دار بودن یا نبودن پارامترهای مدل‌ها استفاده شد (جدول ۳). بنابراین متغیرهایی که بیشترین تاثیر را بر اندازه قطرات داشته‌اند، به ترتیب پارامتر خطی سرعت هموزنایزر، اثر متقابل سرعت هموزنایزر و مقدار لیکوپن و پارامتر خطی مقدار لیکوپن و پارامتر خطی مقدار صمغ عربی+مالتودکسترین بودند ($P < 0/05$). سایر پارامترها تاثیر معنی‌داری نداشته و از مدل حذف شدند.

در مورد اندیس کرمی شدن، متغیر مستقلی که بیشترین تاثیر معنی‌دار را داشت، پارامتر خطی مقدار صمغ عربی+مالتودکسترین بود و پس از آن به ترتیب مقدار خطی لیکوپن و مقدار خطی سرعت هموزنایزر، تاثیر زیادی بر این مشخصه داشتند ($P < 0/05$). هیچ‌یک از پارامترهای درجه دو و اثرات متقابل، تاثیر معنی‌داری بر اندیس کرمی شدن نداشتند.

از طرفی نتایج به دست آمده نشان دادند که متغیر وابسته ویسکوزیته، شدیداً تحت تاثیر پارامتر خطی مقدار صمغ عربی+مالتودکسترین بود و بعد از آن به ترتیب پارامترهای خطی مقدار لیکوپن، پارامتر درجه دو مقدار صمغ عربی+مالتودکسترین و اثر متقابل مقدار لیکوپن و مقدار صمغ عربی+مالتودکسترین و سرعت هموزنایزر بیشترین تاثیر معنی‌دار را بر تغییرات ویسکوزیته داشتند ($p < 0/05$). سایر پارامترها تاثیر معنی‌داری بر ویسکوزیته نداشته و از مدل حذف شدند.

بررسی اندازه قطرات امولسیون‌ها: برای بررسی اندازه ذرات قطرات امولسیون، از میکروسکوپ دیجیتال متصل به کامپیوتر استفاده شد. بدین منظور یک قطره از امولسیون در ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول سدیم دودسیل سولفات ۰/۰۱ درصد (وزنی-حجمی) رقیق شده (۴۳) و سپس یک قطره از آن روی لام ریخته شد و زیر میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ از آن‌ها عکس گرفته شد. در گام بعدی این عکس‌ها توسط نرم افزار ایمیج جی^۱ (نسخه ۱/۴۴P) آنالیز شده و اندازه قطرات مشخص شد (۴۵).

اندازه‌گیری ویسکوزیته امولسیون‌های تولید شده: به منظور اندازه‌گیری ویسکوزیته نمونه‌ها، بلافاصله پس از تولید امولسیون‌ها، مقدار ۱۵ میلی‌لیتر از هر یک برداشته شده و به کمک دستگاه ویسکومتر ویسکوزیته آن‌ها در دمای ثابت ۳۰ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد (۱۰).

نتایج و بحث

تعیین مدل‌های رگرسیونی مناسب: میانگین اندازه قطرات، اندیس کرمی شدن، مقادیر ویسکوزیته و رنگ به دست آمده از کلیه امولسیون‌های تولید شده توسط مخلوط صمغ عربی و مالتودکسترین، در جدول ۲ آورده شده‌اند. در مورد اندازه قطرات مقادیر بهینه شده با مدل دوفاکتوره و در مورد ویسکوزیته، با مدل درجه دو تعریف شدند. همچنین برای اندیس کرمی شدن و رنگ امولسیون‌ها، مدل‌های خطی به‌عنوان بهترین مدل‌ها انتخاب شدند. ضریب همبستگی برای اندیس کرمی شدن ۰/۹۱۵۲ بود. همچنین ضریب همبستگی برای اندازه قطرات و ویسکوزیته، به ترتیب معادل ۰/۸۹۹۱ و ۰/۹۹۷۸ بود که پس از ساده کردن مدل به ۰/۸۹۷۸ و ۰/۹۹۶۵ تبدیل شدند. همان‌طور که

¹ Image J

جدول ۲: مقادیر تجربی و پیش‌بینی شده برای اندازه قطرات، ویسکوزیته و اندیس کرمی شدن

Table 2. Experimented and predicted values of droplet size, viscosity and creaming index

متغیرهای وابسته Dependent variables			متغیرهای مستقل Independent variables			شماره آزمایش Run			
اندیس کرمی شدن (%) Creaming Index (%)	ویسکوزیته (سانتی پواز) Viscosity (cp)	اندازه قطرات (میکرومتر مربع) Droplet Size (µm)	صمغ عربی + مالتودکسترین (%وزنی/وزنی) Arabic Gum+maltodextrin content(%w/w)	لیکوپن (%وزنی/وزنی) Lycopene content (% w/w)	سرعت هموژنایزر (دور در دقیقه) Speed of homogenizer (rpm)				
پیش‌بینی شده Predicted	تجربی Experimented	پیش‌بینی شده Predicted	تجربی Experimented	پیش‌بینی شده Predicted	تجربی Experimented				
13.70	14.10	43.50	44.40	21.39	22.98	35	10	16000	1
12.37	12.67	113.24	120.00	21.86	22.33	40	15	16000	2
15.77	16.30	127.44	125.00	29.64	31.29	40	20	14000	3
15.52	16.14	53.55	53.70	23.06	21.95	35	15	16000	4
12.33	11.82	94.06	92.20	22.61	23.00	40	10	14000	5
13.75	13.34	56.04	57.50	18.68	20.93	35	15	18000	6
18.48	17.36	28.58	28.20	24.27	25.07	30	15	16000	7
21.87	22.63	29.50	30.80	32.64	33.77	30	20	14000	8
15.42	16.16	53.55	53.80	23.06	22.91	35	15	16000	9
18.52	19.91	34.48	33.90	19.59	19.91	30	20	18000	10
15.42	16.15	53.55	53.90	23.06	21.04	35	15	16000	11
12.42	11.03	132.42	132.00	17.08	17.04	40	20	18000	12
18.43	17.69	22.68	24.00	24.92	25.67	30	10	14000	13
8.97	9.74	99.04	97.00	18.11	17.70	40	10	18000	14
17.10	16.84	51.06	49.15	27.45	24.71	35	15	14000	15
15.42	16.07	53.55	53.20	23.06	22.81	35	15	16000	16
15.08	14.50	27.66	26.00	19.92	18.98	30	10	18000	17
17.15	15.19	63.60	62.40	24.74	23.06	35	20	16000	18

جدول ۳: آنالیز واریانس ضرایب رگرسیونی مدل‌های تطبیق یافته

Table 3. Analysis of Variance for Regression Coefficients of Fitted Models

P-value	F-value	اندیس کرمی شدن		ویسکوزیته		اندازه قطرات		متغیرها Variables	
		ضرایب رگرسیون Regression Coefficient	P-value	ضرایب رگرسیون Regression Coefficient	F-value	ضرایب رگرسیون Regression Coefficient	F-value		
		15.42		54.33		23.06		X ₀	
								خطی Linear	
0.0001	28.13	-1.68	0.0010	25.44	2.49	<0.0001	70.41	-4.39	X ₁
<0.0001	29.66	1.72	<0.0001	118.26	10.05	0.0084	10.25	1.67	X ₂
<0.0001	99.33	-3.05	<0.0001	163.04	42.33	0.0420	5.29	-1.20	X ₃
									دوفاکتوره 2FI
-	-	-	0.0541	5.09	0.41	0.0055	11.89	-2.02	X ₁ X ₂
-	-	-	0.0230	7.87	0.84	0.8341	0.046	0.13	X ₁ X ₃
-	-	-	0.0009	26.18	6.64	0.7717	0.088	-0.17	X ₂ X ₃
									درجه دو Quadratic
-	-	-	0.1252	2.93	-1/52	-	-	-	X ₁ ²
-	-	-	0.6989	0.16	-1/62	-	-	-	X ₂ ²
-	-	-	0.0012	24.15	19.08	-	-	-	X ₃ ²
									R ²
		0.9152			0.9978			0.8991	
		0.8970			0.9953			0.8440	Adj-R ²

X₁: سرعت هموژنایزر (دور در دقیقه)، X₂: مقدار لیکوپن (درصد وزنی/وزنی)، X₃: مقدار صمغ عربی +مالتودکسترین (درصد وزنی/وزنی)

X₁: Speed of homogenizer (rpm), X₂: Lycopene content (% w/w), X₃: Arabic gum + maltodextrin content (% w/w)

معادلات نهایی بر اساس پارامترهای کد شده

معادلات نهایی برای اندازه قطرات:

$$23/06 - 4/39 X_1 + 1/67 X_2 - 1/20 X_3 - 2/02 X_1 X_2 \quad (\text{رابطه ۲})$$

معادلات نهایی برای ویسکوزیته:

$$53/55 + 2/49 X_1 + 10/05 X_2 + 42/33 X_3 + 17/36 X_3^2 + 7/64 X_2 X_3 \quad (\text{رابطه ۳})$$

معادلات نهایی برای اندیس کرمی شدن:

$$15/42 - 1/68 X_1 + 1/72 X_2 - 3/05 X_3 \quad (\text{رابطه ۴})$$

X_1 : سرعت هموژنایزر (دور در دقیقه)

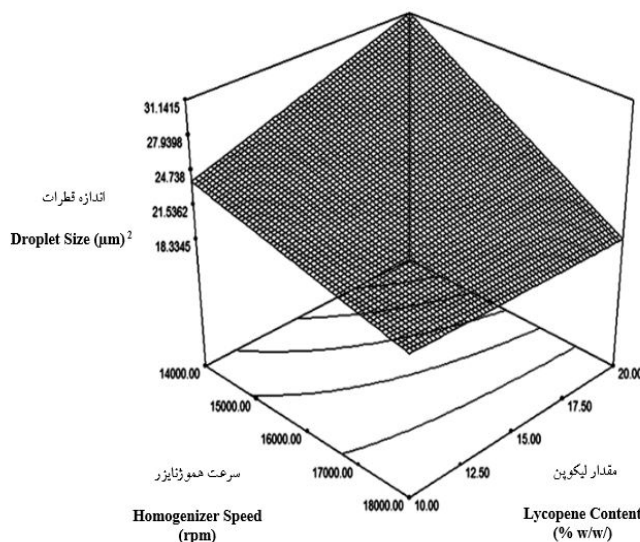
X_2 : مقدار لیکوپن (درصد وزنی/وزنی)

X_3 : مقدار صمغ عربی + مالتودکسترین (درصد وزنی/وزنی)

تاثیر متغیرهای مستقل بر اندازه قطرات: اندازه قطرات در نمونه‌های تولید شده با صمغ عربی نیز متاثر از سرعت هموژنایزر، مقدار صمغ عربی + مالتودکسترین و مقدار لیکوپن موجود در امولسیون‌ها بود. نحوه تغییرات اندازه قطرات با تغییر این متغیرهای مستقل، در شکل‌های ۱ و ۲ مشخص شده است.

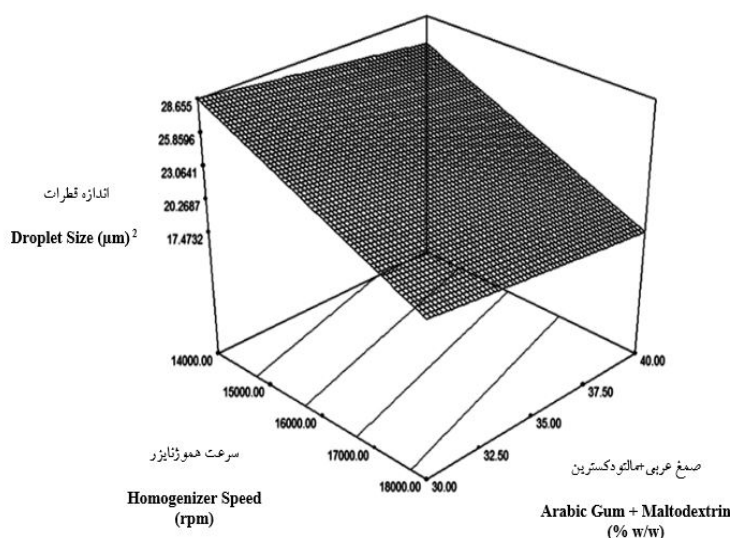
بررسی نمودارهای سه بعدی و کنتور مدل‌های رگرسیونی

در مورد امولسیون‌های تولید شده با صمغ عربی + مالتودکسترین نیز برای مشخص شدن و به تصویر کشیده شدن اثرات متغیرهای مستقل بر متغیرهای وابسته، از نمودارهای سه بعدی و کنتور استفاده شد که در آن‌ها اشاره می‌شود.



شکل ۱: تاثیر سرعت هموژنایزر و مقدار لیکوپن بر اندازه قطرات امولسیون‌های تولید شده با صمغ عربی + مالتودکسترین (۳۵ درصد)

Figure 1. Effect of homogenizer speed and lycopene on droplet size of emulsions of AG+MD (35%)



شکل ۲: تاثیر سرعت هموژنایزر و مقدار صمغ عربی+مالتودکسترین بر اندازه قطرات امولسیون‌ها در مقدار ثابت لیکوپن (۱۵ درصد)
 Figure 2. Effect of homogenizer speed and AG+MD on droplet size of emulsions at constant percent of lycopene (15%)

می‌شود. در واقع برش شدید ناشی از افزایش دور هموژنایزر موجب کاهش اندازه قطرات امولسیون‌ها می‌گردد. همچنین با شدت و سریع قطرات از بین دو بخش ثابت و متحرک موجب می‌شود قطراتی که نزدیک‌تر به تیغه‌های چرخان هستند، اندازه‌های کوچک‌تری داشته و بیشتر تحت تاثیر نیروهای برشی قرار می‌گیرند. نتایج بدست آمده با نتایج ارائه شده توسط گردوه و همکاران (۲۰۱۲)، تروتا و همکاران (۲۰۰۵)، هازندر و دوتونک (۲۰۰۴) و ویویک و همکاران (۲۰۰۷) همخوانی داشت (۹ و ۴۴ و ۱۵ و ۴۷).

از طرفی، همان‌طور که در جدول ۳ مشخص شده است، غیر از سرعت هموژنایزر، مقدار امولسیفایر و مواد جامد نیز بر اندازه قطرات امولسیون‌ها تاثیر معنی‌داری داشتند ($P < 0/05$) و با افزایش مقدار مواد جامد در سیستم، اندازه قطرات امولسیون کاهش یافت. برای یافتن دلیل اثر افزایش مواد جامد در امولسیون بر اندازه قطرات، ابتدا باید اثر بالا رفتن مقدار مواد جامد بر ویژگی‌های ذاتی

همان‌طور که در شکل‌های ۱ و ۲ مشخص شده است، هر سه متغیر مستقل می‌توانند بر اندازه قطرات نهایی امولسیون تاثیرگذار باشند اما در این بین، با بررسی جدول آنالیز واریانس (شماره ۳) مشخص شد که پارامتر خطی سرعت هموژنایزر، بالاترین مقدار F -value و پایین‌ترین مقدار P -value را داشت که به مفهوم معنی‌دار بودن بسیار زیاد این پارامتر بر پاسخ مورد نظر، که اندازه قطرات بود، می‌باشد. در نتیجه می‌توان اینگونه استنتاج کرد که سرعت هموژنایزر بیشترین تاثیر معنی‌دار را بر اندازه قطرات بررسی شده در امولسیون داشته و با افزایش دور هموژنایزر از ۱۴۰۰۰ به ۱۸۰۰۰، اندازه قطرات امولسیون به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/05$).

دلیل این امر را می‌توان این‌گونه توجیه کرد که افزایش دور در دقیقه، موجب افزایش انرژی و نیروی وارد شده بر سیستم می‌گردد و از طرفی قطرات روغن را با فشار و شدت بیشتری از بین قسمت‌های ثابت و متحرک هموژنایزر عبور می‌دهد که خود منجر به شکسته شدن ذرات به اندازه‌های کوچک‌تر

نیروی دافعه بین قطرات هم‌بار، می‌توانند از دو فاز شدن سریع امولسیون‌ها جلوگیری کنند (۳۳). طبیعتاً در صورت کم بودن مقدار امولسیفایر، قطرات به دلیل داشتن سطح به حجم بالا و همچنین نیروهای کششی زیاد، دارای انرژی آزاد سطحی، بالایی هستند، به-سرعت به سمت یکدیگر حرکت کرده و با برخورد و متصل شدن به هم، اندازه قطرات افزایش می‌یابد. از آن‌جا که در امولسیون‌ها اندازه قطرات باید کوچک شوند و در نتیجه مساحت سطحی (سطح به حجم) آن‌ها در هر صورت افزایش می‌یابد، تنها راه کاهش انرژی آزاد سطحی در بین قطرات امولسیون، یافتن راهی برای کم کردن نیروی کشش بین سطحی قطرات است که استفاده از امولسیوفایرها بهترین روش بدین منظور می‌باشد. لذا، مقدار امولسیفایر در امولسیون باید به حدی باشد که بتواند همه قطرات موجود در امولسیون را در بر گرفته و شرایطی پایدار به‌وجود آورد. اگر مقدار امولسیفایر کافی نباشد، نمی‌تواند تاثیر مثبتی در کوچک شدن قطرات و پایدار ماندن امولسیون داشته باشد. نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، با نتایج به‌دست آمده در پژوهش‌های انجام شده توسط گردوه و همکاران (۲۰۱۲)، سان و همکاران (۲۰۰۷)، قراب و همکاران (۲۰۰۴) و ژی و شیچانگ (۲۰۰۰) هم‌خوانی داشت (۹، ۱۳، ۴۰ و ۵۱). همانطور که در نتایج مشخص شده است، با افزایش مقدار لیکوپن، اندازه قطرات در امولسیون‌ها افزایش یافت. دلیل افزایش اندازه قطرات، هم‌زمان با افزایش مقدار لیکوپن در محیط، ممکن است به‌دلیل تاثیر منفی افزایش ویسکوزیته فاز گسسته بر عملکرد هم‌وزنایزر باشد. در واقع وقتی مقدار فاز گسسته افزایش می‌یابد، برای شکستن قطرات آن نیاز به انرژی و اعمال نیروهای بالاتری داریم که خود می‌تواند از طریق افزایش سرعت و زمان هم‌وزناسیون تامین شود. لذا در بازه سرعت‌های اندازه‌گیری شده در این

امولسیون مانند ویسکوزیته مورد بررسی قرار گیرد. افزایش مقدار مواد جامد موجب افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته که خود رابطه مستقیمی با ویسکوزیته کلی امولسیون دارد می‌شود، لذا در مجموع با افزایش مواد جامد در محیط، ویسکوزیته کل محیط امولسیون افزایش می‌یابد. از طرفی، با افزایش ویسکوزیته محیط، قطرات توزیع شده در سطح امولسیون توانایی حرکت کمتری داشته و نمی‌توانند به راحتی به یکدیگر بپیوندند (۲۵).

از طرفی، افزایش ویسکوزیته رابطه مستقیمی با نیروی برشی وارد شده به دیواره قطرات فاز گسسته دارد و نیروی برشی وارد شده توسط دیواره قطرات با افزایش مقدار ویسکوزیته فاز پیوسته، افزایش می‌یابد. افزایش این نیروی برشی بر دیواره‌های قطرات موجود در امولسیون، می‌تواند منجر به کاهش اندازه قطرات گردد (۵۱). همچنین، نیروی کششی ویسکوزی، یکی از نیروهایی است که بر جدا شدن قطرات تاثیر داشته و در مقابل نیروی نگهدارنده قطرات عمل می‌کند و هرچه بیشتر باشد، قطرات در حین جدا شدن از سطح غشایی اندازه کوچک‌تری پیدا می‌کنند. همان‌طور که مشخص است، با افزایش نیروی برشی وارد شده بر دیواره قطرات، مقدار نیروی کششی ویسکوزی افزایش پیدا می‌کند و قطرات تمایل بیشتری به جدا شدن خواهند داشت و جدا شدن آن‌ها راحت‌تر رخ می‌دهد، لذا اندازه قطرات کاهش پیدا می‌کند.

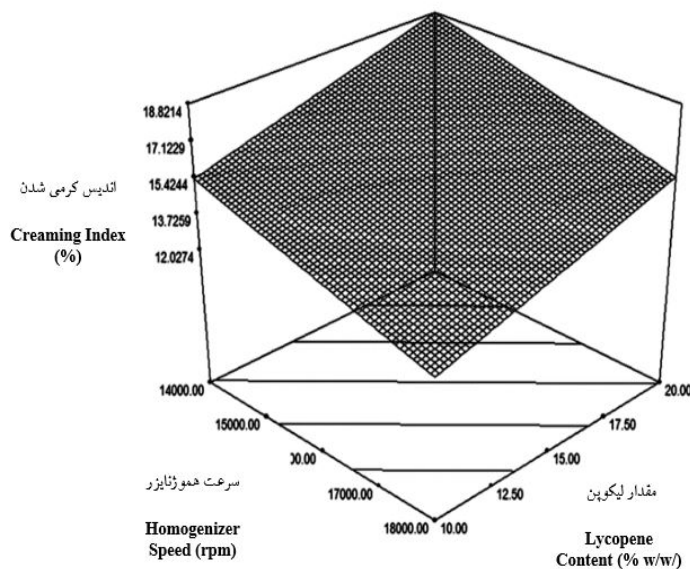
نکته دیگری که می‌تواند توجهی بر اثر مقدار مواد جامد بر اندازه قطرات باشد این است که افزایش مقدار مواد جامد در این پژوهش به معنی افزایش مقدار بیوپلیمرهایی است که نقش امولسیفایری نیز دارند. امولسیفایرها مواد فعال سطحی هستند که از طریق کاهش کشش بین سطحی قطرات، تشکیل لایه‌ای بین قطرات برای جلوگیری از اتصال مجدد آن‌ها و ایجاد بارهای الکتریکی بر سطح قطرات و

تغییرات اندیس کرمی شدن در برابر متغیرهای مستقل در شکل‌های ۳ و ۴ مشخص شده است. همان‌طور که در جداول آنالیز واریانس شماره ۵ مشخص شده است، اثر سرعت هموژنایزر، مقدار مواد جامد و مقدار لیکوپین بر اندیس کرمی شدن، معنی‌دار بود ($P < 0.05$).

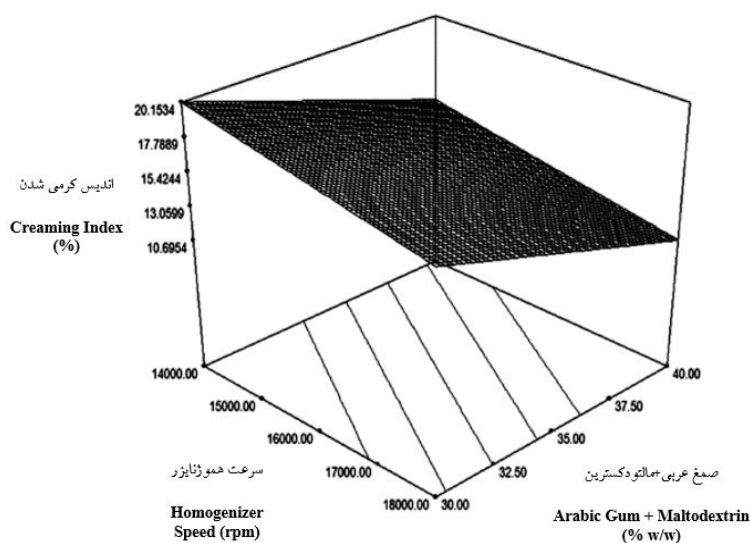
در مورد تاثیر افزایش سرعت و دور هموژنایزر بر کاهش اندازه قطرات بیشتر صحبت شد. در واقع هرچه قدر اندازه قطرات در امولسیون بزرگ‌تر باشد، سرعت حرکت آن‌ها تحت تاثیر تفاوت دانسیته در محیط امولسیون بیشتر شده و پدیده‌هایی مانند ته نشینی (در صورتی که دانسیته ذرات از دانسیته فاز پیوسته بیشتر باشد) و کرمی شدن (در صورتی که دانسیته ذرات کمتر از فاز پیوسته باشد) افزایش می‌یابد (۳). همچنین با افزایش حرکت ذرات، احتمال برخورد آن‌ها با یکدیگر و چسبیدن و بزرگ شدن قطرات بیشتر می‌شود که خود می‌تواند منجر به کرمی شدن گردد. این امر با بررسی قانون استوک قابل اثبات می‌باشد.

پژوهش، افزایش مقدار فاز گسسته موجب افزایش اندازه قطرات شد و نتایج به‌دست آمده با نتایج به‌دست آمده از تحقیقات گردوه و همکاران (۲۰۱۲) و منهرت و مادر (۲۰۰۱) محققین هم‌خوانی داشت (۹ و ۳۴). همچنین افزایش جزء حجمی فاز گسسته در یک امولسیون، می‌تواند موجب افزایش تعداد قطرات در محیط و بیشتر شدن احتمال برخورد و تصادم آن‌ها گردد که خود می‌تواند منجر به افزایش به‌هم آمیختگی مجدد و سرعت فلوکه شدن و بزرگ شدن اندازه قطرات گردد. نتایج به‌دست آمده با نتایج ارائه شده توسط سان و گوناسکاران (۲۰۰۹) و باتیستا و همکاران (۲۰۰۶) هم‌خوانی داشت (۴۱ و ۱).

تاثیر متغیرهای مستقل بر اندیس کرمی شدن: در این حالت نیز برای رسم این نمودارها نیز یک‌بار تاثیر دومتغیر مستقل سرعت هموژنایزر و مقدار لیکوپین و یک‌بار نیز اثر دو متغیر مستقل سرعت هموژنایزر و مقدار صمغ عربی+مالتودکسترین بر تغییرات اندیس کرمی شدن مورد بررسی قرار گرفت. در همه موارد، مقدار متغیر مستقل سومی که در شکل‌ها ترسیم نشده بود در مقادیر میانی خود ثابت نگه داشته شد. نتایج



شکل ۳: تاثیر سرعت هموژنایزر و مقدار لیکوپین بر اندیس کرمی شدن امولسیون‌های تولید شده با صمغ عربی+مالتودکسترین (۳۵ درصد)
Figure 3. Effect of homogenizer speed and lycopene on creaming index of emulsions of AG+MD (35%)



شکل ۴: تاثیر سرعت هموژنایزر و مقدار صمغ عربی + مالتودکسترین بر اندیس کرمی شدن امولسیون‌ها در مقدار ثابت لیکوپن (۱۵ درصد)
Figure 4. Effect of homogenizer speed and AG+MD on creaming index of emulsions at constant percent of lycopene (15%)

بر جداسازی لایه‌های امولسیون از یکدیگر خواهند داشت (۱۸ و ۳۳). از طرفی دیگر، مقادیر بالاتر مواد جامد در امولسیون باعث افزایش مقدار بیوپلیمرهایی است که نقش امولسیفایری داشتند. بدین ترتیب به دلیل فعالیت امولسیفایرها، حرکت و کشش قطرات به سمت یکدیگر محدود شده و برخورد آن‌ها با یکدیگر کم می‌شود و پدیده فلوکه شدن قطرات دیرتر رخ می‌دهد، لذا فرآیند کرمی شدن به تاخیر افتاده و کمتر می‌شود (۳). نتایج به دست آمده با نتایج تحقیقات ارائه شده توسط گرده و همکاران (۲۰۱۲)، طاهریان و همکاران (۲۰۱۱)، ماتسومیا و همکاران (۲۰۱۰)، جعفری و همکاران (۲۰۰۷c) و سان و همکاران (۲۰۰۷) هم‌خوانی داشت (۹، ۲۰، ۳۲، ۴۰ و ۴۲).

در نتایج مشخص شد که مقدار لیکوپن موجود در امولسیون‌ها نیز بر اندیس کرمی شدن تأثیری معنی‌دار داشته ($P < 0/05$) و با افزایش مقدار لیکوپن در امولسیون، پایداری آن کاهش یافته و اندیس کرمی شدن بیشتر شد. پیش‌تر اشاره شد که افزایش مقدار لیکوپن به‌عنوان فاز گسسته در امولسیون می‌تواند

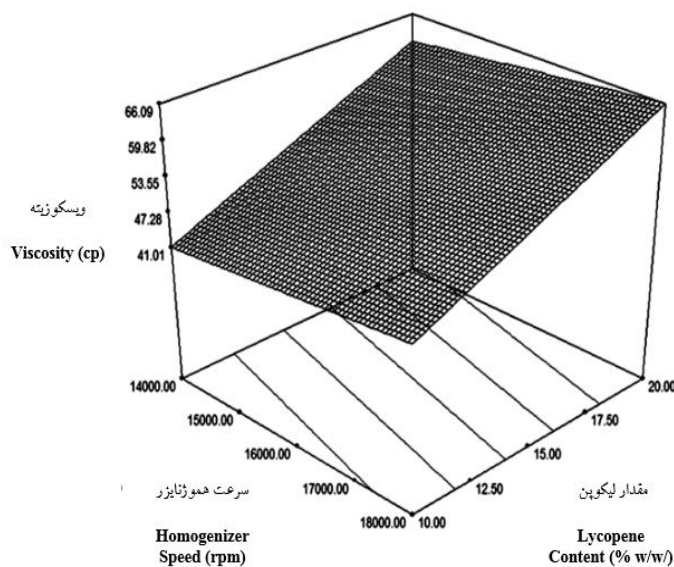
قانون استوک به منظور تعریف و اندازه‌گیری نیروهای اصطکاکی یا اصطلاحاً نیروهای درگ برای ذرات کروی بسیار کوچک که در سیستم‌هایی با جریان پیوسته و ویسکوز قرار دارند، ارائه شد. بر این اساس، با کاهش اندازه ذرات (کاهش شعاع)، سرعت حرکت ذرات در میان فاز پیوسته کاهش می‌یابد و در نتیجه، پدیده‌هایی مانند ته‌نشینی و کرمی شدن کمتر و دیرتر مشاهده خواهد شد. لذا هرچه قدر بتوانیم اندازه قطرات را کوچک‌تر کنیم، می‌توانیم پایداری در امولسیون را افزایش دهیم و این امر در نتایج به دست آمده نیز مشهود است. این نتایج با نتایج ارائه شده توسط یوان و همکاران در سال ۲۰۰۸، رابینز در سال ۲۰۰۰، میسون، ۱۹۹۹ هم‌خوانی داشت (۳۱، ۳۷ و ۵۰).

مقدار مواد جامد به دو شکل می‌تواند بر اندیس کرمی شدن تأثیر بگذارد. اولین مورد، از طریق افزایش ویسکوزیته امولسیون می‌باشد. در واقع با افزایش ویسکوزیته، سرعت حرکت ذرات در سیستم کمتر می‌شود و نیروی گرانش و تفاوت دانسیته، اثر کم‌تری

کرمی شدن داشتند و اندیس کرمی شدن در آن‌ها بیشتر بود. نتایج به دست آمده با نتایج ارائه شده توسط گردوه و همکاران (۲۰۱۲)، ماتسومیا و همکاران (۲۰۱۰) و منهرت و همکاران (۲۰۰۱) هم‌خوانی داشت (۹ و ۳۲ و ۳۴).

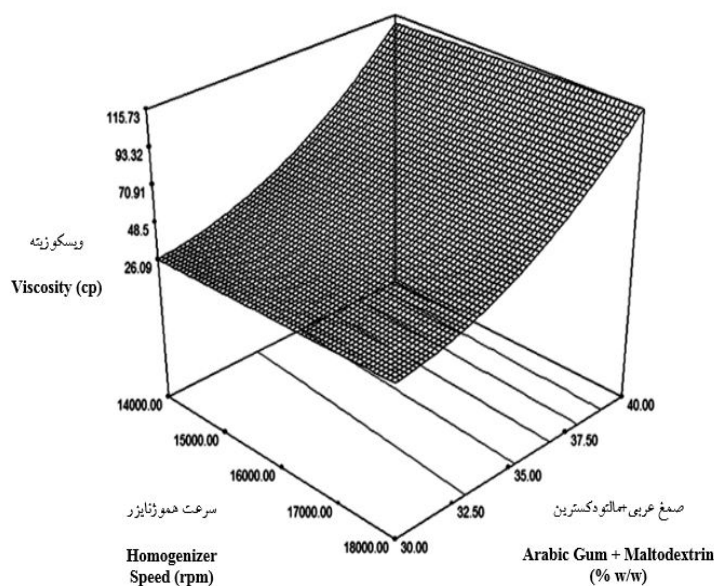
تاثیر متغیرهای مستقل بر ویسکوزیته امولسیون‌ها:
برای رسم نمودارهای سه‌بعدی و کنتور مربوط به ویسکوزیته نیز مانند آنچه پیش‌تر توضیح داده شد، یک‌بار اثر متغیرهای سرعت هموژنایزر و مقدار لیکوپن و یک‌بار نیز تاثیر متغیرهای سرعت هموژنایزر و مقدار صمغ عربی+مالتودکسترین بر تغییرات ویسکوزیته مورد بررسی قرار گرفتند. نحوه تغییرات ویسکوزیته با توجه به متغیرهای مستقل، در شکل‌های ۵ و ۶ مشخص شده است.

منجر به افزایش اندازه قطرات امولسیون گردد و برای رسیدن به امولسیونی پایدار با مقدار بیشتر لیکوپن، نیاز به افزایش انرژی ورودی به سیستم از طریق بالا بردن سرعت هموژنایزر یا افزایش زمان هموژن کردن می‌باشد. به همین دلیل در امولسیون‌هایی که سرعت هموژنایزر در آن‌ها کم‌تر بود، با افزایش مقدار لیکوپن به‌عنوان فاز گسسته، به دلیل ناکافی بودن انرژی برای شکستن ذرات به اندازه‌های کوچک، و بزرگ بودن قطرات موجود در امولسیون، فرآیند کرمی شدن به شکل چشم‌گیری افزایش یافت. در دوره‌های بالاتر اما اثر افزایش مقدار لیکوپن در امولسیون‌ها تا حدودی به دلیل بالا بودن دانسیته انرژی در سیستم خنثی شده و گرچه در هر صورت امولسیون‌هایی با محتوای بالاتر لیکوپن، تمایل بیشتری به جدا شدن فازی و



شکل ۵: تاثیر سرعت هموژنایزر و مقدار لیکوپن بر ویسکوزیته امولسیون‌های تولید شده با صمغ عربی+مالتودکسترین (۳۵ درصد)

Figure 5. Effect of homogenizer speed and lycopene on viscosity of emulsions of AG+MD (35%)



شکل ۶: تاثیر سرعت هموژنایزر و مقدار صمغ عربی+مالتودکسترین بر ویسکوزیته امولسیون‌ها در مقدار ثابت لیکوپن (۱۵ درصد)
 Figure 6. Effect of homogenizer speed and AG+MD on viscosity of emulsions at constant percent of lycopene (15%)

قطرات امولسیون تمایل بیشتری به نزدیک شدن به یکدیگر و ایجاد پیوندهای بین مولکولی داشته و این کشش و همچنین برخورد بیشتر قطرات با یکدیگر، موجب افزایش ویسکوزیته در امولسیون می‌گردد. نتایج به‌دست آمده با نتایج ارائه شده توسط دایک و همکاران (۲۰۰۷) و واتسون و ماکلی (۲۰۰۲) هم‌خوانی داشت (۷ و ۴۸).

همانطور که اشاره شد، تاثیر افزایش مواد جامد بر ویسکوزیته نیز معنی‌دار بود. در واقع با افزایش مقدار مواد جامد در محیط، تعداد مولکول‌های موجود در یک سیستم و ترکیباتی که قادر به جذب و به دام انداختن آب در ماتریس‌های خود می‌باشند، افزایش می‌یابد. ترکیبات بیوپلیمری اضافه شده به‌عنوان ماده جامد، مقدار آب آزاد موجود در محیط را کاهش داده و در نتیجه، روانی حرکت و لغزش مولکول‌ها روی یکدیگر کاهش می‌یابد و در نهایت ویسکوزیته که وابسته به میزان نیروهای مقاومت‌کننده در برابر جریان سیال است، افزایش می‌یابد. نتایج به‌دست آمده با نتایج ارائه شده توسط فرسالوویی و همکاران

نتایج بررسی جدول آنالیز واریانس ارائه شده در روش سطح پاسخ و همچنین نمودارهای سه‌بعدی و کتور نشان دهنده آن است که تغییر سرعت هموژنایزر، تاثیری اندک اما در مجموع معنی‌داری ($P < 0.05$) بر ویسکوزیته امولسیون‌های تولید شده داشت و با افزایش سرعت هموژناسیون، مقدار ویسکوزیته افزایش پیدا کرد. همچنین مقدار مواد جامد تاثیری به شدت معنی‌دار بر ویسکوزیته امولسیون‌ها داشتند ($P < 0.05$). از طرفی، مقادیر بالاتر لیکوپن نیز در امولسیون‌ها موجب افزایش ویسکوزیته کل سیستم گردید و تاثیر آن معنی‌دار بود ($P < 0.05$).

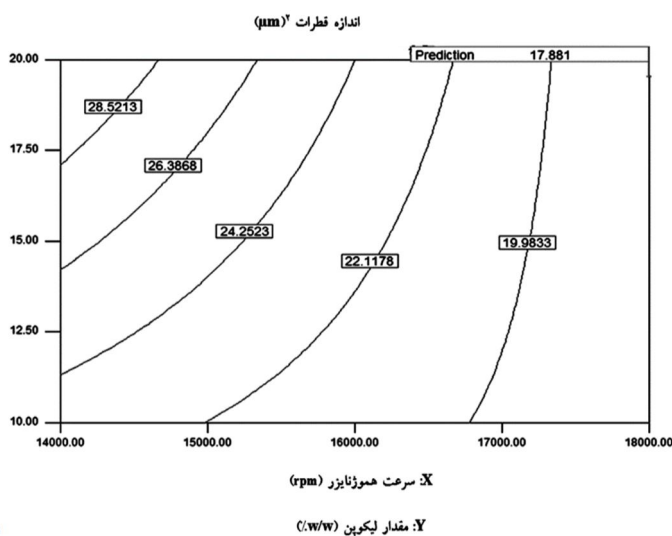
در مورد دلیل تاثیر سرعت هموژنایزر بر ویسکوزیته، می‌توان این‌گونه بیان کرد که با افزایش سرعت هموژنایزر، همان‌طور که پیش‌تر گفته شده، اندازه قطرات کاهش می‌یابد، از طرفی با کاهش اندازه قطرات، تعداد قطرات پراکنده در سیستم افزایش می‌یابد. کوچک شدن اندازه قطرات به معنی افزایش مساحت سطحی در آن‌هاست که خود منجر به افزایش انرژی آزاد سطحی در قطرات می‌شود. لذا

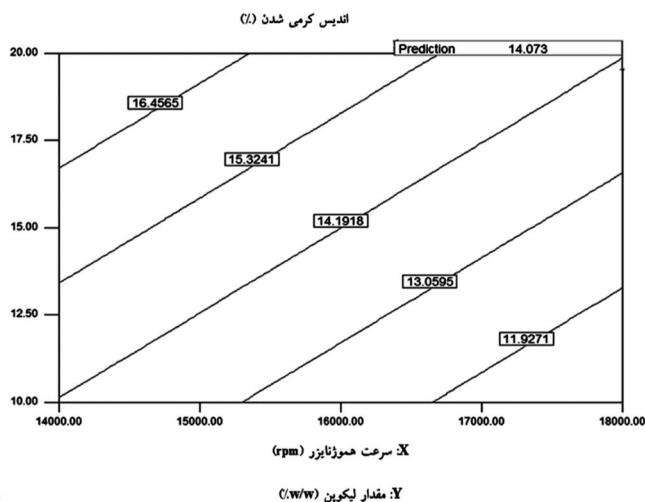
لیکوپن در کنسانتره صمغ عربی+مالتودکسترین، با توجه به آنچه پیش تر در مورد نحوه به دست آوردن نقاط بهینه گفته شد، ابتدا نمودارهای کنتور برای اندازه قطرات، اندیس کرمی شدن و ویسکوزیته امولسیون‌ها به‌عنوان توابعی از سرعت هموژنایزر و مقدار لیکوپن در یک غلظت مشخص از صمغ عربی و مالتودکسترین (۳۷/۰۲ درصد وزنی/وزنی) به دست آمدند که در شکل ۷ نشان داده شده‌اند. در این نمودارها، هر نقطه مشخص شده به‌عنوان نقطه بهینه، نشان دهنده نقطه‌ای است که در آن در سرعت مشخصی از هموژنایزر و مقدار تعیین شده‌ای از لیکوپن، می‌توان به حداقل اندازه قطرات و اندیس کرمی شدن و حداکثر ویسکوزیته مطلوب در راستای رسیدن به امولسیونی پایدار، دست یافت. با توجه به آنچه گفته شد، نقطه‌ای که در آن دور هموژنایزر معادل ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه و مقدار لیکوپن معادل ۱۹/۵۲ درصد وزنی/وزنی است، به‌عنوان شرایط مطلوب و منتخب در نظر گرفته شدند. همان‌طور که گفته شد، این مقادیر در نقطه بهینه‌ای با میزان ۳۷/۰۲ درصد وزنی/وزنی از صمغ عربی + مالتودکسترین به دست آمدند.

(۲۰۰۷) و ژی و شیچنگ (۲۰۰۰) هم‌خوانی داشت (۱۲ و ۵۱).

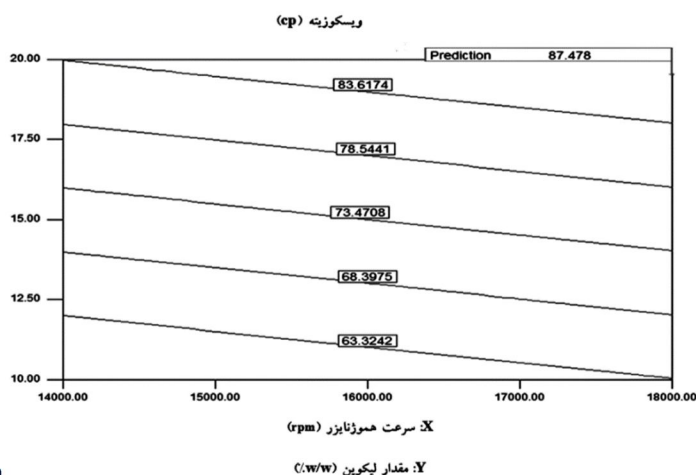
در مورد تاثیر معنی دار افزایش لیکوپن بر ویسکوزیته امولسیون‌ها، محققانی که در زمینه تغییرات رئولوژیکی در امولسیون‌ها پژوهش‌هایی انجام داده‌اند، عنوان داشته‌اند که یکی از مهم‌ترین عواملی که می‌تواند ویسکوزیته را تحت تاثیر قرار دهد، حجم فازی یا اصطلاحاً جزء حجمی فاز گسسته است که از تقسیم حجم قطرات فاز گسسته بر حجم کل امولسیون به دست می‌آید (۳۳). در واقع افزایش جزء حجمی منجر به افزایش ویسکوزیته کلی امولسیون‌ها می‌گردد. با افزایش مقدار فاز گسسته، برهمکنش بین قطرات این فاز افزایش یافته و به دلیل افزایش برهمکنش‌های هیدرودینامیکی و کلوئیدی و تاثیر این نیروها و برهمکنش‌ها بر جریان سیال، در نهایت ویسکوزیته کلی امولسیون افزایش می‌یابد. نتایج به دست آمده با نتایج ارائه شده توسط دلوزوسکا و همکاران (۲۰۰۶)، کیوئامادا و برلی (۲۰۰۲) و واتسون و ماکلی (۲۰۰۲) هم‌خوانی داشت (۸ و ۳۶ و ۴۸).

بهینه‌سازی شرایط تولید امولسیون‌ها با استفاده از مدل‌های سطح: برای یافتن نقاط بهینه امولسیون‌های





(ب، ب)



(ج، ج)

شکل ۷: نمودارهای کنتور برای اندازه قطرات (الف)، اندیس کرمی شدن (ب) و ویسکوزیته (ج) به عنوان تابعی از سرعت هموژنایزر و مقدار لیکوپن برای یافتن نقاط بهینه در مقدار صمغ عربی+مالتودکستریز ثابت ۳۷/۰۲ درصد وزنی/وزنی

Figure 7. Counter plots for droplet size (a), creaming index (b) and viscosity (c) as a function of homogenizer speed and lycopene to find optimized point at constant percent of AG+MD (37.02% w/w)

یافتن بهترین شرایط تولید امولسیون‌های لیکوپن در صمغ عربی+مالتودکستریز، از روش سطح پاسخ استفاده شد و بر اساس طرح ارائه شده توسط نرم افزار، سرعت دور هموژنایزر در سه سطح ۱۴۰۰۰، ۱۶۰۰۰ و ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه، مقدار مواد جامد در سه سطح ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درصد وزنی/وزنی و مقدار لیکوپن در سه سطح ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد وزنی/وزنی به عنوان متغیرهای مستقل اعمال شده و پاسخ‌ها که عبارت بودند از اندازه قطرات، اندیس کرمی شدن و ویسکوزیته، اندازه گیری و ثبت شدند. بر اساس نتایج

نتیجه گیری

با توجه به اینکه لیکوپن ترکیبی غیرقطبی است، برای پایدار سازی آن توسط بیوپلیمرهای محلول در آب، نیاز به اعمال تیمارهایی در راستای تولید امولسیون مناسب می‌باشد. از جمله عواملی که می‌تواند بر پایداری یک امولسیون تاثیرگذار باشند می‌توان به اندازه قطرات و ویسکوزیته اشاره کرد که خود تابعی از انرژی وارد شده به سیستم در راستای شکستن قطرات و همچنان مقدار و نوع مواد جامد و امولسیفایرها می‌باشند. در این تحقیق، در راستای

6. Choski, P.M. and Joshi, V.Y. 2007. A review on lycopene -extraction, purification, stability and application. *International Journal of Food Properties*. 10: 289-298.
7. Daik, R., Bidol, S., Abdullah, I. 2007. Effect of molecular weight on the droplet size and rheological properties of liquid natural rubber emulsion. *Malaysian Polymer Journal*. 2: 1. 29-38.
8. Dluzewska, E., Stobiecka, A., and Maszewska, M. 2006. Effect of oil phase concentration on rheological properties and stability of beverage emulsions. *ACTA Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*. 5: 2. 147-156.
9. Gardouh, A.R., Ghorab, M.M., and Abdel-Rahman, S.G.S. 2012. Effect of Viscosity, Method of Preparation and Homogenization Speed on Physical Characteristics of Solid Lipid Nanodroplets. *ARPN Journal of Science and Technology*. 2: 10. 966-1006.
10. Gharibzahedi, S.M.T., Mousavi, S.M., Hamed, M. and Khodaiyan, F. 2011. Application of response surface modeling to optimize critical structural components of walnut beverage. Emulsion with respect to analysis of the physicochemical aspects. *Food and Bioprocess Technology*. 10: 763-768.
11. Gharibzahedi, S.M.T., Mousavi, S.M., Hamed, M., Ghasemlou, M. 2012. Response surface modeling for optimization of formulation variables and physical stability assessment of walnut oil in-water beverage emulsions. *Food Hydrocolloids*. 26: 293-301.
12. Gharsallaoui, A. Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A. Saurel, R. 2007. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients. *Food Research International*. 40: 1107-112.
13. Ghorab, M.M., Abdel-salam, H. M. and Abdel-Moaty, M.M. 2004. Solid lipid Nanoparticles-effect of lipid matrix and surfactant on their physical characteristics *Bulletin of Pharmaceutical Sciences, Assiut Journal of agricultural sciences*. 27:155-159.

بدست آمده، هر سه تیمار مستقل تاثیر معنی داری بر ویژگی های اندازه گیری شده در امولسیون داشتند. بدین ترتیب که با افزایش سرعت هموژنایزر، اندازه قطرات و اندیس کرمی شدن بطور معنی داری کاهش یافته اما ویسکوزیته تا حدودی افزایش یافت. همچنین با افزایش مقدار مواد جامد در سیستم، ویسکوزیته افزایش یافت اما اندیس کرمی شدن و اندازه قطرات کاهش یافتند. مقدار لیکوپن اضافه شده در امولسیون نیز تاثیر بسزایی بر ویژگی های آن داشت بطوریکه با افزایش مقدار لیکوپن، ویسکوزیته، اندازه قطرات و اندیس کرمی شدن افزایش یافتند. همچنین در نهایت با اعمال فرآیندهای بهینه سازی، بهترین شرایط برای تولید پایدارترین امولسیون عبارت بود از ۰۲/۳۷٪ مواد جامد، ۵۲/۱۹٪ لیکوپن و سرعت ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه برای هموژنایزر.

منابع

1. Batista, A.P., Raymundo, A., Sousa, I., Empis, J. and Franco, J.M. 2006. Colored food emulsions implications of pigment addition on the rheological behavior and microstructure. *FOBI*. 1: 216-227.
2. Blanch, G.P., Castillo, M.L.R., Caja, M. M., Me'ndez, M. P. and Cortes, S. S. 2007. Stabilization of all Trans lycopene from tomato by encapsulation using cyclodextrins. *Food Chemistry*. 105: 1335-1341.
3. Boom, R.M. 2008. Food material science, emulsions: principles and preparation, 1th Ed. New York: Springer, Pp. 305-339.
4. Box, G., Hunter, J.S. 1957. Multifactor experimental designs for exploring response surfaces. *Analysis of Mathematics and Statistics*. 28: 195-241.
5. Chanamai, R., McClements, D.J. 2001. Prediction of emulsion color from droplet characteristics: dilute mono disperse oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*. 15: 83-91.

- gum. *Journal of Food Engineering*. 109: 1-8.
24. Kaushik, V. and Roos, Y.H. 2007. Limonene encapsulation in freeze-drying of gum Arabic-sucrose-gelatin system. *Food Science and Technology*. 40:1381-1391.
 25. Krieger, I.M. and Dougherty, T.J. 1959. A mechanism for non-Newtonian flow in suspensions of rigid spheres. *Transaction of the Society of Rheology*. 3:137-152.
 26. Krishnan, S., Bhosale, R. and Singhal, R.S. 2005. Microencapsulation of cardamom oleoresin: Evaluation of blends of gum arabic, maltodextrin and a modified starch as wall materials. *Carbohydrate Polymers*. 61:1. 95-102.
 27. Kvanaugh, C.J., Trumbo, P.R. and Ellwood, K. C. 2007. The US food and drug administration's evidence-based review for qualified health claims: Tomatoes, lycopene and cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. 99: 1074-1085.
 28. Liu, X.D., Atarashi, T., Furuta, T., Yoshii, H., Aishima, S., Ohkawara, M. and Linko, P. 2001. Microencapsulation of emulsified hydrophobic flavors by spray drying. *Drying Technology*. 19: 7. 1361-1374.
 29. Li, J.L., Cheng, Y.Q., Wang, P., Zhao, W.T., Yin, L.J. and Saiyo, M. 2012. A novel improvement in whey protein isolates emulsion stability: generation of an enzymatically cross-linked beet pectin layer using horseradish peroxidase. *Food Hydrocolloids*. 26: 448-455.
 30. Muthuvelayudham, R. and Viruthagiri, T. 2010. Application of Central Composite Design Based Response Surface Methodology in Parameter Optimization and on Cellulase Production Using Agricultural Waste. *International Journal of Chemical and Biological Engineering*. 3: 2. 97-104.
 31. Mason, T.G. 1999. New fundamental concepts in emulsion rheology. *Current Opinion in colloid and interface science*. 4: 231-238.
 32. Matsumiya, K., Takahashi, W., Inoue, T. and Matsumura, Y. 2010. Effects of
 14. Goula, A.M., Adamopoulos, K.G., Chatzitakis, P.C. and Nikas, V A. 2006. Prediction of lycopene degradation during a drying process of tomato pulp. *Food Engineering*. 74: 37-46.
 15. Haznedar, S., and Dortunc, B. 2004. Preparation and in vitro evaluation of Eudragit microspheres containing acetazolamide. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 269: 1. 131-140.
 16. Hogan, S.A., McNamee, B.F., O'Riordan, E. D. and O'Sullivan, M. 2001. Emulsification and microencapsulation properties of sodium caseinate/carbohydrate blends. *International Dairy Journal*. 11: 3. 137-144.
 17. Hogan, S.A., O'riordan, E.D. and O'sullivan, M. 2003. Microencapsulation and oxidative stability of spray-dried fish oil emulsions. *Journal of Microencapsulation*. 20: 5. 675-688.
 18. Huang, X., Kakuda, Y. and Cui, W. 2001. Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. *Food Hydrocolloids*. 15: 533-542.
 19. Ilia Anisa, A.N., Nour, A.H. 2010. Effect of viscosity and droplet diameter on water-in-oil (w/o) emulsions: an experimental study. *World Academy of Science, Engineering and Technology*. 38: 691-694.
 20. Jafari, S. M., He, Y. and Bhandari, B. 2007. Optimization of nano-emulsion production by microfluidization. *European Food Research and Technology*. 225: 733-741.
 21. Jafari, S.M., Assadpoor, E.B. and He, Y. 2008a. Nano-particle encapsulation of fish oil by spray drying. *Food Research International*. 41: 172-183.
 22. Jafari, S.M., Assadpoor, E., He, Y., Bhandari, B. 2008b. Encapsulation efficiency of food flavors and oils during spray drying. *Drying Technology*. 26: 7. 816-835.
 23. Jafari, S.M., Beheshti, P. and Assadpoor, E. 2012. Rheological behavior and stability of D-limonene emulsions made by a novel hydrocolloid (Angum gum) compared with Arabic

- oxidation in fish oil-in-water beverage emulsion. *Food Hydrocolloids*. 25: 868-878.
43. Tcholakova, S. 2010. Drop size in concentrated emulsions, obtained by rotor-stator homogenization. 5th World congress on emulsion, Lyon, France, 12-14 October.
 44. Trotta, M., Cavalli, R., Carlotti, M. E. Battaglia, L. and Debernardi, F. 2005. Solid lipid micro-particles carrying insulin formed by solvent in water emulsion diffusion technique. *International Journal of Pharmaceutics*. 288: 2. 281-288.
 45. Ushikobo, F. Y. and Cunha, R. L. 2014. Stability mechanisms of liquid water-in-oil emulsions. *Food Hydrocolloids*. 34: 145-153.
 46. Vivas, N., Vivas, D. G. N., Nonier, M. F and Nedjma. M. 2001. Effect of gum Arabic on wine astringency and colloidal stability. *Progres Agricole et Viticole*. 118: 8. 175-176.
 47. Vivek, K., Reddy, H. and Murthy, R. S. R. 2007. Investigation of the effect of the lipid matrix on drug entrapment, in vitro release and physical stability of olanzapine-loaded solid lipid nanoparticles. *American association of pharmaceutical scientists*. 8: 4. 1-9.
 48. Watson, D. J., and Mackley, M. R. 2002. The rheology of aqueous emulsions prepared by direct emulsification and phase inversion from a high viscosity alkyd resin. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 196: 121-134.
 49. Webb, J. L. A. 2009. The trade in gum Arabic: Prelude to French Conquest in Senegal. *The Journal of African History*. 26: 149-168.
 50. Yuan, Y., Gao, Y., Mao, L. and Zhao, J. 2008. Optimization of conditions for the preparation of β -carotene Nano-emulsions using response surface methodology. *Food Chemistry*. 107: 1300-1306.
 51. Zhi, W. and Shichang, W. 2000. Effect of continuous phase viscosity on membrane emulsification. *Chinese Journal of Chemical Engineering*. 8: 2. 108-112.
 - bacteriostatic emulsifiers on stability of milk-based emulsions. *Journal of Food Engineering*. 96: 185-191.
 33. McClements, D. J. 2005. *Food emulsions: Principles, practice, and techniques*. 2nd ed, BocaRaton, FL: CRC Press, p. 609.
 34. Mehnert, W., Mader, K. 2001. Solid lipid Nano-droplets: production, characterization and applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 47: 165-196.
 35. Nunes, I. L. and Mercadante, A. Z. 2007. Encapsulation of Lycopene Using Spray-Drying and Molecular Inclusion Processes. *International Journal of Brazilian Archives of Biology and Technology*. 50: 5. 893-900.
 36. Quemada, D. and Berli, C. 2002. Energy of interaction in colloids and its implications in rheological modeling. *Journal of Colloid and Interface Science*. 98: 51-85.
 37. Rabins, M.M. 2000. Emulsions creaming phenomena. *Current Opinion in colloid and interface science*. 5: 265-272.
 38. Rocha, G. A., Trindade, C. S. F. and Grosso, C.R.F. 2012. Microencapsulation of lycopene by spray drying: characterization, stability and application of microcapsules. *Food and Bio products processing*. 90: 37-42.
 39. Shu, B., Yu, W., Zhao, Y. and Liu, X. 2006. Study on microencapsulation of lycopene by spray drying. *Food Engineering*. 76: 664-669.
 40. Sun, C., Gunasekaran, S. and Richards, M. P. 2007. Effect of xanthan gum on physicochemical properties of whey protein isolate stabilized oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*. 21: 555-564.
 41. Sun, C., and Gunasekaran, S. 2009. Effects of protein concentration and oil phase volume fraction on the stability and rheology of menhaden oil-in-water emulsions stabilized by whey protein isolate with xanthan gum. *Food Hydrocolloids*. 23: 165-174.
 42. Taherian, A.R., Britten, M., Sabik, H. and Fustier, P. 2011. Ability of whey protein isolate and/or fish gelatin to inhibit physical separation and lipid

Optimization of lycopene in Arabic Gum and Maltodextrin Emulsions by Response Surface Methodology

A. Salimi^{*1}, Y. Maghsoudlou², S. M. Jafari², A. Sadeghi Mahounak³,
M. Kashaninejad², A. M. Ziaifar³

¹Assistant Professor of food science and technology, Veterinary department,
Semnan University, Semnan, Iran

²Professor, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural
Science and Natural Resources, Gorgan, Iran

³Associate professor, Department of Food science and Technology, Gorgan University of Agricultural
Science and Natural Resources, Gorgan, Iran

Received: 2016/03/01; Accepted: 2017/11/18

Abstract

Background and objectives: Lycopene is a carotenoid pigment with positive effects on human health. It has been proved that lycopene can prevent some severe diseases such as cancer but because of multi unsaturated bonds, it is very sensitive to environmental conditions. Its fast deterioration during processing, always was a reason for not being used commonly in food industry. A method for controlling its deterioration is encapsulation and covering it by biopolymers in capsules. As lycopene is not a polar agent, the first step is producing emulsions with high stability.

Material and Methods: In this investigation, Arabic gum and maltodextrin were used as water soluble solid materials in lycopene emulsions. In order to prepare emulsions, lycopene was solved in edible oil to make a 5% oily lycopene, then Arabic gum and maltodextrin were solved in distilled water separately and stayed over a night to be sure of complete solvation, then prepared materials were used for emulsion production step. During emulsion processing, speed of homogenizer rotation (rpm), percentage of solid materials (w/w) and lycopene (w/w) were considered as independent variables and results were optimized by using Response Surface Methodology (RSM) method and Central Composite Design (CCD). Alpha was “1” because face center option was chosen. The software which was used to optimize the process was “design expert version 6.0.2. According to RSM worksheet, effect of three independent variable including speed of homogenizer (14000-18000 rpm), percentage of solid materials (Arabic gum +maltodextrin, 30-40% w/w) and percentage of lycopene (10-20% w/w) on three dependent variable including droplet size, creaming index and viscosity as response was investigated.

Results and Discussions: Results showed that, homogenizer speed and percentage of solid materials and lycopene, had significant effect ($p < 0.05$) on all dependent variables. Higher speeds of homogenizer resulted to smaller droplet size and less creaming index but viscosity raised dramatically. Inversely, Increasing of solid materials in system, resulted to lowering droplet size and creaming index but increased viscosity. On the other hand, with increasing lycopene content, droplet size, creaming index and viscosity were increased. Finally, by optimizing the process by RSM, best conditions for producing a stable emulsion could be achieved by using 37.025 w/w solid materials, 19.52% w/w lycopene and at speed of 18000 rpm.

Conclusion: Results showed that in order to produce a proper and stable emulsion, it is necessary to increase speed of homogenizer and amount of solid materials but this should not cause very high viscosity and re-coalescence of droplets due to over processing which can effect emulsion stability.

Keywords: Lycopene, Arabic Gum, Maltodextrin, Emulsion, Response Surface Methodology

* Corresponding author: a.salimi@semnan.ac.ir