

## تولید میکروکپسول های امگا-3 با روش کوآسرواسیون

## هدیه علوی طلب

استادیار و عضو هیات علمی، دکترای تخصصی، گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران

## چکیده

**سابقه و هدف:** سه اسید چرب امگا-3 که شامل آلفا لینولنیک اسید (ALA)، ایکوزا پنتانویک اسید (EPA) و دوکوزا هگزانوئیک اسید (DHA) هستند در جلوگیری از بیماری های قلبی-عروقی نقش مهمی ایفا می کنند. افزودن میکروکپسول های امگا-3 به شیر و آبمیوه به منظور غنی سازی، ضمن آنکه باعث افزایش مدت زمان ماندگاری امگا-3 می شود، پایداری آن را نیز در برابر اکسیژن افزایش می دهد.

**روش بررسی:** میکروکپسول های امگا-3 روغن کپور نقره ای به روش توده ای شدن ترکیبی با ژلاتین و صمغ عربی انجام گرفت. اثر دوره های متفاوت هم‌زن، اثر قدرت یونی با استفاده غلظت های متفاوت نمک و اثر دستگاه هم‌زنایزر در دوره های بال بر روی شکل ظاهری و میانگین اندازه میکروکپسول ها مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته ها:** میانگین اندازه میکروکپسول ها در دوره های 100 rpm، 300 rpm، 500 rpm، 750 rpm و 1000 rpm به ترتیب برابر با  $537/2 \pm 0/8 \mu m$ ،  $84/4 \pm 0/5 \mu m$ ،  $12/98 \pm 0/4 \mu m$ ،  $8/24 \pm 0/5 \mu m$  و  $4 \pm 0/7 \mu m$  بود. در غلظت 0/1 مولار نمک، میانگین اندازه میکروکپسول ها به  $3/3 \pm 0/2 \mu m$  رسید.

**نتیجه گیری:** این بررسی نشان می دهد که شرایط بهتر برای تهیه میکروکپسول ها در دور هم‌زن 1000 rpm و غلظت 0/1 مولار نمک می باشد. میکروکپسول های به دست آمده با چنین شرایطی در دوره های 15000 rpm تا 75000 rpm هم‌زنایزر پایدار باقی ماندند.

**واژگان کلیدی:** ژلاتین، صمغ عربی، قدرت یونی، امگا-3، توده ای شدن ترکیبی.

## مقدمه

محیطی کاملاً سازگار بوده و در تمام طول مدت سال در دسترس است، بنابراین به دلیل فراوانی این گونه ماهیان، تولید امگا-3 از باقی مانده ها و گوشت آن نیز مقرون به صرفه است (1)، لذا بر آن شدیم که با ارائه یک تحقیق کاربردی بتوانیم یک ماده با ارزش و مورد نیاز در صنایع غذایی و دارویی تولید کنیم. نسبت ماهیان گرمابی جهت پرورش به ترتیب کپور نقره ای 60-55%، کپور معمولی 20%، کپور آمور یا علفخوار 20-15% و کپور سرگنده 10-5% در نظر گرفته شده است (2). EPA برای کنترل فعالیت های عروقی، کنترل فرآیندهای التهابی، کنترل فرآیندهای انعقاد خون در تنظیم مواردی مانند التهاب، درد و ورم، فشارخون و ساختمان قلب نقش کلیدی دارد (3،4). DHA نیز با شرکت در ساختار شبکیه چشم، بافت خاکستری مغز و سیستم تولید مثل باعث عملکرد صحیح

تهیه میکروکپسول های حاوی روغن ماهی می تواند گامی در جهت جلوگیری از واردات امگا-3 کشور و عدم خروج ارز باشد. با توجه به نیاز مصرفی اسیدهای چرب امگا-3 در زمینه های غذایی و دارویی و از طرفی با توجه به وجود دو دریای بزرگ در شمال و جنوب کشور و ماهیان و آبزیان موجود در آن که می توانند منبع مهمی از امگا-3 باشند، اما مقادیر زیادی از باقی مانده های این ماهیان و آبزیان به صورت باقی مانده های بی استفاده باعث آلودگی محیط زیست می شود، همچنین چون کپور نقره ای با شرایط

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی، دکتر هدیه علوی طلب

(email: halavi@iautmu.ac.ir)

تاریخ دریافت مقاله: 1390/1/25

تاریخ پذیرش مقاله: 1390/7/25

erck) اضافه شد. از پلی وینیل الکل به عنوان حلال و افزایش دهنده قدرت یونی استفاده شد (14). در این مرحله، pH حدود 4/5-5 (Metrohm, Japan) بود که پایین تر از نقطه ایزوالکتریک ژلاتین بود و بنابراین ژلاتین با بار مثبت و صمغ عربی با بار منفی توانستند تشکیل توده دهند. در حین فرایند مخلوط کردن، قدرت یونی مخلوط توسط نمک طعام (NaCl, Merck) با غلظت های متفاوت 0/05، 0/1، 0/2 و 0/3 مولار تنظیم شد که بهترین میزان آن غلظت 0/1 مولار نمک بود. افزودن نمک به میزان زیاد فرایند میکروکپسولاسیون را متوقف می کند (15، 11). مرحله بعد مربوط به مستحکم سازی دیواره میکروکپسول ها بود که از گلو تار آلدهید (Gluteraldehyde, Merck) استفاده شد (7). پارامترهای تغییر داده شده در این آزمایش، دور همزن (Heidolph, Germany) 100، 300، 500، 750 و 1000 rpm و کلرید سدیم با غلظت های متفاوت بود. سپس مورفولوژی و میانگین اندازه میکروکپسول ها با میکروسکوپ نوری (Carl zeiss, Germany) و پارتیکل سائز آنالایزر (Leica DMLB, Germany) مورد ارزیابی قرار گرفت و در نهایت پایداری میکروکپسول ها با استفاده از همزنایزر (Heidolph, Silent crushers, Taiwan) در دوره های متفاوت بررسی شد. تمام نتایج به دست آمده در این مطالعه بر اساس تعداد آزمایشات بیست تایی استوار بودند که با گرفتن میانگین و محاسبه انحراف معیار میزان تغییرات محاسبه شد. از نرم افزار آماری SPSS برای تجزیه و تحلیل داده ها استفاده شد.

### یافته ها

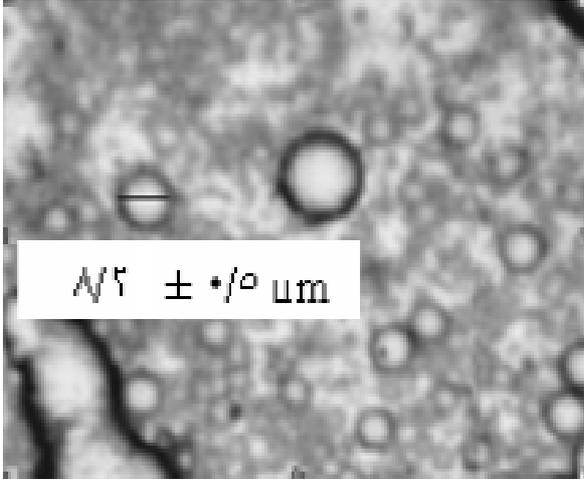
شکل ظاهری و میانگین اندازه میکروکپسول ها در دوره های متفاوت همزن از 100 rpm تا 1000rpm، بین  $4 \pm 0/7 \mu\text{m}$  (n=20) تا  $537/2 \pm 0/8 \mu\text{m}$  (n=20) متغیر بود. اندازه گیری ذرات توسط دستگاه پارتیکل سائز آنالایزر انجام گرفت و نتایج آن در شکل های 1 تا 5 نشان داده شده است. همانطور که این اشکال نشان می دهند، با افزایش سرعت همزن، میکروکپسول ها دارای اندازه های کوچک تر و محدودتری می شوند. سپس جهت بررسی پایداری میکروکپسول ها از همزنایزر با دوره های 75000-15000 rpm استفاده شد.

آنها می شود (5). تکنیک میکروکپسولاسیون در صنایع غذایی و دارویی برای حفاظت از آنزیم ها، حفظ طعم داروی کپسوله شده و کنترل رهش به کار می رود. یکی از شیوه های آن میکروکپسولاسیون توده ای است. توده ای شدن ترکیبی بر پایه تشکیل کمپلکس بین پلیمرهای دارای بار مخالف می باشد. در این تکنیک، از ژلاتین و صمغ عربی استفاده می شود (6). فرایند میکروکپسول کردن سبب بهبود و افزایش ماندگاری مواد هسته ای می شود (7). توده ای شدن ترکیبی در pH های کمتر از pH ایزوالکتریک ژلاتین معتبر است. در این pH ها ژلاتین دارای بار مثبت و صمغ عربی دارای بار منفی است. ماده هسته در محلول ژلاتین یا صمغ عربی پخش می شود (8). بررسی Heinzelman در سال 2000 نشان داد که یک پایداری اکسیداسیونی قابل قبولی در میکروکپسولاسیون که با استفاده از روش خشک کن انجمادی (Freeze Drying) انجام می شود می تواند به دست آید (9)، در صورتی که دانشمند دیگری به نام Marquez-Ruiz در سال 1999 نشان داده بود که به طور قابل ملاحظه ای اکسیداسیون در روغن میکروکپسوله شده با روش انجمادی حتی در مقایسه با روغن بدون پوشش سریع تر اتفاق می افتد (10). در مقاله دیگری در سال 2007 توسط Klaypradit & Wen Huang کپسوله کردن روغن ماهی با کایتوسان (Chitosan) بررسی شد (11). کایتوسان فرایندهای ضایعات پوسته میگو به دست می آید. در این آزمایش تهیه امولسیون با مواد پوشاننده ای مانند کایتوسان (CS)، مالتودکسترین (MD)، پروتئین پنیر (WPI) و روغن ماهی تون اپتیمایز گردید (12). نتایج پایداری و امولسیون اندازه ذرات نشان داد که برخورد مواد پوشاننده بین CS و MD بهترین ظرفیت را دارد، چون از ناپایداری امولسیون جلوگیری کرده و کوچکترین اندازه ذرات را می دهد (12). در مقاله دیگری در سال 2006، Stephan Drusch و همکاران روغن ماهی را با روش خشک کن پاششی با گلوکز سیروپ (Glucose syrup) و ترهالوز (Trehalose) کپسوله کردند و نشان دادند که ترهالوز قابلیت بهتری برای میکروکپسولاسیون دارد (13).

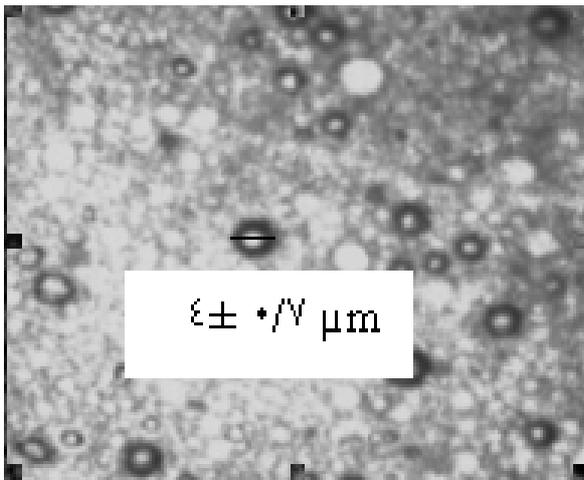
### مواد و روشها

این مطالعه بر اساس نتایج آزمایشگاهی بود. ابتدا مخلوط روغن و پلی وینیل الکل (Polyvinyl alcohol, Merck) به محلول صمغ عربی و ژلاتین (Gum Arabic and Gelatin, M

تقاطعی به کوچکتر شدن اندازه میکروکپسول‌ها و کروی‌تر شدن آنها کمک مؤثری می‌نماید (7). همچنین اثر پلی وینیل الکل نیز در کوچک‌تر شدن اندازه میکروکپسول‌ها بسیار قابل توجه است.

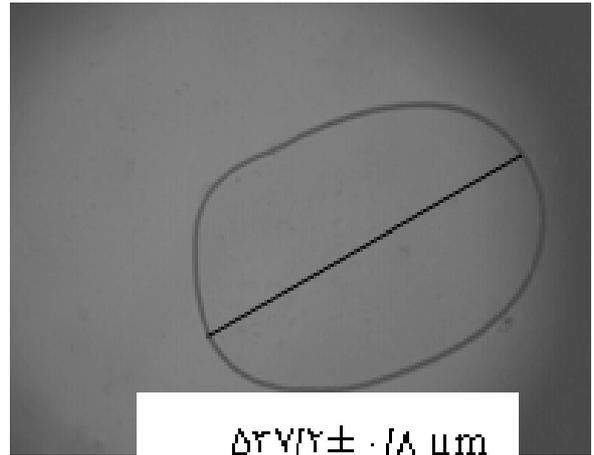


شکل 4- میانگین اندازه میکروکپسول‌ها در 750 rpm با بزرگنمایی 100×

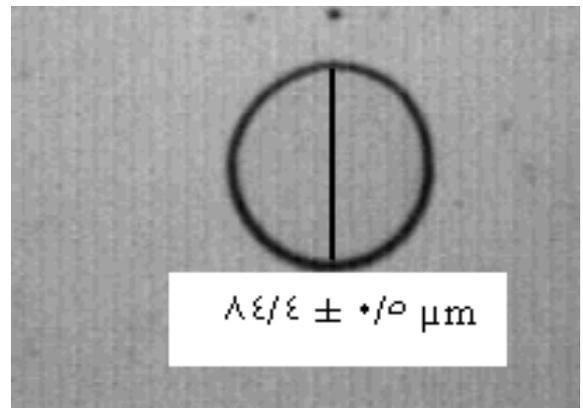


شکل 5- میانگین اندازه میکروکپسول‌ها در 1000 rpm با بزرگنمایی 100×

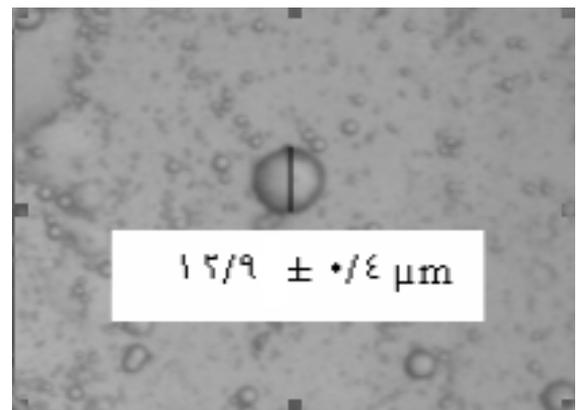
پلی وینیل الکل یک عامل افزایش دهنده قدرت یونی است و اثر قدرت یونی در فرآیند توده‌ای شدن ترکیبی یک اثر کلیدی و مهم است. پلی وینیل الکل به علت دارا بودن قدرت یونی زیاد استحکام محلول را بالا برده و اندازه میکروکپسول‌ها را کوچک‌تر می‌نماید. در جدول 1 با مقایسه شرایط مختلف عملیاتی در روش توده‌ای شدن ترکیبی می‌توان نتیجه گرفت که بهترین شرایط تهیه میکروکپسول در دور هم‌زن 1000rpm، همراه با پلی وینیل الکل و گلو تار آلدئید است که در این صورت شکل ظاهری میکروکپسول‌ها کروی‌تر و



شکل 1- میانگین اندازه میکروکپسول‌ها در 100 rpm با بزرگنمایی 30×



شکل 2- میانگین اندازه میکروکپسول‌ها در 300 rpm با بزرگنمایی 100×

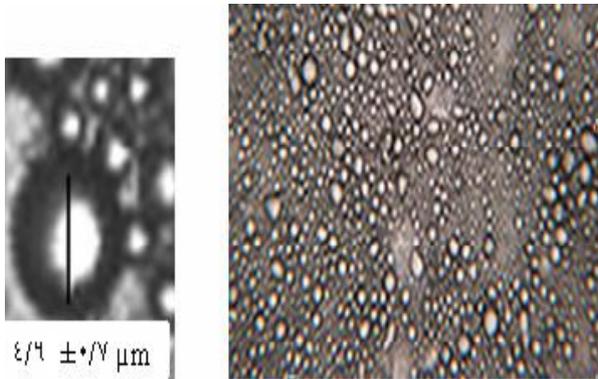


شکل 3- میانگین اندازه میکروکپسول‌ها در 500 rpm با بزرگنمایی 100×

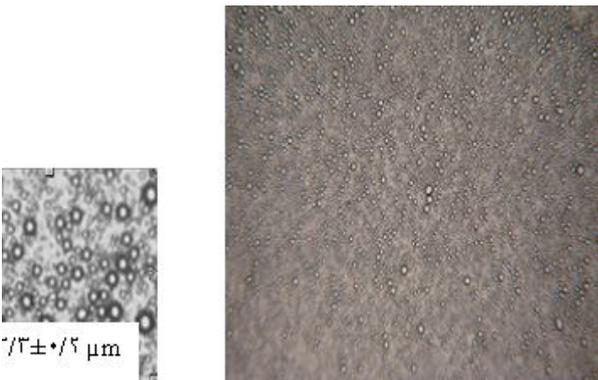
### بحث

همان‌طور که در شکل‌های 1 تا 5 مشخص است، افزایش سرعت هم‌زن باعث کروی‌تر شدن میکروکپسول‌ها و کوچک‌تر شدن اندازه آنها می‌شود (15، 16). گلو تار آلدئید با ایجاد شبکه

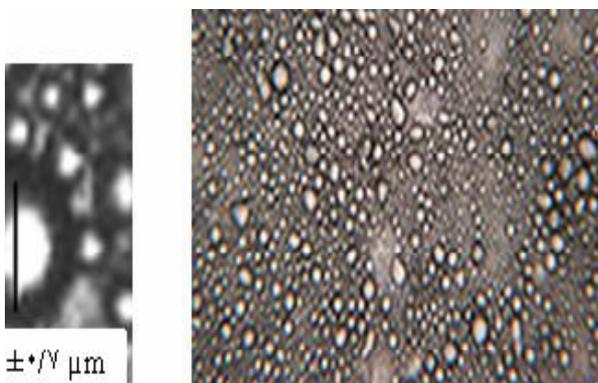
جداره میکروکپسول ها وارد شده و از متلاشی شدن و در نهایت اکسیداسیون امگا-3 در این مواد غذایی جلوگیری می شود. در صورتی که در بهترین حالت میانگین اندازه ذرات با روش خشک کن پاششی در مقالات موجود بین 4-8 میکرومتر گزارش شده است (19,18).



شکل 6- مورفولوژی و میانگین اندازه میکروکپسول ها در غلظت 0/05 مولار نمک با بزرگنمایی  $\times 100$



شکل 7 -مورفولوژی و میانگین اندازه میکروکپسول ها در غلظت 0/1 مولار نمک با بزرگنمایی  $\times 100$



شکل 8- مورفولوژی و میانگین اندازه میکروکپسول ها در غلظت 0/2 مولار نمک با بزرگنمایی  $\times 100$

یکنواخت تر شده و اندازه میکروکپسول ها به  $4 \pm 0.7 \mu\text{m}$  می رسد. جهت کنترل اندازه نهایی میکروکپسول ها از نمک طعام با غلظت های متفاوت 0/05 مولار، 0/1 مولار، 0/2 مولار و 0/3 مولار استفاده شد.

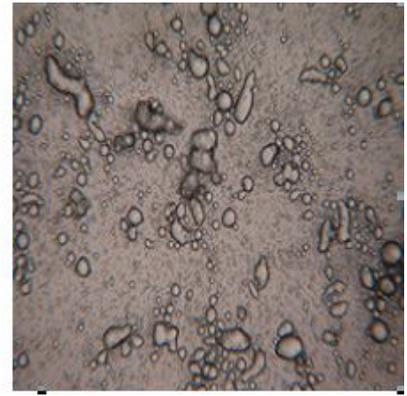
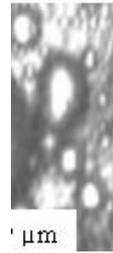
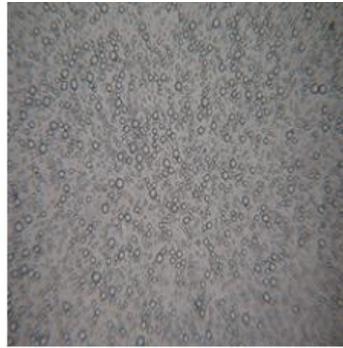
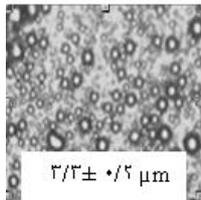
**جدول 1- مقایسه میانگین اندازه میکروکپسول ها در شرایط مختلف عملیاتی به روش توده ای شدن ترکیبی**

اندازه ذرات ( $\mu\text{m}$ )	افزودن غلظت های متفاوت نمک (مولار)	سرعت همزن (rpm)
$537.2 \pm 0.8$	-	100
$84.4 \pm 0.5$	-	300
$12.9 \pm 0.4$	-	500
$8.2 \pm 0.5$	-	750
$4 \pm 0.7$	-	1000
$4.9 \pm 0.7$	0/05	1000
$3.3 \pm 0.2$	0/1	1000
$4.9 \pm 0.7$	0/2	1000
$6.5 \pm 0.5$	0/3	1000

نمک طعام نیز به علت داشتن قدرت یونی بالا می تواند در جدایش فازی و توده ای شدن بهتر کمک کند و همان طور که شکل های 6 تا 9 نشان می دهد افزودن نمک با غلظت 0/1 مولار اندازه میکروکپسول ها را به  $3.3 \pm 0.2 \mu\text{m}$  کاهش می دهد. اما در غلظت های 0/05، 0/2 و 0/3 مولار نمک، اندازه میکروکپسول ها یک مرتبه افزایش می یابد که نتیجه نامطلوبی است، زیرا افزودن نمک از توده ای شدن میکروکپسول ها جلوگیری می کند. بنابراین در بهترین شرایط، افزودن نمک با غلظت 0/1 مولار می باشد که اندازه میکروکپسول ها نسبت به قبل کاهش مطلوبی داشته و به  $3.3 \pm 0.2 \mu\text{m}$  رسیده است. مزیت این روش نسبت به مطالعات قبلی این است که جهت انجام فرآیند میکروکپسولاسیون از روش ساده و ارزان قیمت توده ای شدن ترکیبی (coacervation) استفاده شد که مانند روش های انجمادی و خشک کن پاششی نیاز به تجهیزات خاصی ندارد. ضمن آنکه در روش انجمادی طبق مقالات موجود تخلخل هایی در محصول ایجاد می شود که اجازه می دهد اکسیداسیون محصول زودتر اتفاق بیفتد (17).

با روش کوآسرواسیون ترکیبی توانستیم میانگین قطر میکروکپسول ها را به  $3.3 \pm 0.2 \mu\text{m}$  برسانیم، زیرا هرچه قطر میکروکپسول ها کوچکتر باشد در هنگام هموژن کردن آن با شیر و آبمیوه جهت غنی سازی مواد غذایی، آسیب کمتری به

روش انتخابی و شرایط مختلف عملیاتی تهیه میکروکپسول‌ها موفقیت آمیز بوده است و در مقیاس پایلوت و صنعتی پیشنهاد می‌گردد.



شکل 9- مورفولوژی و میانگین اندازه میکروکپسول‌ها در غلظت 0/3 مولار نمک با بزرگنمایی  $\times 100$

شکل 10- مورفولوژی و میانگین اندازه میکروکپسول‌ها در هموژنایزر با دور 15000-75000 rpm با بزرگنمایی  $\times 100$

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری‌های مؤسسه تحقیقات شیلات ایران تشکر و قدردانی می‌نمایم.

جهت بررسی پایداری و مدت زمان ماندگاری میکروکپسول‌ها از دستگاه هموژنایزر با 5 دور متفاوت **rpm 15000**، **rpm 30000**، **rpm 45000**، **rpm 60000** و **rpm 75000** استفاده شد که همان طور که شکل 10 نشان می‌دهد میکروکپسول‌های تهیه شده در این شرایط، در دوره‌های هموژنایزر از بین نرفتند و کوچکترین اندازه خود یعنی  $3/3 \pm 0/2 \mu\text{m}$  را حفظ کردند.

این نتایج نشان می‌دهد که دیواره میکروکپسول‌ها استحکام داشته و در دور هموژنایزر **rpm 75000** نیز گسسته نشده و همچنان پایدار باقی مانده است. این امر نشان می‌دهد که

### REFERENCES

1. Alizadeh M. Carp fish culture. Iranian Fisheries research Organization .1380; 2-9.[In Persian]
2. Annual Statistics of Iranian Fisheries. Planning and development office of Iranian Fisheries Organization. 2008; 1-63. [In Persian]
3. Shojaei A. Investigation of Kilka Oil for Edible Usage. Ecology of Caspian Sea. Iranian Fisheries research Organization .1378-1380; 29-38.[In Persian]
4. Rezaei SH, What is omega-3 fatty acid? Standard Journal 2001; 24: 2-5. [In Persian]
5. Szentmihályi K, Vinkler P, Lakatos B, Illés V, Then M. Rose hip (*Rosa canina* L.) oil obtained from waste hip seeds by different extraction methods. Bioresour Technol 2002; 82: 195-201.
6. Tajdaran R. Saffron Microencapsulation (Dissertation). Tehran: Islamic Azad University; 2007. [In Persian]
7. Drusch S, Benedetti S, Scampicchio M, Mannino S. Stabilisation of omega-3 fatty acids by microencapsulation .Focus on omega-3. Agro Food industry hi-tech 2008; 19: 31-32.
8. Abbasi S. Technology of microencapsulation and use in food industrial. Standard Journal 1997; 68: 25-30. [In Persian]
9. Heinzelmann K, Franke K. Using freezing and drying techniques of emulsions for the microencapsulation of fish oil to improve oxidation stability. Colloids Surf B Biointerfaces 1999; 12: 223-29.
10. Zuta CP, Simpson BK, Chan HM, Phillips L. Concentrating PUFA from Mackerel processing waste. JAOCS 2003; 80: 933-36.
11. Dong ZJ, Xia SQ, Hua S, Hayat K, Zhang XM, Xu SY. Optimization of cross-linking parameters during production of transglutaminase-hardened spherical multinuclear microcapsules by complex coacervation. Colloids Surf B Biointerfaces 2008; 63: 41-47.
12. Kolanowski W, Laufenberg G, Kunz B. Fish oil stabilisation by microencapsulation with modified cellulose. Int J Food Sci Nutr 2004; 55: 333-43.

13. Drusch S, Yvonne S, Van Den Heuvel A, Schwarz K. Physicochemical characterization and oxidative stability of fish oil encapsulated in an amorphous matrix containing trehalose. *Food Res Int* 2006; 39: 807-15.
14. Versic RJ. Coacervation for flavor encapsulation. *J Microencapsul* 2003; 14: 126-131.
15. Dong ZJ, Touré A, Jia CS, Zhang XM, Xu SY. Effect of processing parameters on the formation of spherical multinuclear microcapsules encapsulating peppermint oil by coacervation. *J Microencapsul* 2007; 24: 634-46.
16. Chang CP, Leung TK, Lin SM, Hsu CC. Release properties on gelatin-gum Arabic microcapsules containing camphor oil with added polystyrene. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2006; 50: 136-40.
17. Priscilla V. Microencapsulation of ascorbic acid in maltodextrin and capsul using spraydrying, 2<sup>nd</sup> mrrcosur congression Chemical Engineering PanAmerican collaboration, 19-20 Sep, Rio de Janeiro, Brazil, 2005.
18. Kolanowski W, Laufenberg G, Kunz B. Fish oil stabilisation by microencapsulation with modified cellulose. *Int J Food Sci Nutr* 2004; 55: 333-43.
19. Zuta CP, Simpson BK. Concentrating PUFA from Mackerel processing waste. *Journal American Oil Chemistry* 2003; 80: 933-36.