

ریزپوشینه کردن روغن بزرک و بررسی خصوصیات حسی و فیزیکوشیمیایی شیر غنی شده با آن

آرزو قربانیپور¹، علی نصیریپور²، امیرحسین گلی²، محمد طیبی³

1- نویسنده مسئول: دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران. پست الکترونیکی a.ghorbanpor@ag.iut.ac.ir

2- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران

3- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

تاریخ دریافت: 94/8/20

تاریخ پذیرش: 94/12/4

چکیده

سابقه و هدف: روغن بزرک روغن غیراشباع حاوی 55% لینولنیک اسید می باشد که حساسیت بالایی به اکسیداسیون دارد. در این پژوهش ریزپوشینه کردن روغن بزرک به روش توده‌ای شدن مرکب (Complex coaservation) انجام و اثرات افزودن آن روی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی شیر در طول دوره نگهداری بررسی شد.

مواد و روش‌ها: 20-30 درصد روغن بزرک از دانه بزرک به روش حلال سرد استخراج گردید. ژلاتین، صمغ عربی، آنزیم ترانس گلوتامیناز و لاکتوز به منظور ریزپوشینه کردن روغن به روش توده‌ای شدن مرکب مورد استفاده قرار گرفت. عددپراکسید، اسیدیته شیر غنی شده با روغن بزرک ریزپوشینه و نمونه شاهد با سطح معنی دار 0/05 اندازه‌گیری شد. آزادسازی روغن از ریزپوشینه‌ها در شیر غنی شده با روغن بزرک به روش کروماتوگرافی گازی به منظور بررسی خصوصیات شیمیایی انجام گرفت. اندازه‌گیری گرانیوی و رنگ در سطح معنی دار 0/05 به منظور بررسی خصوصیات فیزیکی در طول نگهداری شیر به مدت یک هفته مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج FTIR نشان داد که در ریزپوشینه کردن روغن بزرک با ژلاتین و صمغ عربی و بکار بردن آنزیم ترانس گلوتامیناز که به منظور ایجاد اتصالات عرضی و استحکام در ریزپوشینه‌ها بود، پیوند شیمیایی جدیدی به وجود نیامده است. شیر حاوی روغن بزرک ریزپوشینه شده، اسیدیته بالاتری نسبت به نمونه شاهد داشته و از نظر اندیس پراکسید، در شیر حاوی روغن بزرک آزاد از شیر حاوی روغن پوشینه‌شده به طور معنی دار (P=5%) افزایش یافته و این افزایش برای شیر حاوی روغن بزرک آزاد و شیر حاوی روغن ریزپوشینه شده به ترتیب 206% و 72 % meq/kg بوده است. رنگ نمونه غنی شده با روغن ریزپوشینه به علت پراکنش بیشتر پروتئین، سفیدتر بوده است. از نظر مقبولیت حسی نمونه غنی شده با روغن بزرک ریزپوشینه شده به طور معنی داری (P=5%) پایین‌تر از نمونه شاهد بود.

نتیجه‌گیری: نتایج عددپراکسید، اسیدیته و آزادسازی روغن بزرک از ریزپوشینه‌ها درون شیر حاکی از آن است که ریزپوشینه کردن با روش توده‌ای شدن مرکب راهی مؤثر در جلوگیری از اکسیداسیون شیر غنی شده است.

واژگان کلیدی: روغن بزرک، لینولنیک اسید، ریزپوشینه کردن، توده‌ای شدن مرکب، اکسیداسیون

• مقدمه

مصرف غذاهای سلامت بخش و مغذی باعث ترغیب پژوهشگران عرصه صنعت غذا جهت تولید غذاهای فراسودمند گردیده است (2). بیماری قلبی-عروقی شامل هر بیماری می‌شود که بر قلب و دستگاه گردش خون تأثیر می‌گذارد و با دریافت چربی بالا به ویژه نوع اشباع در رژیم غذایی مرتبط است (3). روغن بزرک روغن غیر اشباعی است که از گیاه بزرک گونه *Linum usitatissimum* و حاوی اسیدهای چربی

و وجود چربی در رژیم غذایی برای حفظ سلامتی ضروری است. چربی‌ها تأمین کننده انرژی لازم بدن و منبع اسیدهای چرب و ویتامین‌های مورد نیاز بدن می‌باشند. به‌طور کلی غذاهایی که علاوه بر اثر تغذیه‌ای، اثر یا اثرات مفیدی بر عملکردهای بدن دارند و از این طریق سلامتی مصرف کننده را بهبود و یا ریسک بیماری را کاهش می‌دهند، غذاهای فراسودمند نامیده می‌شوند (1). امروزه افزایش تقاضا در

تهیه شد. این پودر دارای رنگ زرد متمایل به قهوه‌ای بود. صمغ عربی نیز از شرکت دایجونگ کره تهیه گردید. آنزیم ترانس گلوتامیناز از شرکت Yiming Biological Products کشور چین تهیه شد. این نوع آنزیم EC 2.3.2.13 با قدرت اتصال دهنده‌گی آن 1000 قسمت به ازای هر گرم پروتئین است. بیشترین فعالیت را در pH 5-8 و دمای °C 45-55 دارا می‌باشد. پودر لاکتوز از نوع خوراکی آن تهیه شد. شیر از شرکت پگاه اصفهان تهیه گردید. مواد شیمیایی نیز با بالاترین خلوص از شرکت مرک تهیه گردید.

استخراج روغن از دانه بزرک: به منظور استخراج روغن از دانه بزرک، روش حلال سرد استفاده گردید. ابتدا 100 گرم دانه بزرک آسیاب شد و سپس پودر دانه بزرک و حلال هگزان به نسبت 1 به 2 با هم مخلوط شد و اختلاط در دو مرحله زمانی هر بار به مدت 6 ساعت و فاصله زمانی نیم ساعت در دمای محیط به وسیله هم‌زن مکانیکی 1000 دور در دقیقه انجام شد. فیلتراسیون ابتدا با کاغذ صافی واتمن 42 انجام گرفت. سپس به منظور حذف حلال از روغن، دمای 40-50 درجه سانتی‌گراد تحت خلأ در دستگاه روتاری قرار گرفت تا آسیب دیدن ترکیبات به حداقل برسد. در نهایت به کمک گاز ازت حلال باقیمانده حذف و روغن در ظروف شیشه‌ای تیره-رنگ در یخچال نگهداری شد (15). پروفایل اسیدهای چرب استخراج شده از دانه بزرک با دستگاه کروماتوگرافی گازی در جدول 1 نشان داده شده است. برای این منظور 50 میکرولیتر روغن در 1 میلی‌لیتر هگزان مخلوط شده و سپس 100 میکرولیتر محلول متانولیک سدیم متوکسید 0/5 نرمال به آن اضافه کرده و به مدت 15 دقیقه در دمای اتاق هم زده شد. فاز رویی را جدا کرده و به درون ویالی که قبلاً مقداری پودر سولفات سدیم بدون آب داخل آن ریخته شده بود انتقال یافت. 1 میکرولیتر از نمونه آماده شده به نسبت 1:40 درون دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شد.

جدول 1. درصد اسیدهای چرب موجود در روغن بزرک استخراج

شده از دانه بزرک به وسیله کروماتوگرافی گازی				
لینولنیک	لینولنیک	اولئیک	استئاریک	پالمیتیک
اسید	اسید	اسید	اسید	اسید
57%	15%	17%	5%	5%

طراحی فرمولاسیون: فرمولاسیون نمونه با استفاده از روش Liu همکاران (2010) و ترکیبی از روغن بزرک، ژلاتین، صمغ عربی، لاکتوز و آنزیم ترانس گلوتامیناز آماده شد (16). درصد وزنی اجزاء بر اساس یک سری آزمایشات مقدماتی طوری انتخاب شد که نسبت اجزاء (روغن بزرک، ژلاتین و صمغ) برابر

امگا3 و همچنین امگا6 است. روغن این گیاه غنی‌ترین منبع اسیدهای چرب امگا3- در طبیعت بوده که حاوی بیش از دو برابر امگا3 موجود در روغن‌های ماهی است و از نظر قیمت نیز ارزان‌تر می‌باشد (4). محتوی بالای اسیدهای چرب امگا3 و تأثیر آن در جلوگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی، سرطان و غیره باعث استفاده گسترده این روغن در محصولات فراسودمند گردیده است (2). انجمن بین‌المللی مطالعه اسیدهای چرب و چربی‌ها (International Society for the study of fatty Acid and Lipids) (ISSFAL) مصرف 1 گرم لینولنیک اسید را در روز توصیه می‌کند (5). انجمن قلب آمریکا (American heart Association) AHA نیز مصرف 1/5 تا 3 گرم از اسیدهای چرب امگا3 را برای کاهش بیماری قلبی و اثرات سلامتی آن در روز توصیه می‌کند (6).

از موانع استفاده این روغن بو و طعم نامطلوب و حساس بودن آن به اکسیژن می‌باشد. بسیاری از محققان به منظور افزایش سلامت مصرف کنندگان محصولات غذایی مختلفی از جمله نان (7)، بستنی (8) و غذاهای اکستروود شده (9) را با روغن بزرک غنی‌سازی نمودند. تکنولوژی ریزپوشانی کردن به علت عملکردی که در علم داروسازی، پزشکی، شیمی، صنعت غذا و کشاورزی داشته در دهه‌های اخیر توجه محققان را به خود جلب نموده است (10). در حال حاضر خشک کردن پاششی امولسیون رایج‌ترین روش ریزپوشانی روغن بزرک است اما روش توده‌ای شدن مرکب، ریزپوشینه‌های پایدارتر و با روغن بالاتری در مقایسه با خشک کردن پاششی تولید می‌کند که این روش اخیراً مورد توجه قرار گرفته است (11). در روش توده‌ای شدن مرکب حداقل دو هیدروالکتریک در pH خاصی که بار مخالف دارند استفاده و با ایجاد برهمکنش الکترواستاتیک بین بيو پلیمرها دو فاز توده که شامل مواد هسته و سوپرناتانت که محیط واکنش است تشکیل می‌گردد (12). ریزپوشینه کردن با روش توده‌ای شدن مرکب به وسیله Gouin شناخته شد (13). ریزپوشینه کردن روغن بیشتر به منظور جلوگیری از اکسید شدن و بوی نامطبوع روغن مورد استفاده قرار می‌گیرد (14).

نظر به اهمیت غذاهای فراسودمند، به‌ویژه غذاهایی که به پیشگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی کمک می‌کنند مانند لینولنیک اسید، و حساس بودن این روغن به اکسیداسیون، در این مطالعه روغن بزرک حاوی لینولنیک اسید ریزپوشانی گردید و شیرکم‌چرب با استفاده از این ریزپوشینه‌ها غنی شد.

• مواد و روش‌ها

دانه بزرک از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. پودر ژلاتین نوع A با درجه بلوم 260-265 از شرکت ژلیتا تهران

میلی لیتر 150 محلول 0/1 درصد (حجمی/وزنی) سدیم دودسیل سولفات به مدت 5 دقیقه در دمای 35 درجه سانتی گراد هم زده شد و پس از تزریق به دستگاه در شدت عبور 80-65 %، اندازه ذرات میکروکپسول بررسی شد.

از میکروسکوپ نوری نیکون مدل اسلیپس ای 600 ساخت ژاپن نیز برای بررسی شکل میکروکپسول ها قبل از خشک کردن انجمادی آن ها استفاده شد.

تصاویر سه بعدی پودر میکروکپسول ها با میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل Bruker-Tensor 27 تهیه گردید. آزمون FT-IR به منظور پی بردن به تشکیل پیوند جدید در پودر میکروکپسول ها انجام گردید.

بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی شیر غنی- شده با پودر میکروکپسول های روغن بزرک: برای غنی کردن شیر، به شیر پس چرخ 1/6 گرم پودر ریزپوشینه شده روغن بزرک با بهره وری 95% به ازای 250 میلی لیتر شیر اضافه و خوب هم زده شد و در دمای 65 درجه سانتی گراد به مدت 15 دقیقه پاستوریزه و سپس به یخچال با دمای 4 درجه سانتی گراد منتقل گردید. به دلیل اینکه شیر غنی شده با روغن بزرک بدون پوشش ماندگاری و بوی خوبی ندارد آزمون های مقایسه ای آن با شیر خام کم چرب در روزهای اول، سوم، هفتم انجام شد. شیر خام کم چرب برای اندازه گیری pH، اسیدیته، گرانی، رنگ و ارزیابی حسی، شیر کم چرب که تمام عملیات بالا به جز افزودن پودر روغن بزرک ریزپوشینه شده، روی آن انجام گرفت.

به منظور بررسی اثر پوشینه کردن در جلوگیری از اکسیدشدن روغن بزرک، بجای شیر بدون چربی نمونه هایی از شیر تهیه شد که مقدار 0/5 گرم روغن بزرک به صورت آزاد به ازای هر وعده مصرف شیر (250 میلی لیتر) به آن اضافه شد.

آزمون های مقایسه ای شیر غنی شده با نمونه شاهد

pH: با استفاده از دستگاه pH-متر در نمونه ها در سه تکرار اندازه گیری شد.

اسیدیته: اسیدیته نمونه ها به روش عیارسنجی در مدت نگهداری 7 روز تعیین شد.

گرانروی ظاهری: گرانروی ظاهری 450 میلی لیتر شیر در دمای 4 درجه سانتی گراد با ویسکومتر بروکفیلد، با استفاده از اسپندل شماره 4 در 100 دور در دقیقه بعد از 50 ثانیه برحسب سانتی پویز در مدت نگهداری 7 روز اندازه گیری شد (1).

و 1:1:1 و درصد وزنی لاکتوز 2 % در 300 میلی لیتر از کل محلول و 0/045 % آنزیم ترانس گلو تامیناز با قدرت 1000 که بر حسب مقدار پروتئین، به منظور ایجاد اتصالات عرضی در پروتئین، تعیین گردید دور هموژنایزر نیز 10000 دور در دقیقه به مدت 3 دقیقه تعیین گردید.

آماده سازی میکروکپسول: ابتدا کل ژلاتین فرمولاسیون در 9 قسمت آب هیدراته شد (10% وزنی/وزنی) و دمای آن تا 50 درجه سانتی گراد افزایش داده شد. محلول صمغ عربی در باقیمانده آب فرمولاسیون در دمای 50 درجه سانتی گراد در یک بشر 600 میلی لیتر حل شد. آنزیم نیز به منظور استحکام میکروکپسول ها به صورت 10% با آب دیونیزه مخلوط شد. در ادامه روغن بزرک (25-20 درجه سانتی گراد) در محلول ژلاتین با هموژنایزر با دور 10000 دور در دقیقه به مدت 3 دقیقه به صورت امولسیون O/W (روغن در آب) درآمد و به طور کامل با محلول صمغ عربی با دور همزن 600 دور در دقیقه مخلوط به مدت 15 دقیقه و سپس محلول آنزیم اضافه گردید. هم زدن با دور 600 و به مدت 10 دقیقه محلول در دمای 50 درجه سانتی گراد نگهداری شد. pH آن با افزودن اسیداستیک 50% (حجمی/حجمی) روی 4/2 تنظیم شد، و در ادامه دمای سیستم به آرامی (5 درجه سانتی گراد در هر 10 دقیقه) تا 4-7 درجه سانتی گراد کاهش داده شد و هم زدن متوقف شد. در نهایت لاکتوز به صورت پودر به محلول اضافه گردید. با کاهش دما محلول تشکیل دو فاز می دهد، فاز آبی را جدا و ژل را تا دمای 30- درجه سانتی گراد و فشار 0/8 هکتوپاسکال در خشک کن انجمادی (هتوهولتن ساخت دانمارک) خشک و سپس به منظور تولید پودری ریز آسیاب و الک گردید (1).

اندازه گیری بهره وری ریزپوشینه کردن: برای اندازه گیری بهره وری ریزپوشینه دار کردن 10 گرم پودر دو بار به نسبت 1 به 10 به مدت 15 دقیقه با هگزان در یک فلاسک دربسته هم زده شد؛ میکروکپسول ها با کاغذ واتمن شماره 42 جدا و حلال باقی مانده با گاز ازت جدا شد (17).

$a/b \times 100$ بهره وری ریزپوشینه دار کردن که a میزان روغن پوشینه دار شده، b کل روغن مورد استفاده است.

پودر میکروکپسول های روغن بزرک تا زمان اضافه شدن به شیر در تاریکی و فریزر با دمای 20- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

به منظور بررسی اندازه میکروکپسول ها قبل از خشک کردن انجمادی، از دستگاه آنالیز اندازه ذرات استفاده شد به این ترتیب که مقدار 0/15 گرم سوسپانسیون یا ژل در

کنند و به نمونه‌ها، نمره صفر برای دوست نداشتن خیلی زیاد، نمره 1 برای دست نداشتن زیاد، نمره 2 برای دوست نداشتن متوسط، نمره 3 برای دوست نداشتن کم، نمره 4 برای نظری ندارم، نمره 5 برای دوست داشتن کم، نمره 6 برای دوست داشتن متوسط نمره 7 برای دوست داشتن زیاد و نمره 8 برای دوست داشتن خیلی زیاد بدهند.

آزادسازی روغن بزرک از ریزپوشینه‌های افزوده‌شده به شیر: به منظور بررسی آزادسازی روغن بزرک از ریزپوشینه‌ها طی مدت نگهداری شیر در مقایسه با شیر شاهد، ابتدا چربی 100 سی‌سی شیر را به وسیله هگزان استخراج و سپس در دمای 35 درجه سانتی‌گراد به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق و پروفایل اسیدهای چرب آن بررسی گردید. برای این منظور 50 میکرولیتر روغن استخراج شده از شیر غنی شده در 1 میلی‌لیتر هگزان مخلوط و سپس 100 میکرولیتر محلول متانولیک سدیم متوکسید 0/5 نرمال به آن اضافه و به مدت 15 دقیقه در دمای اتاق هم زده شد. فاز رویی را جدا کرده و به درون ویالی که قبلاً مقداری پودر سولفات سدیم بدون آب داخل آن ریخته شده بود انتقال داده شد. 1 میکرولیتر از نمونه آماده شده را به نسبت 1:40 درون دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شد. به علت اینکه شیر شاهد فاقد روغن بزرک است تنها چربی شیر غنی شده با ریزپوشینه را استخراج می‌کنیم.

آنالیز آماری نتایج: به منظور بررسی اثر غنی‌کردن خصوصیات فیزیکی و حسی شیر، از طرح Split plot design در نرم‌افزار آماری SAS (نسخه صحیح 9.2) و از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (Least Significant Difference) LSD سه تکرار در سطح معنی‌دار بودن در 0/05 مقدار F در جدول تجزیه واریانس، برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد.

• یافته‌ها

تشکیل ریزپوشینه‌ها: در این تحقیق از ژلاتین و صمغ عربی به عنوان دیواره اصلی میکروکپسول‌ها استفاده گردید. هنگام مخلوط نمودن روغن به ژلاتین امولسیون پایداری تشکیل و با اضافه کردن صمغ عربی و با تنظیم pH و دما به سوسپانسیونی دوفاز (توده‌ها و فاز رویی) تبدیل گردید عکس 1 (الف) تصویر دوفاز شدن محلول، میکروکپسول‌های تشکیل شده را نشان می‌دهد فاز پایینی محتوی میکروکپسول‌ها و توده‌ها و فاز بالایی سوپرناتانت است. عکس 1 (ب) تصاویر عکس میکروسکوپ نوری و عکس 1 (ج) عکس میکروسکوپ الکترونی از میکروکپسول‌ها را نشان می‌دهد.

رنگ: به منظور ارزیابی رنگ، با دوربین از نمونه‌ها در سه تکرار زیر نور سفید عکس‌برداری گردید و پارامترهای L (ناحیه سیاه سفید)، a (ناحیه سبز-قرمز) و b (ناحیه زرد-آبی) مطابق با سیستم رنگی Lab در 3 نقطه مختلف هر تکرار با نرم‌افزار آدوب فتوشاپ 7 در مدت نگهداری 7 روز تعیین گردید (1).

عدد پراکسید میکروکپسول در شیر: شیرهای غنی شده با ریزپوشینه‌های روغن بزرک را به منظور جدا کردن میکروکپسول‌ها ابتدا در دور 2000 به مدت 10 دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس میکروکپسول‌ها را جدا کرده و با 5 میلی‌لیتر آب به مدت 30 دقیقه هم زده شد. تا کاملاً حل شود سپس 300 میکرولیتر از آن را برداشته و با 1/5 سی‌سی مخلوط ایزواکتان-ایزوپروپانول (1:2) مخلوط شد. 3 بار 10 ثانیه شدید هم زده و سپس در دور 1000 به مدت 4 دقیقه سانتریفوژ شدند. فاز رویی را برداشته و به وسیله گاز ازت حلال جدا گردید و روغن به دست آمده توزین شد. سپس 9/8 میلی‌لیتر کلروفرم-متانول (1:4) به روغن اضافه گردید و به مدت 5 ثانیه مخلوط شد. سپس 1 قطره آمونیوم تیوسیانات 30% به نمونه اضافه گردید و 5 ثانیه هم زده شد. پس از آن یک قطره محلول آهن (II) کلرید 0/35% به محلول اضافه و هم زده شد. جذب نمونه در طول موج 500 نانومتر در برابر شاهد که محلولی حاوی همه معرف‌ها به غیر از نمونه بود، پس از 5 دقیقه نگهداری در دمای اتاق قرائت شد.

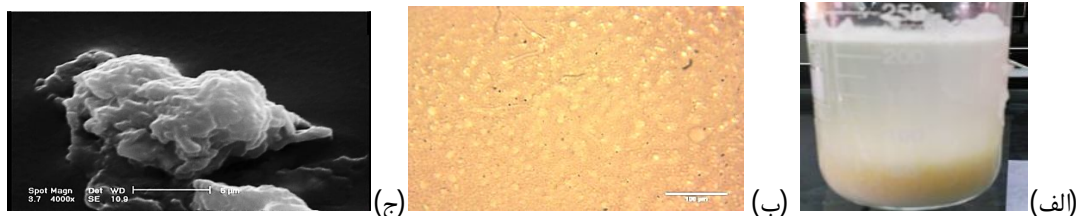
برای رسم نمودار استاندارد از محلول‌های آهن (III) کلرید حاوی 2/5 تا 50 میکروگرم آهن (III) استفاده گردید، که شیب نمودار استاندارد 41/52 بود. برای به دست آوردن عدد پراکسید (میلی‌اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن) از معادله (4) استفاده شد (18، 19).

معادله (4)

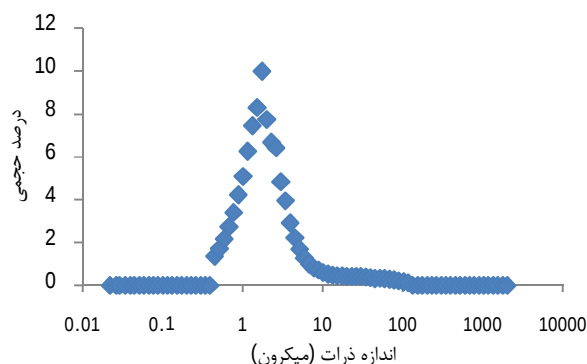
$$\text{شیب نمودار استاندارد} \times \left(\frac{\text{جذب شاهد} - \text{جذب نمونه}}{\text{وزن نمونه (گرم)}} \right) = \text{عدد پراکسید}$$

در این معادله 55/84 وزن اتمی آهن می‌باشد.

ارزیابی حسی: خواص حسی شیر با آزمون مقایسه‌ای با هدف ارزیابی آنالیز حسی در متوسط طول نگهداری نمونه یعنی روز سوم انجام شد. برای این منظور شیر پس چرخ غنی‌شده با پودر میکروکپسول روغن بزرک و نمونه شاهد، در روز سوم بعد از خروج از یخچال به دمای اتاق منتقل و در ظروف نمونه در اختیار ارزیاب‌ها قرار گرفت که 20 ارزیاب (10 نفر زن و 10 نفر مرد با محدوده سنی 20-50 سال) با استفاده از تست هدونیک 9 نقطه‌ای انجام شد. به ارزیاب‌ها گفته شد که نمونه‌ها را بر اساس طعم، بو، رنگ و قابلیت پذیرش کلی انتخاب



عکس 1. الف - دوفاز شدن ریزپوشینه‌ها ب- تصویر میکروسکوپ نوری ریزپوشینه‌ها ج- تصویر میکروسکوپ الکترونی ریزپوشینه



شکل 2. توزیع اندازه ذرات میکروکپسول‌ها بعد از تشکیل شدن

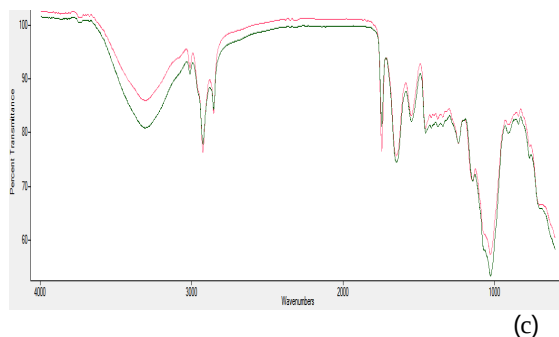
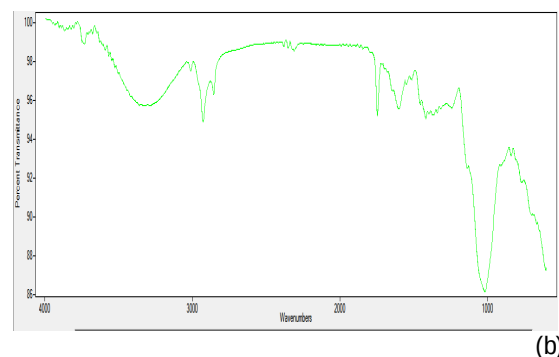
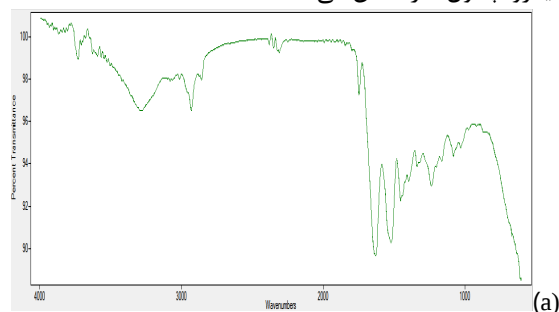
نتایج نشان داد که بهره‌وری ریزپوشینه‌های اضافه شده به شیر 95% بود.

ویژگی‌های فیزیکی‌وشیمیایی نمونه‌های شیر

pH و اسیدیته: بین pH نمونه‌های شاهد و غنی شده اختلاف معنی‌داری وجود داشته و در زمان نگهداری اختلاف معنی‌دار بر روی pH نبوده به طوری که نمونه شاهد pH روز اول 6/6 و در نمونه غنی‌شده در روز اول 6/5 و در روز هفتم اختلاف معنی‌داری با روز اول نداشتند. اسیدیته نمونه‌های غنی شده بیشتر از نمونه شاهد بود و برای هر دو نمونه در طول زمان تغییر معنی‌داری نداشته گرانیروی نمونه غنی شده بیشتر از نمونه شاهد بوده و در طول زمان گرانیروی ظاهری نمونه غنی شده افزایش یافته است. شکل 3 به ترتیب تغییرات pH، اسیدیته و گرانیروی نمونه‌های شیر را در طول زمان نگهداری نشان می‌دهد.

تغییرات عدد پراکسید: اندیس پراکسید در روز اول برای شیرهای حاوی روغن بزرگ آزاد و پوشینه‌شده به ترتیب 0/106 و 0/087 که در روز هفتم به 2/29 و 0/67 می‌رسد. در زمان‌های مورد نظر اندیس پراکسید در نمونه حاوی روغن آزاد از نمونه حاوی روغن پوشینه‌شده به طور معنی‌دار افزایش یافته است این افزایش برای نمونه شاهد و غنی شده به ترتیب 206% و 72% بوده است.

نمودارهای FTIR پیوندهای تشکیل شده در دیواره میکروکپسول‌ها را نشان می‌دهد.



شکل 1. طیف‌های FTIR پیوندهای وجود در نمونه‌های (a) ژلاتین (b) صمغ عربی (c) میکروکپسول تشکیل شده

نتایج مربوط به اندازه ذرات نشان داد که توزیع اندازه ذرات بیشتر در محدوده 40 میکرون است.

نمونه‌های شیر از لحاظ پارامتر L روشنایی یا سفیدی - سیاهی، سفید بوده و اختلاف معنی‌داری با هم نداشته و زمان نیز اثر معنی‌داری روی آن‌ها نداشته است. (جدول 2 و 3) برای پارامتر a (قرمز - سبزی) مشاهده می‌گردد که اعداد منفی هستند یعنی در ناحیه سبز قرار دارند اما میزان سبزی کم است و نمونه غنی‌شده در روز اول و سوم تفاوت معنی‌داری نداشته اما در روز پنجم افزایش معنی‌دار و در روز هفتم کاهش معنی‌دار داشته است. نمونه شاهد نیز در روز پنجم افزایش و در روز هفتم کاهش معنی‌داری داشته است. از لحاظ پارامتر b (زرد - آبی) نمونه‌ها در ناحیه زرد قرار داشتند. نمونه غنی‌شده افزایش معنی‌داری و نمونه شاهد در روز سوم و پنجم کاهش و سپس افزایش معنی‌داری از لحاظ پارامتر b داشته است.

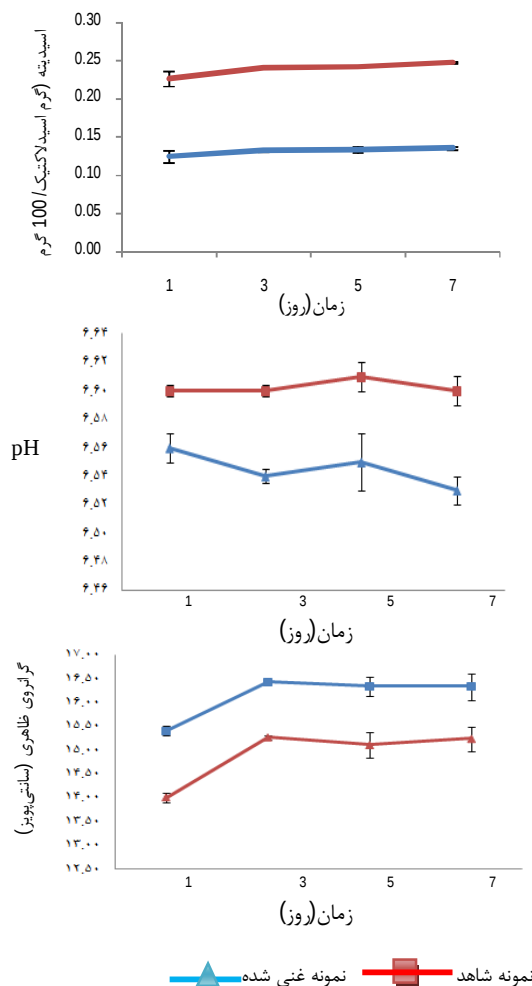
جدول 2. مقایسه میانگین اثر زمان و غنی‌کردن بر پارامترهای رنگ شیر غنی‌شده با روغن بزرک ریزپوشینه شده و شیر شاهد (شیر کم‌چرب)

عامل آزمایشی	پارامتر			زمان (روز)
	B	a	L	
	11/66	-0/99a	92/68	1
	11/66	-1/04ab	93/31	3
	11/24	-1/12b	93/15	5
	13/46	-0/99a	93/03	7
غنی‌شده	11/89b	-1/07b	93/35	
شاهد	12/12a	-1/04a	92/74	

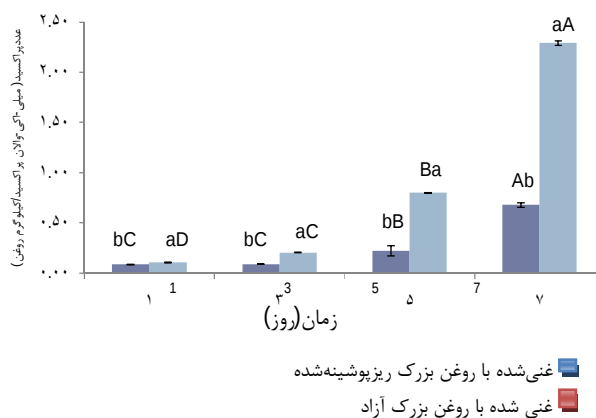
ab در هر دو عامل و برای هر صفت میانگین‌های با حداقل یک حرف مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال 5% با آزمون LSD می‌باشد. مقایسه میانگین برای مواردی که مقدار F در جدول تجزیه واریانس معنی‌دار نبوده انجام نشد.

آزاد شدن روغن بزرک از ریزپوشینه‌های افزوده شده به شیر: اسیدهای چرب تشکیل دهنده روغن بزرک و استخراج چربی از نمونه‌های شیر با کروماتوگرافی گازی آنالیز شدند. شکل 7 کروماتوگرام اسیدهای چرب روغن بزرک استخراج شده از شیر غنی‌شده، از 7 روز نگهداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد را نشان می‌دهد.

بررسی خصوصیات حسی شیر غنی‌شده با آزمون مقایسه‌ای: امتیازات ارزیاب‌ها در زمینه ویژگی‌های ظاهری، طعم، بو و پذیرش کلی نمونه‌های شیر در روز سوم نگهداری نشان می‌دهد که امتیازات نمونه شیر غنی‌شده با ریزپوشینه روغن بزرک کمتر و در حدود 5/5-5 که در حدود تعادل - تاحدودی دوست نداشتن بوده است. اما از لحاظ طعم کمترین امتیاز را داشته است. همان‌طور که مشاهده می‌شود اثر تکرار و



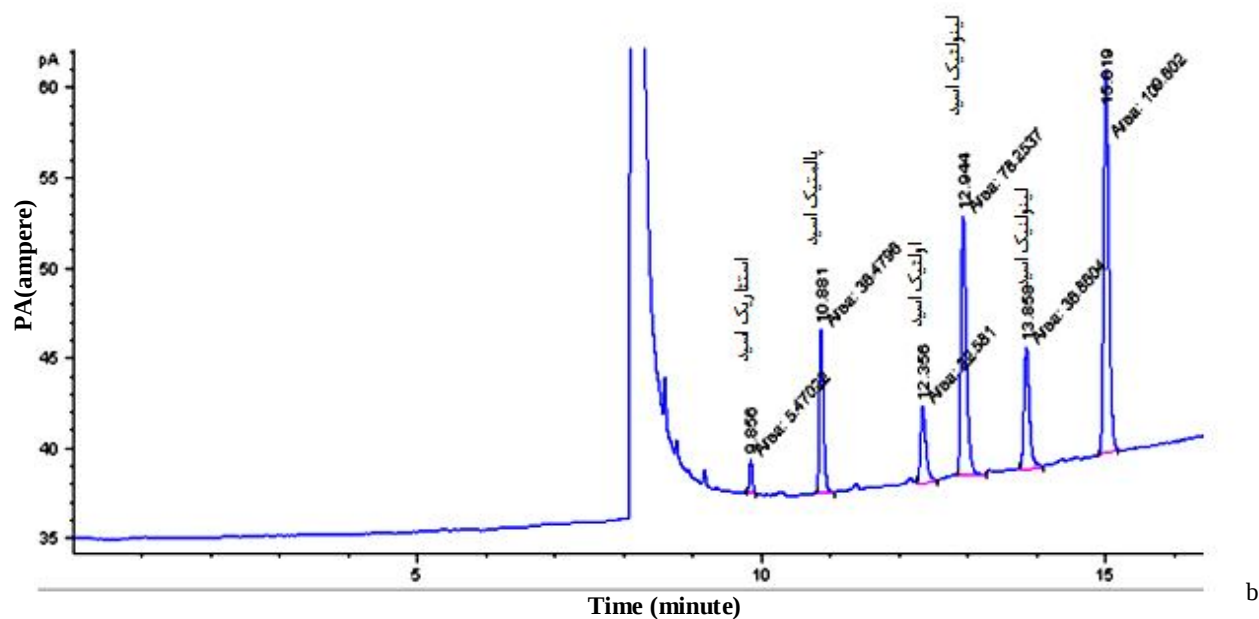
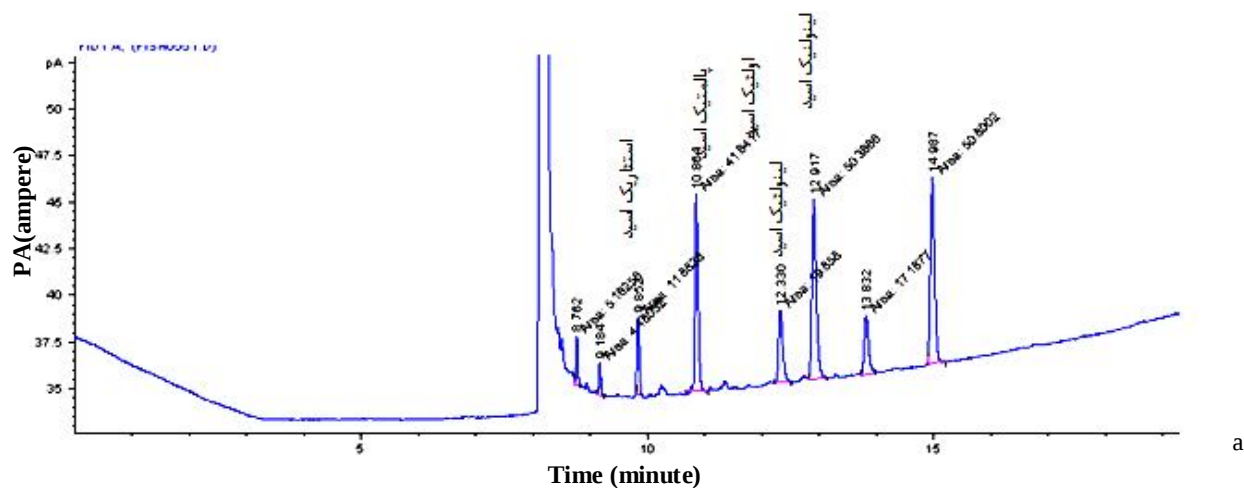
شکل 3. منحنی تغییرات اسیدیته، pH و گرانی ظاهری نمونه‌های شیر غنی‌شده با روغن بزرک ریزپوشینه و شیر شاهد (شیر کم‌چرب) در طی نگهداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد



شکل 4. نمودار تغییرات اندیس پراکسید نمونه‌های شیر غنی‌شده با 1/6 گرم پودر روغن بزرک ریزپوشینه شده و غنی‌شده با 0/8 گرم روغن بزرک آزاد در طی هفت روز (حروف بزرگ برای اثر معنی‌دار بودن زمان و حروف کوچک برای معنی‌دار بودن غنی‌کردن در سطح 5%)

از لحاظ طعم اختلاف معنی داری نشان می دهند. در مجموع مطلوبیت نمونه غنی شده از نمونه کنترل کمتر بوده است.

غنی کردن روی بو، طعم و پذیرش کلی معنی دار بوده است. نمونه ها از نظر ارزیاب ها از لحاظ ظاهر و بو اختلافی ندارند، اما



شکل 5. آنالیز کروماتوگرافی گازی (a) شیر غنی شده با ریزپوشینه های روغن بزرک در روز اول (b) شیر غنی شده با ریزپوشینه های روغن بزرک در روز هفتم

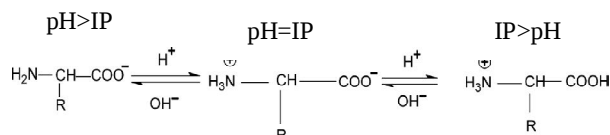
جدول 3. مقایسه میانگین اثر غنی کردن شیر ریزپوشینه شده با روغن بزرک ریزپوشینه شده بر تغییرات ظاهر، بو، طعم و پذیرش کلی

عامل آزمایشی	ظاهر	بو	طعم	پذیرش کلی
غنی شده با پودر امگا 3	7/10	6/20 ^b	4/650 ^b	5/45 ^b
شاهد	7/2500	7/1500 ^a	7/5500 ^a	7/80 ^a

در هر عامل و برای هر صفت میانگین های دارای یک حرف مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار در سطح احتمال 5% با آزمون LSD می باشد.

• بحث

ژلاتین نقش مهمی در فرایند امولسیون و پایداری امولسیون دارد. ژلاتین پلیمری آمفوتریک است که در شرایط اسیدی خواص کاتیونی و در شرایط بازی خواص آنیونی نشان می‌دهد. نقطه ایزوالکتریک ژلاتین نوع 7/5 A تا 9 می‌باشد و در $pH = 4$ ، بار ژلاتین مثبت می‌باشد بعلاوه بار صمغ عربی در $pH = 4$ منفی است (11). نقطه ایزوالکتریک ژلاتین:



این شرایط به تشکیل پیوندهای الکترواستاتیکی بین ماکرومولکول‌ها در کواسرواسیون کمک می‌کند. در طول تنظیم pH ، توده‌های بین سطحی و فاز پیوسته تشکیل گردید. حین هم زدن ترکیب، قطرات روغن با توده پوشانده شده و لایه‌های توده قطرات روغن را در بر گرفته بودند. در مرحله سرد کردن، لایه‌ی ژل مانند میکروکپسول‌های نهایی را تشکیل داده بود. عکس میکروسکوپ نوری میکروکپسول‌ها در عکس 1 (ب) نشان داد که قطرات روغن با مواد تشکیل دهنده توده‌ای شدن پوشیده شده بودند. همچنین تصاویر میکروسکوپ الکترونی میکروکپسول‌ها در عکس 1 (ج) بیانگر این است که حضور آنزیم TG موجب پیوستگی در دیواره ریزپوشینه‌ها شده است. لاکتوز به عنوان محافظ سرمایی نقش مهمی در محافظت ریزپوشینه‌ها هنگام فریز کردن آن‌ها داشت.

نتایج آزمون FTIR نشان داد که پیوند تشکیل شده در بین بیوپلیمرها از نوع الکترواستاتیکی بوده است. طیف‌های ژلاتین، صمغ عربی و میکروکپسول‌های تشکیل شده در شکل 1 نشان داده شده است. اعداد پیک‌های ژلاتین که شامل 1544، 1638/94، 1743/02، 2932/05 که به ترتیب نشان دهنده پیوندهای امیدی نوع I، نوع II، $C=H$ و $C-H$ و صمغ عربی در 1023/92 که نشان دهنده باند $C-O$ می‌باشند با اعداد میکروکپسول‌ها مطابقت دارد. پیوند شیمیایی جدیدی مشاهده نشد در نتیجه پیک جدیدی نیز در میکروکپسول‌ها و مواد دیواره به وجود نیامد، با این وجود توده‌ای شدن مرکب به خوبی با پیوند الکترواستاتیکی انجام گرفت. این نتایج با مطالعات Patrick و همکاران (2013) مبنی بر ریزپوشینه-کردن روغن ماهی با روش توده‌ای مرکب با استفاده از ژلاتین، سدیم دو دسیل سولفات و سدیم کربوکسی متیل سلولز

مطابقت دارد (12). بهره‌وری ریزپوشینه‌ها تحت تأثیر آنزیم و دور هموژنایزر 10000، بالا بود. Alvim و همکاران با ریزپوشینه کردن روغن دانه سویا به روش توده‌ای شدن مرکب و با مقایسه تأثیر گلوکارآلدئید و آنزیم ترانس گلوتامیناز به عنوان اتصال دهنده‌های عرضی مشاهده کردند در حضور ترانس گلوتامیناز بیشترین بهره‌وری را داشتند (20).

Lui و همکاران (2010) نیز در ریزپوشانی روغن بزرک با این روش نشان دادند که افزایش دور هموژنایزر تا حد 9000 باعث افزایش بهره‌وری می‌گردد (16). Green و همکاران نیز اثر آنزیم ترانس گلوتامیناز بر راندمان ریزپوشینه کردن را بررسی کردند و مشاهده کردند که به دلیل اتصالاتی که ترانس گلوتامیناز در ژلاتین ایجاد می‌کند راندمان را افزایش داده است (21). Jonsdottir و همکاران در سال 2005 با بکار بردن کربوهیدرات‌ها (ساکارز، لاکتوز، مالتودکسترین) ریزپوشانی کردن روغن ماهی با ژلاتین و کازئینات را بررسی کردند. یافته‌ها نشان داد استفاده از لاکتوز پایداری اکسیداسیونی ریزپوشینه‌ها را بهبود داد (22).

بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی شیر غنی شده در منحنی‌های شکل 2 نشان دهنده بالا بودن اسیدیته شیر غنی شده است. بیشتر بودن اسیدیته شیر غنی‌شده با ریزپوشینه نسبت به نمونه شاهد احتمالاً به این دلیل است که پودر امگا3 اضافه شده به آن حالت اسیدی داده که این نیز به نوبه خود ناشی از تنظیم سیستم در حین پوشینه‌کردن روغن بزرک، با استیک اسید بر روی $pH = 4$ است. افزایش گرانیوی می‌تواند به دلیل تماس پروتئین‌های ریزپوشینه با پروتئین‌های شیر باشد (1).

نتایج مربوط به اکسیداسیون ریزپوشینه‌ها در شیر در مدت نگهداری نشان داد در زمان‌های مورد نظر اندیس پراکسید در نمونه حاوی روغن آزاد از نمونه حاوی روغن پوشینه‌دار شده به طور معنی‌دار بیشتر بود و اندیس پراکسید برای هر دو نمونه در طی زمان به طور معنی‌داری افزایش یافت. ملاحظه می‌شود که پوشینه‌دار کردن روش مناسبی برای جلوگیری از اکسید شدن روغن بزرک و در نتیجه جلوگیری از تغییر طعم محصول و کاهش ارزش تغذیه‌ای روغن بزرک می‌باشد.

رنگ از عوامل مهم در پذیرش شیر توسط مصرف کننده است. روشنایی شیر اثر مهمی روی ظاهر محصول دارد. نمونه‌های شیر از لحاظ پارامتر L^* روشنایی یا سفیدی-سیاهی، سفید بوده و اختلاف معنی‌داری باهم نداشته و زمان نیز اثر معنی‌داری روی آن‌ها نداشته است. یکی از دلایل بیشترین میزان روغن و کمترین میزان روغن در سطح است. نمونه

ماست با ریزپوشینه‌های روغن ماهی به این نتیجه رسیدند که آزادسازی در طول 21 روز رخ نداده است (1).

با توجه به نتایج حاصل از ارزیابی حسی، طعم و بو شیر غنی‌شده تحت تأثیر بیوپلیمرها است. بنابراین مقبولیت نمونه غنی شده نسبت به نمونه شاهد متوسط و کم می‌باشد.

در مجموع، با توجه به تأثیر ریزپوشینه کردن روغن بزرک بر روی اکسیداسیون این روغن، می‌توان این روش را روشی مناسب برای جلوگیری از اکسیدشدن در نتیجه جلوگیری از تغییر طعم محصول و کاهش ارزش تغذیه‌ای این روغن بکار برد. و می‌تواند به منظور تولید فراورده فراسودمند با ویژگی‌های حسی بهتر در شیرهای طعم دار مانند شیر عسل و شیر موز به کار برد.

غنی‌شده به علت وجود مواد پروتئینی بیشتر و پراکنش بیشتر نور سفیدتر است این داده‌ها با یافته‌های Tamjidi و همکاران و Sanz و همکاران مطابقت دارد (1، 18). نمونه غنی شده از لحاظ پارامتر b بالاتر و زردتر است که تحت تأثیر بیوپلیمرهای اضافه شده است.

با بررسی نمودار کروماتوگرافی اسیدهای چرب در شیر غنی با روغن بزرک ریزپوشینه شده در لحظه صفر، روز سوم، پنجم و هفتم مشخص گردید که آزادسازی روغن بزرک از ریزپوشینه‌ها درون شیر در طول نگهداری رخ نداده است. در واقع همه پیک‌ها به یک صورت بوده و آزادسازی مشاهده نگردید. Tamjidi و همکاران نیز در سال 2012 با غنی سازی

References

1. Tamjidi F, Nasirpour, and M Shahedi. Physicochemical and sensory properties of yogurt enriched with microencapsulated fish oil. *Food Sci Technol* 2012; 381-390.
2. Omar KA, Shan L, Zou X, Song Z, Wang X. Effects of Two Emulsifiers on Yield and Storage of Flaxseed Oil Powder by Response Surface Methodology. *Journal of Nutr* 2009; 8 9: 1316-1324.
3. Helena CF Carneiro, Renata V Tonon, Carlos RF Grosso, Miriam D Hubinger. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *J Food Engin* 2013; 115: 443-451
4. Oomah B D. Flaxseed as functional source. *J Sci Food Agri* 2001; 81: 889-894.
5. Kolanowski W S F. Possibilities of fish oil application for food products enrichment with omega-3 PUFA. *Int J Food Sci Nut* 1999; 39-49.
6. Kris-Etherton P, Harris W S and Appel L J. Fish Consumption, Fish Oil, Omega-3 Fatty Acids, and Cardiovascular Disease. *Am Heart* 2002; 2747-2757.
7. Deaguiar, AC, Boroski M, Monteiro ARGDE, Souza NE and Visentainer JV. Enrichment of whole wheat flaxseed bread with flaxseed oil. *J. Food Process Preserv* 2011; 34: 605-609.
8. Goula AM, Adamopoulos G. Spray drying of tomato pulp: Effect of feed concentration. *Dry. Technol* 2004. 22, 2309-2330.
9. Makala H. Effect of enriching model meat products with oils, abundant in polyunsaturated fatty acids on the selected quality parameters. *Elec. J. Polish Agric* 2007; Univ. 10,15-23.
10. Thirundas R, Gadhe KS, Hashmi Syed I. Optimization Of Wall Material Concentration In Preparation Of Flaxseed Oil Powder Using Respons Surface Metodology. *J Food Process Preserv* 2012; 1745-4549.
11. Tamjidi F, Nasirpour A and Shahedi M. Mixture Design Approach for Evaluation of Fish Oil Microencapsulation in Gelatin-Acacia Gum Coacervates. *J. Polymeric Material and Polymer Biomat* 2012; 62: 444-449
12. Patrick EP, Abbas Sh, SLvY, Ntsama ISB, Zhang X. Microencapsulation by complex coacervation of fish oil using gelatin/SDS/NaCMC. *J Food Sci* 2013; 23: 17-25.
13. Gouin S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Sci & Technol* 2004; 15, 7-8 :330-347.
14. Young S, L X Sarda, and M Rosenberg. Microencapsulating Properties of Whey Proteins. 1. Microencapsulation of Anhydrous Milk Fat. *Journal of Dairy Sci.* 1993 76(10):2868-2877.
15. AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society Champaign, IL: AOCS Press. 2006.
16. Liu S, Low Michael N and Nickerson T. Entrapment of Flaxseed Oil Within Gelatin-Gum Arabic Capsules. *Am Oil Che Soc* 2010, 809-815.
17. Takada S, U. Y. Application of a spray drying technique in the production of TRH-containing injectable sustained-release microparticles of biodegradable polymers. *Sci Technol Pharm* 1995, 180-4.
18. Sanz T, Salvador A, Jimenez A and Fiszma SM. Yogurt enrichment with functional asparagus fibre. Effect of fibre extraction method on rheological properties, colour, and sensory acceptance. *Eur Food Res Technol* 2008. 227(5): 1515-1521.
19. shantha N C and Deckr E A.. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *JAOAC Int* 1994. 77: 421-424.
20. Alvim I D, Grosse C, Raimundo F. Microparticles obtained by complex coacervation: influence of the type of reticulation and the drying process on the release of the core material. *Food Sci* 2010, 1069-1076.
21. Green K B and Schleicher L. Oil-containing microscopic capsules and method of making them. *US Pat* 1957, 2,800,457.
22. Jonsdottir R, Bragadottir M, Arnarson GÖ. Oxidatively Derived Volatile Compounds in Microencapsulated Fish Oil Monitored by Solid-phase Microextraction (SPME). *Food Chem and Toxicol* 2005, 70.

Sensory and Physico-chemical Properties of Enriched Milk with Microencapsulated Flaxseed Oil

Ghorbanpour A^{1*}, Nasirpour A², Goli AH², Tayebi M³

1- *Corresponding author: M.Sc. Graduated, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan. Iran
Email: a.ghorbanpor@ag.iut.ac.ir

2- Assistant Professor of Food Science and Technology, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

3- M.Sc. Graduated, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

Received 11 Nov, 2015

Accepted 23 Feb, 2016

Background and Objectives: Flax seed oil is unsaturated oil that contains 55% linolenic acid, is highly sensitive to oxidation. In this research, the physicochemical and sensory properties of enriched milk with encapsulated flaxseed oil were studied using complex conservation method.

Materials and Methods: Flaxseed oil was extracted from flaxseed using solvent cold extraction. Gelatin, gum Arabic, lactose and transglutaminase were used as encapsulating materials. The microencapsulated flaxseed oil was added to milk. The physicochemical and sensory properties, peroxide value, and release of fortified and control sample were evaluated in the enriched milk during one week cold storage.

Results: The results of FTIR showed that new chemical bonds were not formed in the flaxseed oil microencapsulated by gelatin, gum Arabic and transglutaminase. The milk contained microencapsulated flaxseed oil showed higher acidity than the control. During storage, a significant difference ($p=5\%$) in peroxide values was observed in the samples containing free flaxseed oil as compared to the samples containing microencapsulated flaxseed oil (206% meq/kg vs. 72% meq/kg, respectively). The color of sample enriched with encapsulated oil was whiter. The sensory evaluation showed that the acceptability of the samples enriched with microencapsulated flaxseed oil was significantly lower the control ($p=5\%$).

Conclusion: Microcapsulation of flaxseed oil using the complex conservation method is an effective way to prevent its oxidation in enriched milk. The sensory properties (taste and smell) of the milk enriched with encapsulated oil, however, showed a significant decrease. As a solution, the flavor agents can be used to promote sensorial quality of milk enriched with encapsulated flaxseed oil.

Keywords: Flaxseed oil, Linolenic acid, Microencapsulation, Coacervation, Oxidation