مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هشتم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۲، صفحات ۱۵-۱

نانوانکپسولاسیون اسیدهای چرب امگا ۳ توسط حامل‌های پکتین- کازئینات: بررسی تشکیل کمپلکس، اندازه ذرات و کارایی انکپسولاسیون

ساجده بحرانی[۱]، بابک قنبرزاده [۲]، حامد همیشه کار[۳]، محمود صوتی خیابانی[۴]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ایران
۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ایران
۳- نویسنده مسئول: استادیار مرکز تحقیقات دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، ایران پست الکترونیکی: hamishehkar.hamed@gmail.com
۴- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۲/۱/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۲/۴/۲۵

چکیده

سابقه و هدف: کمپلکس‌های پروتئین- پلی‌ساکارید می‌توانند برای تولید نانوانکپسول‌های حاوی ترکیبات مغذی و فعال به کار روند. هدف از این پژوهش، تعیین شرایط بهینه برای تولید نانوکمپلکس‌های کازئینات-پکتین حاوی اسیدهای چرب امگا ۳ با کوچکترین اندازه و توزیع اندازه ذرات و بررسی پایداری و کارایی انکپسولاسیون آن می‌باشد.

مواد و روش‌ها: نانوکپسول‌ها با افزودن نمک‌های الکترولیت به محلول‌های کازئیناتی (۰/۵، ۱ و ۱/۵ w/v٪) حاوی محلول امگا ۳ و افزودن محلول پکتینی (۰/۲، ۰/۴۵ و ۰/۷ w/v٪) به سیستم و سپس تنظیم pH به زیر نقطه ایزوالکتریک کازئینات (۴/۶) تولید شدند. تعیین اندازه و توزیع ذرات، با روش پراکنش نور لیزری و تشخیص تشکیل کمپلکس و نوع برهمکنش‌های ایجاد شده بین بیوپلیمرها و اسید چرب امگا ۳ با آزمون‌های طیف‌سنجی فروسرخ (FTIR) و گرماسنجی افتراقی (DSC) بررسی شدند. از کروماتوگرافی گازی (GC) برای تعیین مقدار امگا ۳ کپسوله شده استفاده شد. در این تحقیق از آنالیز آماری فاکتوریل سطح پاسخ Box-bhenken و نرم افزار minitab 15 برای آنالیز اندازه ذرات استفاده شد.

یافته‌ها: کمپلکس حاوی کازئینات سدیم ۰/۱٪، پکتین ۰/۴۵٪ در pH=۴/۱، دارای کوچکترین اندازه ذره (۸۶ نانومتر) و کمترین کدورت بود و با کپسولاسیون امگا ۳، اندازه ذرات تا ۱۱۸ نانومتر افزایش یافت. نتایج FTIR، تشکیل کمپلکس و ایجاد برهمکنش (الکتروستاتیک و آبگریز) بین بیوپلیمرها و امگا ۳ و نتایج DSC، تشکیل ساختارهای جدید را نشان دادند. کروماتوگرافی گازی، کارایی کپسولاسیون را برای فرمولاسیون‌های مختلف بین ۱۲-۷۶٪ نشان داد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که pH و غلظت بیوپلیمرهای پکتین و کازئینات نقش مهمی در اندازه ذرات کمپلکس و نهایتاً پایداری و کارایی انکپسولاسیون دارند و این سیستم می‌تواند بطور مؤثری برای درون پوشانی (انکپسولاسیون) امگا ۳ در نوشیدنی‌های با pH نسبتاً اسیدی به کار رود.

واژگان کلیدی: نانوکمپلکس کازئینات-پکتین، امگا ۳، DSC، FTIR و کارایی انکپسولاسیون

• مقدمه

آگاهی از خطرات احتمالی استفاده از غذاهای پرچرب، سبب شده است تا تقاضا برای غذاهای کم‌کالری و کم‌چرب و ترجیحاً غنی از فیبرهای رژیمی افزایش یابد که به نوبه خود موجب کمبود مواد مغذی محلول در چربی از جمله ویتامین‌های A، D، E و K، آنتی‌اکسیدان‌ها، اسیدهای چرب چند غیراشباعی و غیره می‌شود (۱). اسیدهای چرب امگا ۳، دسته‌ای از اسیدهای چرب چند غیر اشباعه (معمولاً بیش از دو پیوند دو گانه) می‌باشند که در حفظ سلامت سیستم قلبی ـ عروقی نقش به سزایی دارند. اسید لینولنیک، اسید ایکوزا پنتونئیک (EPA) و اسید دوکوزا هگزانوئیک (DHA) مهم‌ترین اسیدهای چرب امگا هستند که منابع اصلی آن ها غذاهای دریایی و برخی از فراورده‌های گیاهی مانند گردو، کلزا و بذر کتان می‌باشند (۴-۲). اسیدهای چرب امگا ۳ می‌توانند برای غنی‌سازی مواد غذایی کم‌چرب و یا تولید مواد غذایی فراسودمند مورد استفاده قرار گیرند، اما از آن جا که این ترکیبات آبگریز بوده و عملاً در آب نامحلولند، غنی-

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-16]

سازی فراورده‌های غذایی و نوشیدنی‌های آبی با آن بسیار مشکل می باشد. این ترکیبات به دلیل داشتن پیوندهای غیر اشباع، شدیداً به تخریب اکسیداتیو حساس و در اثر اکسیداسیون، علاوه بر تولید عطر و طعم نامناسب، اثرات سلامت بخشی آن نیز کاهش می‌یابد. استفاده از نانوحامل‌ها برای انتقال و حفاظت از مواد مغذی محلول در چربی یا به عبارت دیگر انکپسوله کردن این ترکیبات، راهکاری مناسب برای غلبه بر این مشکلات است (۵).

نانوانکپسولاسیون تکنیکی است که در آن حامل‌هایی با اندازه کمتر از ۱ میکرون (و گاهی ۱۰۰ نانومتر) به منظور غنی‌سازی مواد غذایی و انتقال ترکیبات غذا-دارو (نوتریسیتیکال) و زیست فعال (اسیدهای چرب ضروری، آنتی‌اکسیدان‌ها، کاروتنوئیدها و غیره) به بخش‌های هدف، تولید و مورد استفاده قرار می‌گیرد (۶). جنس نانوکپسول‌ها بسته به موارد استفاده در سیستم‌های غذایی متفاوت است و به دو دسته بیوپلیمری و لیپیدی تقسیم می‌شوند. در تولید نانوحامل‌های بیوپلیمری از پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها و یا کمپلکس آن‌ها استفاده می‌شود (۷). مزایای استفاده از نانوکپسول‌های بیوپلیمری برای ترکیبات غذا-داروی آبگریز شامل افزایش حلالیت ترکیبات آبگریز در نوشیدنی‌ها، حفاظت از این ترکیبات در برابر عوامل مخرب محیطی (مانند اکسیژن، نور)، آزادسازی کنترل شده در مواد غذایی و بدن، جلوگیری از ایجاد طعم و رنگ نامناسب در مواد غذایی و افزایش دسترسی زیستی می‌باشد (۹، ۸).

پروتئین‌های شیر دارای ویژگی‌های عملکردی فراوان هستند و به دو دسته مهم کازئین‌ها و پروتئین‌های آب پنیر تقسیم می‌شوند (۱۰). کازئین ۸۰-۷۵٪ پروتئین شیر را شامل می‌شود که به شکل میسلی در شیر وجود داشته و از چهار بخش اصلی آلفا اس۱کازئین، آلفا اس۲کازئین، کاپا-کازئین و بتاکازئین تشکیل شده است. این میسل‌ها، کلوئید-هایی کروی با اندازه ۵۰۰-۵۰ نانومتر هستند. در صنعت، با افزودن اسیدهای آلی و معدنی به شیر پس‌چرخ کازئین را رسوب می‌دهند و پس از طی مراحلی کازئینات تولید می-شود.

پکتین، هتروپلی‌ساکاریدی آنیونی است که در دیواره سلول گیاهان یافت می‌شود و زنجیر اصلی آن از واحدهای اسید گالاکتورونیک با اتصال آلفا-دی (۱به۴) تشکیل شده و به طور نسبی با متانول استری شده است (۱۱).

تحقیقات نشان داده است که کمپلکس بین بیوپلیمرهای پروتئینی و پلی‌ساکاریدی دارای پایداری و کاربرد بیشتری نسبت به بیوپلیمر تنها هستند. علاوه بر آن، به علت حلالیت بالاتر در آب و حفاظت بیشتر از محموله، دارای مزایایی نسبت به کپسول‌های لیپیدی می‌باشند (۷). باید توجه داشت که ایجاد برهمکنش‌های الکتروستاتیک و تشکیل کمپلکس‌های محلول بین پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها در صورتی به آسانی صورت می‌گیرد که pH محیط، بین نقطه ایزوالکتریک پروتئین و pka پلی‌ساکارید باشد؛ زیرا در این صورت، بارهای خالص الکتریکی دو بیوپلیمر، مخالف یکدیگر بوده و جاذبه بین بارهای مخالف، سبب تشکیل کمپلکس می‌شود (اگرچه در مورد پلی‌ساکاریدهایی مانند کاراگینان که دارای گروه اسیدی قوی سولفات است، در بالای pI پروتئین هم، نیروی الکترواستاتیک کافی برای ایجاد کمپلکس وجود دارد). لازم به ذکر است که کمپلکس تشکیل شده در صورتی پایدار و به صورت محلول باقی می‌ماند که مجموع بارهای کمپلکس تشکیل شده خنثی نباشد و بار خالص سطحی با ایجاد دافعه بین ذرات کمپلکس، از به هم پیوستن و توده‌ای شدن ذرات جلوگیری کند (۱۱). در این رابطه، بررسی‌های انجام شده توسط *Girard* و همکاران بر روی برهمکنش‌های پکتین ـ بتالاکتوگلوبولین طی تشکیل نانوکمپلکس نشان داد که پیوندهای یونی، هیدروژنی و الکتروستاتیک، اساس این برهمکنش‌ها را تشکیل می‌دهند و در محدوده‌های زیر نقطه ایزوالکتریک پروتئین، و افزودن مقادیر اضافی پکتین، نانوکمپلکس‌های محلول با دافعه الکتروستاتیک قوی ایجاد می‌شود که در نهایت پایداری سیستم کلوئیدی را افزایش می‌دهد (۱۱). در تحقیقی دیگر، *Luo* و همکاران با بررسی نانوکمپلکس‌های کیتوزان ـ زئین حاوی آلفاتوکوفرول نشان دادند که عامل تشکیل کمپلکس و پایداری سیستم، برهمکنش‌های الکترواستاتیک بین زئین و کیتوزان می‌باشد (۱۲).

همان طور که گفته شد، کمپلکس‌های بیوپلیمری نسبت به بیوپلیمر تنها بهتر می‌توانند از ترکیبات حساس در برابر عوامل نامساعد محیطی محافظت کنند. در این خصوص تحقیقات انجام شده توسط Zimet و همکاران نشان داد که امگا ۳ محصور شده در کمپلکس پکتین کم‌استر- بتا-لاکتوگلوبولین نسبت به امگا ۳ محصور در یک لایه بتالاکتوگلوبولین، به میزان کمتری تحت تأثیر عوامل مخرب محیطی قرار می‌گیرد (۷). علاوه بر این، تحقیقات انجام شده توسط *Ron* و همکاران در خصوص پایداری و حفاظت ویتامین D_2 محصور در کمپلکس پکتین کم‌استر- بتا-لاکتوگلوبولین این مطلب را تأیید کرد و نشان داد که نانوکمپلکس‌های بیوپلیمری (پکتین-بتالاکتوگلوبولین) نسبت به تک لایه بتالاکتوگلوبولین، پوشش مناسب‌تری برای حفاظت از ویتامین D_2 می‌باشند (۱۳). این محققان هم‌چنین نشان دادند که پایداری ویتامین ریزپوشانی شده نسبت به حالت آزاد در محیط آبی بیشتر است (۱۳و۱۴). با توجه به توانایی این بیوپلیمرها در تولید نانوذراتی با اندازه ۷۰-۵۰ نانومتر و پایداری آن‌ها در محیط آبی، Ron و همکاران،

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-16]

نانوکمپلکس پکتین ـ بتالاکتوگلوبولین را برای غنی‌سازی نوشیدنی‌های شفاف بدون چربی (با ترکیبات آبگریز نظیر ویتامین D_2) مناسب دانستند (۱۳). *Ye* و همکاران نیز با بررسی بیوپلیمرهای کازئینات سدیم و صمغ عربی، توانایی این دو بیوپلیمر را در تشکیل نانوکمپلکس‌های پایدار با اندازه ذرات ۱۰۰- ۲۰۰ نانومتر نشان دادند (۶). در تحقیقی دیگر Bedie و همکاران، اثر عوامل مختلف از جمله نسبت اختلاط دو بیوپلیمر، pH محیط و هم‌چنین روش و زمان اسیدی کردن، قبل و بعد از اختلاط بیوپلیمرها را در تشکیل کمپلکس‌های پکتین (LMP) و پروتئین ایزوله آب پنیر (WPI) حاوی تیامین (ترکیب حساس محلول در آب) مورد مطالعه قرار دادند و نشان دادند که این عوامل بر پایداری، اندازه ذرات و کاهش تخریب تیامین مؤثرند (۱۵). سایر تحقیقات نیز نشان داد که رعایت نسبت مناسب بین بیوپلیمرها و pH محیط، علاوه بر تأثیر بر اندازه ذرات، بر میزان پایداری و عدم توده‌ای شدن کمپلکس‌ها و هم‌چنین جلوگیری از تخریب ترکیب مغذی مؤثر است (۱۳، ۷). علیرغم تحقیقات اخیر در مورد کاربرد کپسولاسیون ترکیبات زیست فعال توسط بیوپلیمرها، پژوهش‌های بسیار اندکی وجود دارد که به کپسولاسیون اسیدهای چرب ضروری توسط کمپلکس‌های بیوپلیمری پرداخته باشد.

هدف از این پژوهش، تولید نانوکپسول‌هایی بر پایه کمپلکس بیوپلیمرهای کازئینات سدیم و پکتین پراستر و ارزیابی کارایی کپسولاسیون آن‌ها برای اسیدهای چرب امگا ۳ بود. برای این منظور از تکنیک‌های مختلفی برای اثبات تشکیل کمپلکس و رسیدن ذرات به محدوده نانو استفاده شد و سپس میزان کپسوله شدن امگا ۳ در ساختار بیوپلیمری توسط کروماتوگرافی گازی اندازه‌گیری شد.

• مواد و روش‌ها

مواد: کازئینات سدیم (۸۸٪ پروتئین) با ۶٪ رطوبت از شرکت DMV هلند و پکتین با درجه متوکسیل بالا از شرکت *CP Kelco* دانمارک و امگا ۳ غنی شده (حاوی ۶۰٪ اسیدهای چرب ایکوزاهگزانوئیک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید) از *شرکت* داروسازی دانا تبریز خریداری شد. نمک‌های تری پتاسیم سیترات، دی پتاسیم هیدروژن فسفات، کلرید کلسیم، اسید کلریدریک، هیدروکسید سدیم، استون و اتانول از شرکت مواد شیمیایی *Merck* (آلمان) تهیه شدند.

تهیه محلول‌های کازئیناتی: پودر کازئینات سدیم با مقادیر مختلف ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم در ۱۰۰میلی لیتر آب دوبار تقطیر $4^{\circ}C$ حل و به منظور حداکثر جذب آب کازئینات، به مدت ۸ ساعت در دمای یخچال نگهداری شد. پس از آن محلول از کاغذ فیلتر Whatman 40 با استفاده از پمپ خلأ عبور داده شد (۱۳).

تهیه محلول‌های پکتینی: مقادیر ۰/۲، ۰/۴۵ و ۰/۷گرم پودر پکتین به تدریج به آب دو بار تقطیر $80^{\circ}C$ -$70^{\circ}C$ افزوده و تا حل شدن کامل، به طور مداوم توسط همزن مغناطیسی (مدل Jenwey 1000، ساخت انگلستان) همزده شد. محلول‌های حاصل پس از ۱/۵ – ۱ ساعت (سرد شدن) به حجم نهایی ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شدند و به منظور کامل شدن جذب آب پکتین، حداقل به مدت ۸ ساعت قبل از استفاده، در یخچال نگهداری شدند. کلیه محلول‌های مورد استفاده روزانه و به صورت تازه تهیه شدند (۱۳).

تهیه محلول حاوی امگا ۳: برای تهیه محلول ۵۰٪ امگا ۳، مقدار ۷/۵ میلی‌لیتر روغن امگا ۳ در حلال استون‌ـاتانول (با نسبت ۱۶ به ۸۴) حل و در نهایت به حجم ۱۵ میلی‌لیتر رسانده شد.

تهیه محلول نانوکمپلکس: پس از تهیه محلول‌های کازئیناتی، مقدار ۴ میلی‌لیتر محلول حاوی ۵۰٪ امگا ۳ به محلول کازئیناتی ۱ و ۱/۵ (**w/v**٪) و ۲ میلی‌لیتر محلول امگا ۳ به محلول کازئیناتی ۰/۵ (**w/v**٪) افزوده و به مدت ۵ دقیقه با استفاده از هموژنایزر و با سرعت ۸۰۰۰ دور بر دقیقه به شدت همزده شد. پس از آن مقدار ۲ میلی‌لیتر نمک تری پتاسیم سیترات ۰/۴ مولار و دو محلول نمکی کلرید کلسیم ۰/۰۸ مولار و دی پتاسیم هیدروژن فسفات ۰/۰۸ مولار به ترتیب با مقادیر ۱۰ میلی‌لیتر و ۱۲ میلی‌لیتر طی ۸ مرحله و در فواصل زمانی ۱۵ دقیقه به محلول اضافه شدند (۱۶). در این مرحله پس از رساندن محلول به حجم مورد نظر و تنظیم pH در حالت خنثی (با استفاده از NaOH یا HCL ۰/۱ نرمال)، محلول‌های پکتینی از قبل تهیه شده به محلول پروتئینی افزوده شدو تیتراسیون تا pH مورد نظر (۴/۳، ۴/۱ و ۳/۹) با HCL ۰/۱ نرمال انجام شد (۱۳). محلول‌های نانوکمپلکس تهیه شده با غلظت‌های مختلف پکتین و کازئینات سدیم و pHهای مختلف، در جدول (۱-الف) آورده شده است. کلیه نمونه‌ها در حمام آبی $4^{\circ}C$ تهیه شدند.

طیف‌سنجی فرو سرخ (FTIR): برای اندازه‌گیری طیف IR از قرص‌های حاصل از پودرهای خشک شده در دستگاه خشک کن انجمادی تحت خلا (مدل ۴ـ۱ Christ α ساخت آلمان) استفاده شد. قرص‌های نازک با ضخامت کمتر از ۱ میلیمتر از اختلاط و آسیاب پودر لیوفیلیزه شده و برمید پتاسیم با نسبت‌های ۱ به ۱۰ و سپس اعمال فشار ۶۰ کیلو پاسکال، به مدت ۲ دقیقه در دستگاه تهیه قرص تهیه شدند و در عدد موجی $400 cm^{-1}$ ـ $4000 cm^{-1}$ و با قدرت تفکیک $4 cm^{-1}$ در دستگاه FTIR (مدل Shimadzu 8400 S ساخت آلمان)، مورد آنالیز قرار گرفتند (۱۷).

آزمون گرماسنجی اسکنی افتراقی (DSC): اندازه‌گیری‌های DSC در دستگاه DSC (مدل NETZSCH

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-16]

200 F 3 Maia ساخت آلمان) انجام شد. کالیبراسیون دستگاه توسط ایندیوم صورت گرفت. ظرف آلومینیومی خالی به عنوان مرجع مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌های با وزن تقریبی ۰/۵ گرم با سرعت ۳۰ °C/min در گستره دمایی ۵۰ تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد اسکن شدند. آنالیز کمپلکس کازئینات-پکتین حاوی امگا ۳ در گستره دمایی ۳۰۰-۵۰- درجه سانتی‌گراد انجام شد [۱۲].

تعیین اندازه ذرات: توزیع اندازه ذرات و قطر متوسط آن‌ها در دستگاه آنالیز کننده اندازه ذرات (مدل SALD 2101 Shimadzu ساخت ژاپن) بر اساس روش تفرق نور لیزر اندازه‌گیری شد. متوسط اندازه ذرات بر اساس میانگین قطر حجمی تعیین شدند و کلیه نمونه‌ها در سه تکرار اندازه‌گیری شدند.

میانگین قطر حجمی (میانگین حجم معادل) یا DeBroukere mean:

معادله (۱) $$\overline{D}[4,3] = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3}$$

توزیع اندازه ذرات با استفاده از معادله زیر محاسبه شد:

معادله (۲) $$\text{Span} = \frac{D(90\%) - D(10\%)}{D(50\%)}$$

در این رابطه D (90%): قطری که حجم ذرات کوچکتراز آن، ۹۰٪ حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد. D (50%): قطری که حجم ذرات کوچکتر از آن، ۵۰٪ حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد (قطر میانه). D (10%): قطری که حجم ذرات کوچکتراز آن، ۱۰٪ حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد. میزان Span کمتر، نشان‌دهنده یکنواختی بیشتر در توزیع اندازه ذرات می‌باشد.

اندازه‌گیری کدورت: کدورت کمپلکس‌های بیوپلیمری حاوی امگا ۳ و بدون آن، در دستگاه کدورت سنج Heidolph (مدل TN-100 ساخت آلمان) و در عدد موج ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شدند (۱۳).

تعیین مقدار DHA توسط کروماتوگرافی گازی (GC): آنالیز متیل استرهای اسیدهای چرب با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (مدل 2010 PLUS ساخت آلمان) مجهز به دتکتور mass spectrometery و ستون Sol Gel-1ms با طول ۳۰ متر و قطر ۰/۳۲ متر در بخش R&D کارخانه تکدانه مرند انجام شد. اسیدهای چرب، با مقایسه پیک‌های حاصله و زمان احتباس مربوطه با مقادیر متناظر (Rt; Retention time) اسیدهای چرب استاندارد شناسایی و مقادیر کمی آن‌ها از طریق مقایسه مساحت زیر پیک اسیدهای چرب نمونه و استاندارد داخلی تعیین شد. برای تهیه محلول استاندارد داخلی، ۵۰ میلی‌گرم هپتادکانوئیک اسید با استون در بالون ژوژه به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از آن به منظور انحلال کامل در استون به مدت ۱۰ دقیقه در آون ۶۷°C قرار داده شد. برای استخراج امگا ۳ از پودرهای کمپلکس، به میزان ۲۰ میلی‌گرم و مدت ۱۰ دقیقه در ۵ میلی‌لیتر استون استفاده شد. این ترکیب مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ (۲۰۰۰ rpm و توان ۴۰ وات) و سپس محلول رویی حاوی امگا ۳، از مواد جامد ته نشین شده (کمپلکس کازئینات-پکتین) جداو برای مشتق‌سازی، ۱ میلی‌لیتر کمپلکس بورتری‌فلورید متانول به آن اضافه شد و به مدت ۴۵ دقیقه در آون ۸۰ °C قرار گرفت. پس از سرد شدن نمونه‌ها، ۱ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم ۲ نرمال و در نهایت ۱ میلی‌لیتر n-هگزان به نمونه‌ها اضافه شد و پس از ۵ دقیقه سانتریفوژ، فاز رویی به دقت جدا شده و به GC تزریق شد. برای تهیه نمونه استاندارد مقدار ۲۰ میلی‌گرم از روغن امگا ۳ با استون به حجم ۲۰ میلی‌لیتر رسید و ۲ میلی‌لیتر از این محلول به لوله ویال منتقل شد. بقیه مراحل مشتق‌سازی همانند سایر نمونه‌های کمپلکس انجام شد.

محاسبه کارایی انکپسولاسیون: به منظور بررسی درصد امگا ۳ کپسوله شده در کپسول‌های کازئینات-پکتین، ابتدا مقادیر امگا ۳ آزاد در محلول، از طریق سانتریفوژ دور پایین (۱۰۰۰ rpm) به مدت ۱۰ دقیقه جداسازی و بقیه محلول حاوی کمپلکس کازئینات-پکتین-امگا ۳ در دستگاه خشک کن انجمادی تحت خلا خشک شد. مقدار امگا ۳ کپسوله شده از طریق کروماتوگرافی گازی ارزیابی شد. کارایی کپسولاسیون توسط رابطه زیر تعیین گردید (۷):

معادله (۳)

$$\text{کارایی کپسولاسیون} = \frac{\text{کل امگا ۳ افزوده شده} - \text{امگا ۳ آزاد}}{\text{کل امگا ۳ افزوده شده}} = \frac{\text{امگا ۳ کپسوله شده}}{\text{کل امگا ۳ افزوده شده}}$$

تجزیه و تحلیل آماری: در این تحقیق از آنالیز آماری فاکتوریل سطح پاسخ Box-bhenken و نرم افزار minitab 15 برای آنالیز اندازه ذرات استفاده شد. داده‌های به دست آمده از سایر آزمون‌ها با استفاده از نرم افزار Excel مورد پردازش قرار گرفت. کلیه آزمون‌ها در سه تکرار انجام شدند.

• یافته‌ها

اندازه ذرات: کاهش اندازه ذرات به مقیاس نانومتری موجب افزایش ویژگی‌های مطلوب نظیر پایداری، شفافیت و کارایی انکپسولاسیون سیستم می‌شود. در ابتدا به منظور یافتن فرمولاسیونی مناسب با اندازه ذرات نانو، از غلظت‌های مختلف پکتین (۰/۲، ۰/۴۵ و ۰/۷٪)، کازئینات (۰/۵، ۱ و ۱/۵٪) و pHهای مختلف (۳/۹، ۴/۱ ۴/۳)، برای ساخت نانوکمپلکس کازئینات-پکتین استفاده شد. نتایج مربوط به قطر متوسط و توزیع اندازه ذره‌ای نانوکمپلکس‌های تولید شده در جدول (۱-الف) گزارش شده است. نتایج جدول و

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-16]

بررسی اثر نسبت‌های مختلف کازئینات ـ پکتین در اندازه ذرات کمپلکس در pH=۴/۱، نشان داد که در غلظت‌های ثابت ۱/۵٪ کازئینات سدیم، کاهش غلظت پکتین از ۰/۷٪ به ۰/۲٪ موجب افزایش شدید در اندازه ذرات از ۱۰۹۴ نانومتر به ۱۲۰۲۵ نانومتر شد؛ در حالیکه در مقادیر کم‌تر کازئینات سدیم (۰/۵٪)، کاهش غلظت پکتین، اندازه ذرات را از ۲۲۰۰ نانومتر به ۱۵۰ نانومتر کاهش داد. این اختلاف از نظر آماری در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار بود (جدول ۱ـ ب).

بررسی اثر متقابل بین پکتین و pH، در مقادیر ثابت کازئینات سدیم نیز نشان داد که در مقادیر ثابت کازئینات سدیم ۱٪، بسته به pH مورد استفاده، پکتین دارای اثرات متفاوتی بر اندازه ذرات می‌باشد؛ به طوری که در غلظت‌های کم پکتین (۰/۲٪)، کاهش pH از ۴/۳ به ۳/۹ شدت اندازه ذرات را از ۶۳۹ نانومتر در کمپلکس ۱٪ کازئینات و پکتین ۰/۲٪ به ۱۲۳۰۳/۵ نانومتر افزایش داد. در حالی که، در غلظت بالای پکتین (۰/۷٪)، نتیجه عکس مشاهده شد و کاهش pH، سبب کاهش در اندازه ذرات شد (جدول ۱-الف). با توجه به جدول ۱ـ ب مشاهده شد که این اختلاف از نظر آماری در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار است (P=۰/۰۰۰۱). نتایج نشان دادند که کلیه پارامترها (غلظت کازئینات سدیم، پکتین و pH)، بر توزیع اندازه ذره‌ای به طور معنی‌داری (در سطح ۰/۰۵) مؤثرند: به طوریکه افزایش غلظت کازئینات سدیم و کاهش پکتین در pHهای اسیدی‌تر، توزیع اندازه ذرات را افزایش می‌دهد اما اثر متقابل بین این پارامترها در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار نبود (جدول ۱ـ ب).

جدول ۱. الف ـ اندازه و توزیع اندازه ذره‌ای در غلظت‌های مختلف کازئینات سدیم، پکتین و pH

	A	B	C	میانگین قطر حجمی (nm) ±انحراف معیار	اسپن
۱	۴/۳	۱	۰/۲	۶۴۸ ±۵۸	۵/۸۲ ±۰/۰۲
۲	۳/۹	۱	۰/۲	۱۰۵۲۹ ±۲۳۰	۳/۰۹ ±۰/۱۵
۳	۴/۳	۱	۰/۷	۷۲۳ ±۲۵	۱/۳۳ ±۰/۰۳
۴	۴/۱	۱	۰/۴۵	۸۶ ±۵	۰/۹۳ ±۰/۰۲
۵	۴/۳	۰/۵	۰/۴۵	۱۶۴۵ ±۱۴۹	۴/۸۴ ±۰/۰۱
۶	۴/۱	۰/۵	۰/۷	۲۲۰۰ ±۱۰۳	۴/۶۲ ±۰/۰۲
۷	۳/۹	۰/۵	۰/۴۵	۱۷۴۳ ±۱۴۱	۵/۹۵ ±۰/۰۲
۸	۳/۹	۱/۵	۰/۴۵	۶۱۵۷ ±۱۰۸	۲/۸۵ ±۰/۰۶
۹	۴/۱	۱	۰/۴۵	۹۹ ±۶	۰/۸۹ ±۰/۶۷
۱۰	۴/۳	۱	۰/۲	۶۳۹ ±۴۴	۴/۹۰ ±۰/۱۲
۱۱	۴/۱	۱	۰/۴۵	۹۳ ±۸	۰/۹۳ ±۰/۵۳
۱۲	۴/۱	۱	۰/۴۵	۸۶ ±۵	۰/۸۷ ±۰/۰۵
۱۳	۳/۹	۱	۰/۷	۳۸۰ ±۸	۰/۸۳ ±۰/۰۱
۱۴	۴/۱	۰/۵	۰/۷	۲۱۰۰ ±۸۶	۴/۴۲ ±۰/۰۹
۱۵	۴/۱	۱/۵	۰/۷	۱۰۹۴ ±۷۲	۰/۷۹ ±۰/۱۵
۱۶	۴/۳	۰/۵	۰/۴۵	۲۲۱۸ ±۴۲۸	۴/۵۸ ± ۰/۲۳
۱۷	۴/۳	۱	۰/۷	۷۹۳ ± ۵۴	۰/۸۳ ±۰/۱۵
۱۸	۴/۱	۰/۵	۰/۲	۱۵۰ ±۳۰۵	۲/۶۷ ±۰/۰۰
۱۹	۴/۱	۱/۵	۰/۲	۱۲۰۲۵ ±۳۳۷	۲/۸۴ ±۰/۰۱
۲۰	۴/۱	۱	۰/۴۵	۹۳ ±۶	۰/۹۶ ±۰/۰۱
۲۱	۴/۳	۱	۰/۴۵	۶۲۲ ±۱۱	۰/۷۶ ±۰/۰۰
۲۲	۴/۳	۱	۰/۴۵	۶۲۶ ±۶۴	۰/۷۸ ±۰/۰۳
۲۳	۳/۹	۱	۰/۲	۱۲۳۰۳ ±۱۸۴	۲/۹۰ ±۰/۰۶
۲۴	۴/۱	۱	۰/۴۵	۹۴ ±۱	۰/۷۱ ±۰/۰۹
۲۵	۴/۱	۱/۵	۰/۷	۱۱۹ ±۳۸	۰/۸۳ ±۰/۲۴
۲۶	۳/۹	۱	۰/۷	۳۲۲ ±۲	۰/۸۸ ±۰/۰۱
۲۷	۴/۱	۱/۵	۰/۲	۱۲۰۶۹ ±۸۴۸	۲/۸۴ ±۰/۰۸
۲۸	۳/۹	۰/۵	۰/۴۵	۱۷۵۸ ±۱۴۰	۵/۹۵ ±۰/۰۴
۲۹	۳/۹	۱/۵	۰/۴۵	۵۹۲۱ ±۴۰۹	۲/۸۴ ±۰/۲۹
۳۰	۴/۱	۰/۵	۰/۲	۱۵۰ ±۲۱۸	۲/۶۷ ±۰/۰۰
۳۱	۴/۱	۱	۰/۴۵	۷ ± ۱۱۸	۰/۹۸ ± ۰/۰۲
حاوی امگا ۳					

A: pH، B: کازئینات سدیم و C: پکتین

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-16]

جدول ۱. ب ـ ضرایب رگرسیونی و سطوح معنی‌دار برای پارامترهای مختلف پکتین، کازئینات سدیم، pH و اثر متقابل بین آن‌ها بر اندازه و توزیع اندازه ذرات

	اندازه ذرات			توزیع اندازه ذرات		
	ضریب همبستگی	ارزش T	ارزشP	ضریب همبستگی	ارزش T	ارزشP
ثابت معادله	۹۱/۸۳	۰/۲۰۲	۰/۸۴۲	۰/۸۸۴۷	۲/۰۶۱	۰/۰۵۳
pH	-۱۹۹۴/۹۴	-۶/۹۹۵	۰/۰۰۰۱	-۰/۰۹۰۰۶	-۰/۰۳۴۳	۰/۷۳۵
کازئینات سدیم	۱۷۲۹/۳۱	۶/۲۰۴	۰/۰۰۰۱	-۱/۳۲۳۶	-۵/۰۳۵	۰/۰۰۰۱
پکتین	-۲۴۸۶/۳۸	-۸/۹۲۰	۰/۰۰۰۱	-۰/۸۲۵۲۹	-۳/۱۴۲	۰/۰۰۵
pH×pH	۹۶۱/۵۸	۲/۳۴۴	۰/۰۳۰	-	-	-
کازئینات سدیم × کازئینات سدیم	۱۵۳۲/۸۳	۳/۷۳۶	۰/۰۰۱	-	-	-
پکتین × پکتین	۲۲۳۸/۷۱	۵/۴۵۶	۰/۰۰۰۱	-	-	-
کازئینات سدیم ×pH	-۱۳۹۹/۰۰	-۳/۵۴۹	۰/۰۰۲	-۰/۲۰۷۹	-۰/۵۵۹	۰/۵۸۲
پکتین ×pH	۲۷۹۴/۸۸	۷/۰۹۰	۰/۰۰۰۱	-۰/۵۳۶۵۳	-۱/۴۴۳	۰/۱۶۴
پکتین × کازئینات سدیم	-۳۲۳۵/۱۳	-۸/۲۰۷	۰/۰۰۰۱	-۰/۹۶۹۶۱	-۲/۶۰۸	۰/۰۱۷

جدول ۱-ج، کدورت محلول‌های حاوی نانوکمپلکس با نسبت‌های مختلف کازئینات سدیم و پکتین، حاوی امگا ۳ و بدون امگا ۳ در pH=۴/۱ را نشان می‌دهد. با توجه به نتایج جدول مشاهده می‌شود که استفاده از غلظت‌های مختلف کازئینات سدیم در مقادیر ثابت پکتین، با اثر بر اندازه ذرات کمپلکس و هم‌چنین پایداری، بر کدورت سیستم‌های حاوی نانوکمپلکس مؤثر است.با افزایش غلظت کازئینات سدیم از ۰/۵٪ به ۱/۵٪ کدورت سیستم به طور معنی‌داری (در سطح ۰/۰۵) افزایش می‌یابد (جدول ۱-ج). با توجه به این نتایج بیشترین کدورت در نمونه‌های حاوی ۰/۲٪ پکتین در مقادیر ثابت کازئینات سدیم مشاهده شد. نتایج نشان می‌دهد که استفاده از غلظت-های مختلف پکتین نیز با اثر بر اندازه ذرات، کدورت سیستم را تغییر داده ولی این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد (جدول ۱-ج).

جدول ۱. ج ـ کدورت نانوکمپلکس‌های کازئینات سدیم ـ پکتین (حاوی امگا ۳ و بدون امگا ۳) با غلظت‌های مختلف و pH=۴/۱

نمونه	کدورت (NTU)
کمپلکس کازئینات سدیم ۰/۵ ـ پکتین ۰/۲	۳۶۴ [a]
کمپلکس کازئینات سدیم ۱ ـ پکتین ۰/۲	۹۱۰ [ab]
کمپلکس کازئینات سدیم ۱/۵ ـ پکتین ۰/۲	< ۱۰۰۰ [b]
کمپلکس کازئینات سدیم ۰/۵ ـ پکتین ۰/۴۵	۲۹۷ [a]
کمپلکس کازئینات سدیم ۱ ـ پکتین ۰/۴۵	۴۰۰ [ab]
کمپلکس کازئینات سدیم ۱/۵ ـ پکتین ۰/۴۵	۶۶۳ [b]
کمپلکس کازئینات سدیم ۰/۵ ـ پکتین ۰/۷	۲۳۹ [a]
کمپلکس کازئینات سدیم ۱ ـ پکتین ۰/۷	۴۳۵ [ab]
کمپلکس کازئینات سدیم ۱/۵ ـ پکتین ۰/۷	۶۳۲ [b]
کمپلکس کازئینات سدیم ۱ـ پکتین ۰/۴۵ـ امگا ۳	< ۱۰۰۰ [b]

غلظت بیوپلیمرها بر حسب درصد وزنی ـ حجمی می‌باشد.
حروف مختلف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

با در نظر گرفتن نتایج حاصل از اندازه ذرات و کدورت، بهترین نمونه کمپلکس کازئینات-پکتین، با کمترین اندازه ذره (۸۶ نانومتر) با نسبت‌های کازئینات ۱٪ و پکتین ۰/۴۵٪ و pH=۴/۱ انتخاب (جدول ۱-الف) و روغن امگا ۳ به ترکیب اضافه شد و اثر آن بر اندازه ذرات و میزان کدورت مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که کمپلکس حاوی امگا ۳ دارای کدورت بالاتر از NTU ۱۰۰۰ بود و این کدورت نسبت به کمپلکس بدون امگا ۳ (NTU ۴۰۰)، به طور معنی‌داری بالاتر بود (جدول ۱-ج). هم‌چنین افزودن امگا ۳ به کمپلکس سبب افزایش جزئی از ۸۶ نانومتر به ۱۱۸ نانومتر در اندازه ذرات شد (جدول ۱-الف). این نمونه‌ها هم‌چنین از نظر میزان پایداری مورد ارزیابی قرار گرفتند و پس از دو ماه در سیستم‌ها رسوبی مشاهده نشد و در طی این مدت زمان، کمپلکس‌ها پایداری خود را حفظ کردند.

طیف‌سنجی فرو سرخ (FT-IR): آنالیز اسپکتروسکوپی IR، به منظور شناسایی و تشخیص انکپسولاسیون امگا ۳ در کازئینات سدیم، برقراری برهمکنش‌های الکتروستاتیک بین پکتین و کازئینات سدیم حاوی امگا ۳ و یا بدون آن و در نهایت اثر تیمار حرارتی بر کمپلکس کازئینات سدیم-پکتین حاوی امگا ۳ مورد ارزیابی قرار گرفت. پیوندهای هیدروژنی – NH مربوط به کازئینات سدیم، پیک بزرگی در محدوده عدد موج‌های cm^{-1} ۳۱۰۰-۳۳۰۰ نشان داد (شکل ۱-b). در این محدوده پهن بودن پیک، پیوندهای هیدروژنی قوی در ترکیب را نشان می‌دهد. نتایج حاصل از طیف‌سنجی IR ترکیبات امگا ۳، و محدوده جذب گروه‌های عاملی مختلف، در جدول (۲) نشان داده شده است. با توجه به شکل و مقایسه طیف IR کازئینات (b) و کازئینات حاوی امگا ۳(a)، مشاهده شد که تقریباً تمامی پیک‌های مربوط به امگا ۳، با

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-16]

کپسوله شدن در کازئینات، حذف شده است. هم‌چنین پیک‌های مربوط به عدد موج‌های cm^{-1} ۳۳۲۱، ۳۰۶۲، ۲۹۶۸ و ۱۵۲۲ در کازئینات، به ترتیب به ۳۲۹۵، ۳۰۶۷، ۲۹۵۳ و ۱۵۵۹ در کازئینات حاوی امگا ۳ انتقال یافتند، علاوه بر این، نتایج طیف‌سنجی نمونه کازئیناتی حاوی امگا ۳، تشکیل پیک تیزتری در عدد موج cm^{-1} ۳۱۰۰-۳۳۰۰ و انحراف آن به سمت راست را نشان داد.

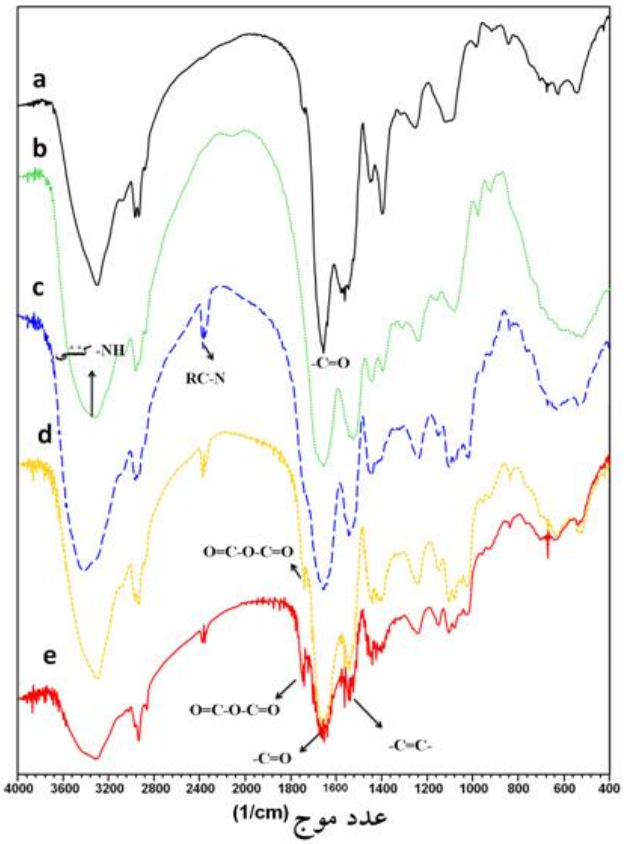
نمودار جذب IR ترکیب کمپلکس کازئینات سدیم‌پکتین، بدون امگا ۳ (شکل ۱-c) ظهور یک پیک جدید در عدد موج cm^{-1} ۲۳۳۹، در اثر ایجاد برهمکنش و هم‌چنین باریک‌تر شدن پیک‌های مربوط به محدوده عدد موج cm^{-1} ۳۱۰۰ـ۳۵۰۰ و تمایل آن به سمت چپ را نشان داد. تیز شدن پیک در این منطقه تشکیل پیوندهای هیدروژنی ضعیف‌تری را در حالت تشکیل کمپلکس نشان می‌دهد. این پیک در سایر نمونه‌های مربوط به کمپلکس کازئینات‌ـپکتین حاوی امگا ۳ نیز مشاهده می‌شود.

شکل (۱-d)، ترکیب کمپلکس بین بیوپلیمرها به همراه امگا ۳ را نشان می‌دهد. در این نمودار نیز جابه‌جایی پیک‌ها همانند نمودار a بود و علاوه بر آن در این طیف، یک پیک جدید در عدد موج cm^{-1} ۱۷۸۳مشاهده شد.

در ادامه به منظور بررسی اثر تیمار حرارتی بر پایداری امگا ۳، از نمونه پاستور شده کمپلکس حاوی امگا ۳، طیف IR تهیه شد و نتایج آن (شکل ۱-e) کاهش جذب IR در عدد موج cm^{-1} ۱۶۵۳ (پیوندهای دوگانه سیس -C=C- در امگا ۳) و cm^{-1} ۳۰۱۲ (گروه‌های عاملی C-H- متصل به -C=C-) را نشان داد. با توجه به طیف‌های a، d و e مشاهده می‌شود که میزان جذب IR در عدد موج cm^{-1} ۱۷۴۳ (ارتعاشات کششی مربوط به گروه کربوهیدرات متیل استر -C=O)، در نمودار a کم، و با افزودن پکتین به ترکیب، این مقدار زیادتر شده است.

جدول ۲. عدد موج‌های مربوط به گروه‌های عاملی موجود در اسیدهای چرب امگا ۳

گروه عاملی	موقعیت باند (cm^{-1})
C-H= (سیس، ارتعاشات کششی)	۳۰۱۲
C-H- (گروه‌های CH3، ارتعاشات کششی آسیمتریک)	۲۹۵۴
C-H- (گروه‌های CH2، ارتعاشات کششی آسیمتریک)	۲۹۲۱
C-H- (گروه‌های CH2 و CH3، ارتعاشات کششی سیمتریک)	۲۸۵۲
C=O- (ارتعاشات کششی استری)	۱۷۴۳
C=C- (ارتعاشات کششی پیوندهای دوگانه سیس)	۱۶۵۳
C-H- (ارتعاشات خمشی)	۱۴۵۷
C-H- (ارتعاشات خمشی سیمتریک)	۱۳۷۶
C-O- (ارتعاشات کششی) وCH2 (ارتعاشات خمشی)	۱۲۳۰
C-O- (ارتعاشات کششی)	۱۱۴۵



شکل ۱. طیف FTIR نمونه‌های a: کازئینات‌ـامگا ۳، b: کازئینات سدیم، c: کمپلکس پکتین‌ـکازئینات، d: کمپلکس پکتین‌ـکازئینات‌ـامگا ۳ و e: کمپلکس پکتین‌ـکازئینات‌ـامگا ۳ با تیمار حرارتی

گرماسنجی اسکنی افتراقی (DSC): شکل (۲) منحنی گرمایشی DSC مربوط به پودرهای خشک شده بیوپلیمرهای پکتین (a) و کازئینات سدیم خالص (b) و هم‌چنین مخلوط خشک این دو بیوپلیمر حاوی امگا ۳ (c) و بدون آن (d) در شرایط اسیدی (pH=۴/۱) و هم‌چنین کازئینات حاوی امگا ۳ (e) را نشان می‌دهد. در همه منحنی‌ها پیک اندوترمیک ذوب مشاهده شد. پیک اندوترمیک مربوط به پکتین و کازئینات خالص به ترتیب در دمای $^{\circ}C$ ۲۰۸/۴ و $^{\circ}C$ ۲۰۶/۳ مشاهده شدند که به تفکیک پیوندهای درون مولکولی و ذوب نواحی کریستالی این دو ترکیب مربوط می‌شود. هم‌چنین در آنالیز پکتین، یک پیک اضافه در دمای $^{\circ}C$ ۱۲۶مشاهده شد که احتمالاً مربوط به تبخیر و خروج آب‌های پیوسته از ساختار پکتین و یا بخش‌هایی از پلیمر می‌باشد که دارای نظم و اتصالات بین زنجیری کمتری هستند، زیرا پکتین کربوهیدراتی است که تمایل زیادی به ایجاد پیوندهای هیدروژنی با آب دارد. همان طور که مشاهده می‌شود با اختلاط محلول‌های ۱٪ کازئینات سدیم و ۰/۴۵٪ پکتین در شرایط اسیدی (pH=۴/۱)، پیک مربوط به پکتین و کازئینات

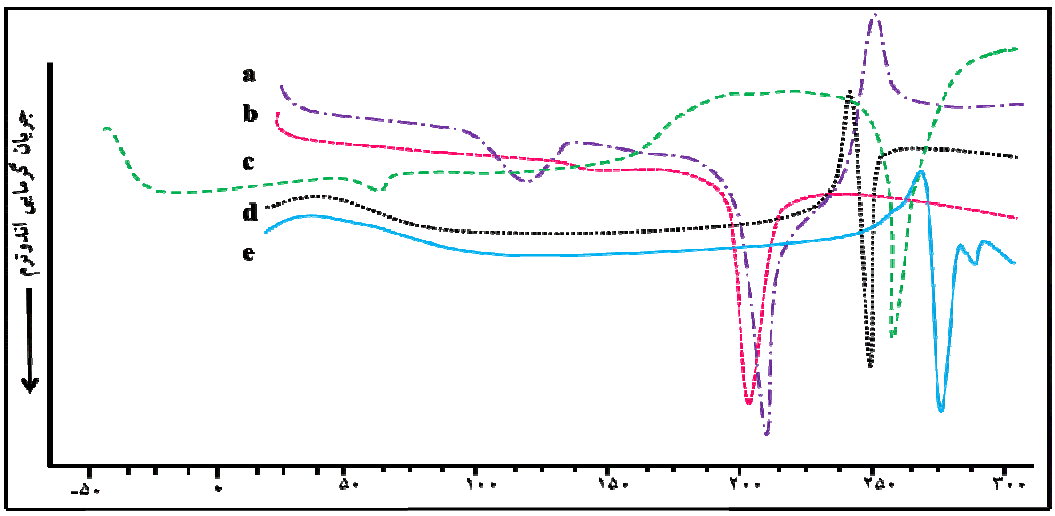
[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-16]

خالص حذف شده و مخلوط این دو، یک پیک جدید را در دمای ۲۴۸/۷°C نشان می‌دهد (شکل ۲-d). آنالیز DSC برای نمونه کمپلکس حاوی امگا ۳ از دمای ۴۵°C- (کمتر از دمای ذوب امگا ۳) تا ۳۰۰°C انجام شد. در این نمودار نیز تنها یک پیک ذوب وجود دارد و پیک مربوط به ذوب امگا ۳ در آن دیده نمی‌شود و با توجه به شکل، با کپسولاسیون امگا ۳، دمای ذوب کمپلکس افزایش یافته است. بیشترین نقطه ذوب مربوط به نمونه کازئیناتی‌ـامگا ۳ (بدون پکتین) می‌باشد. علاوه بر آن، در این ترکیب، یک پیک کوچک اندوترمیک در دمای حدود ۲۸۰°C مشاهده شد. نتایج مربوط به دمای انتقال شیشه‌ای، آنتالپی و دمای ذوب نمونه‌های مورد نظر در جدول (۳) آورده شده است و همان طور که مشاهده می‌شود، ایجاد کمپلکس بین پکتین و کازئینات و هم‌چنین انکپسولاسیون امگا ۳ در کمپلکس، دمای انتقال شیشه‌ای و آنتالپی ذوب را به دلیل کاهش وزن مولکولی متوسط نمونه کمپلکس نسبت به مواد خام اولیه و هم‌چنین افزایش حجم آزاد و فضاهای خالی کمپلکس، کاهش داد.

کارایی انکپسولاسیون اسیدهای چرب امگا ۳: انواع مختلف اسیدهای چرب موجود در مخلوط امگا ۳ تجاری کپسوله شده و کارایی کپسولاسیون نانوکمپلکس‌های مختلف، در جدول (۴) نشان داده شده است. کروماتوگرافی گازی حضور ترکیبات مختلفی از جمله اسید پالمیتیک، اسید اولئیک، اسید استئاریک، ایکوزاهگزانوئیک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید را در مخلوط امگا ۳ مصرفی نشان داد (شکل ۳). با توجه به نتایج جدول، بالاترین مقدار کپسولاسیون برای نمونه ۲ مشاهده شد. با در نظر گرفتن مقادیر ثابت کازئینات سدیم و تغییر غلظت پکتین، درصد کپسولاسیون متفاوت بوده و همان طور که مشاهده می‌شود؛ بیشترین درصد امگا ۳ به ترتیب در غلظت‌های ۰/۴۵٪ ، ۰/۷٪ و ۰/۲٪ پکتین و کازئینات سدیم ۱٪ دیده می‌شود. هم‌چنین کارایی کپسولاسیون کمپلکس حاوی ۰/۴۵٪ پکتین و کازئینات سدیم ۱٪، با کاهش مقدار کازئینات سدیم به ۰/۵٪ از ۷۵/۶۵ به ۲۷/۷۶٪ کاهش یافت.

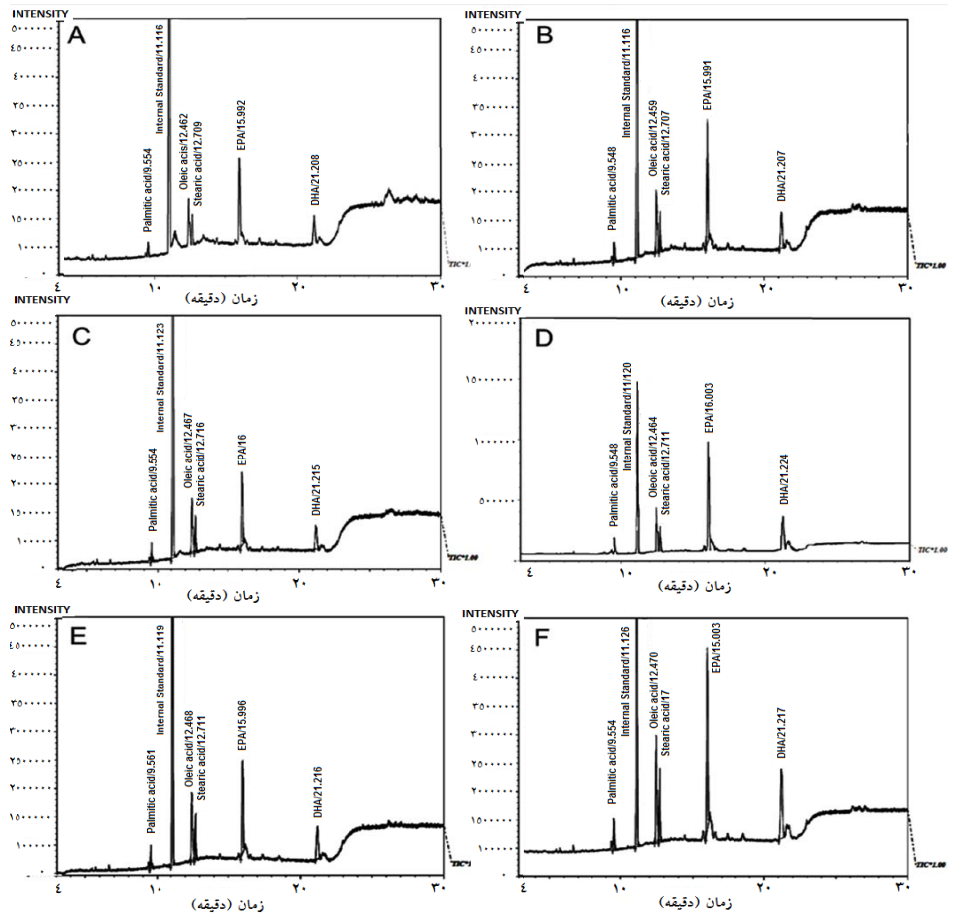
جدول ۳. دمای ذوب، انتقال شیشه‌ای و آنتالپی ذوب محلول‌های بیوپلیمری و کمپلکس حاوی امگا ۳ و بدون آن

نمونه	علامت اختصاری	دمای ذوب (°C)	دمای انتقال شیشه‌ای (°C)	آنتالپی ذوب(J/kg)
پکتین	A	۲۰۸/۴	۷۷/۱	-
کازئینات سدیم	B	۲۰۶/۳	۱۱۷/۹	-۸۲/۳۳
کازئینات سدیم ۱٪ـپکتین ۰/۴۵٪	D	۲۴۸/۷	۶۸/۴	-۷۵
کازئینات سدیم ۱٪ـپکتین ۰/۴۵٪ـامگا ۳	C	۲۶۰/۷	۵۷/۸	-۵۴/۳۳
کازئینات سدیم ۱٪ـامگا ۳	E	۲۷۵/۳	-	-۱۶/۸۴



شکل ۲. منحنی‌های گرمایشی: a:پکتین، b: کازئینات سدیم، c: کمپلکس‌های پکتین ـ کازئینات سدیم حاوی امگا ۳، d: کمپلکس‌های پکتین ـ کازئینات سدیم (۰/۴۵ـ ۱) بدون امگا ۳ و e: کازئینات سدیم حاوی امگا ۳

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-16]



شکل ۳. آنالیز کروماتوگرافی گازی A: نمونه استاندارد، کمپلکس‌های کازئینات-پکتین با نسبت‌های B: (۱-۰/۲)، C: (۰/۵-۰/۲)، D: (۱-۰/۴۵)، E: (۰/۵-۰/۴۵) و F: (۱-۰/۷)

جدول ۴. ترکیبات شناخته شده در ساختار امگا ۳ و کارایی کپسولاسیون برای کمپلکس‌های بیوپلیمری

A	B	اسید پالمیتیک (% w/w)	اسید اولئیک (% w/w)	اسید استئاریک (% w/w)	EPA (% w/w)	DHA (% w/w)	DHA+EPA (% w/w)	کل اسیدهای چرب کپسوله شده (% w/w)	کارایی کپسولاسیون امگا ۳ (% w/w) (DHA+EPA)
۱	۰/۲	۱	۲/۰۳	۰/۹۵	۱۲/۱۲	۶/۹	۱۹/۰۲	۲۳	۱۸/۴
۱	۰/۴۵	۲/۵۳	۵/۷۸	۲/۵۸	۴۸/۷۴	۳۱/۰۹	۷۹/۸۳	۹۰/۷۲	۷۵/۶۵
۱	۰/۷	۱/۷۱	۳/۵۳	۱/۶۹	۱۸/۵۶	۱۳/۰۴	۳۱/۶	۳۸/۵۳	۳۴
۰/۵	۰/۲	۰/۹۴	۱/۷۸	۰/۹	۷/۲۸	۴/۵۸	۱۱/۸۶	۱۵/۴۸	۱۲/۸
۰/۵	۰/۴۵	۱/۷۴	۳/۳۴	۱/۷۷	۱۳/۸	۹/۹۷	۲۳/۷۷	۳۰/۶۲	۲۷/۷۶

A: کازئینات سدیم، B: پکتین، EPA: ایکوزاهگزانوئیک اسید و DHA: دوکوزاهگزانوئیک اسید

• بحث

اندازه ذرات و توزیع اندازه ذرات: نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که در محیط اسیدی، حضور پکتین برای پایداری و کاهش اندازه ذرات کمپلکس لازم است زیرا کازئینات با اسیدی شدن محیط و کاهش pH تا کمتر از ۴/۶ (نقطه ایزوالکتریک)، بار الکتریکی مثبت پیدا می‌کند که به اندازه کافی از نیروی دافعه الکترواستاتیک برای جلوگیری از انبوهش در بلند مدت برخوردار نیست و نهایتاً تشکیل رسوب می‌دهد. پلی‌ساکاریدها از جمله پکتین، با ایجاد دافعه الکتروستاتیکی ناشی از بارهای منفی و هم‌چنین دافعه فضایی ناشی از رشته‌های پکتینی، می‌توانند از توده‌ای شدن کازئینات و تشکیل رسوب در شرایط اسیدی جلوگیری کرده و موجب کاهش در اندازه ذرات شوند. با توجه به نتایج

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-16]

حاصل از اندازه ذرات، می‌توان گفت که تشکیل کمپلکس-های کوچک با حداکثر پایداری در صورتی امکان‌پذیر است که نسبت مناسبی از غلظت بیوپلیمرها انتخاب شوند. برای تشکیل کمپلکس‌های بیوپلیمری پایدار، پکتین باید بتواند به طور کامل سطح کازئینات را بپوشاند و همان طور که در جدول (۱-الف) مشاهده شد، برای تولید کمپلکس‌های ریزتر در غلظت‌های بالای کازئینات سدیم (۱/۵٪)، مقدار پکتین بیشتری نیاز است زیرا احتمالاً کاهش مقدار پکتین، سبب عدم پوشش‌دهی کامل کازئینات شده و هم‌چنین ایجاد پل پکتینی بین دو یا چند مولکول کازئینات، توده‌ای شدن و در نتیجه افزایش اندازه ذرات رخ می‌دهد. در غلظت‌های کم کازئینات سدیم، افزایش مقدار پکتین احتمالاً موجب جذب نشدن تمامی پکتین در سطح کازئینات و آزاد ماندن آن در حلال می‌شود. غلظت بالای غلظت بحرانی انبوهش CFC (Critcal flocculation concentration) موضوع سبب افزایش فشار اسمزی شده و لایه آب بین دو مولکول کازئینات تخلیه می‌شود و در نتیجه مولکول‌ها به هم پیوسته و انبوهش ناشی از تهی‌شدن (Deppletion flocculation) رخ می‌دهد که در نهایت اندازه ذرات را نیز افزایش می‌دهد (۱۸).

علاوه بر نسبت بین بیوپلیمرها، pH نیز بر روی اندازه ذرات تأثیرگذار است. pH محیط بر چگالی بار سطحی ذرات اثر گذاشته و در مقادیر کم پکتین نقش مهم‌تری را ایفا می-کند بطوریکه در غلظت‌های کم پکتین، کاهش pH به شدت اندازه ذرات را افزایش می‌دهد. در این شرایط کاهش مقادیر جزئی در چگالی بار منفی پکتین، منجر به ایجاد برهمکنش نامناسب با کازئینات می‌شود. اما در مقادیر بالاتر پکتین، نتیجه عکس مشاهده شد و کاهش pH اندازه ذرات را کاهش داد، زیرا افزایش غلظت پکتین، چگالی بار منفی کل را افزایش داده و از این طریق سبب افزایش پایداری سیستم می‌شود (۱۹، ۱۸). اخیراً در تحقیق مشابهی، اثر پکتین کم-استر بر تشکیل و اندازه ذرات کمپلکس پکتین و بتالاکتوگلوبولین مورد بررسی قرار گرفته است و گزارش شده است که پکتین در مقادیر بالای ۰/۰۱ درصد در محیط اسیدی، با ایجاد برهمکنش‌های الکترواستاتیک سبب پایداری و کاهش اندازه ذرات کمپلکس می‌شود. در این تحقیق، حداقل اندازه ذرات (۴۹-۵۰ نانومتر) در pH=۴/۲۵ و غلظت پکتین ۰/۰۵ و ۰/۰۷۵ درصد به دست آمد و خارج از این محدوده غلظت، اندازه ذرات افزایش یافت. با افزایش pH به ۴/۵ (نزدیک نقطه ایزوالکتریک پروتئین) اندازه ذرات به غلظت پکتین وابستگی بیشتری نشان داد که به وابستگی بیشتر پروتئین به حضور پکتین، برای جلوگیری از لخته شدن، نزدیک نقطه خنثی شدن نسبت داده شد (۱۳). تحقیقات انجام شده توسط Zimet و همکاران، بر روی کمپلکس پکتین-بتالاکتوگلوبولین حاوی اسید چرب DHA، نشان داد که افزایش غلظت پکتین تا حد معینی، باعث کاهش اندازه کمپلکس حاصل می‌شود و ذرات با کمترین قطر (۱۱۰ نانومتر) در غلظت بین ۰/۰۳۷۵ و ۰/۱۲۵ درصد پکتین حاصل می‌شوند و در غلظت های بالاتر از۰/۱۲۵ درصد دوباره قطر افزایش می‌یابد (۷). بررسی‌های انجام شده روی برهمکنش‌های پکتین کم‌استر- بتالاکتوگلوبولین طی تشکیل نانوکمپلکس، نشان داد که اساس برهمکنش‌ها، پیوندهای یونی و هیدروژنی است و در pH=۴/۵ بیشترین تمایل برای تشکیل کمپلکس بین پروتئین و LMP وجود دارد (۱۱). هم‌چنین مشخص شد که در محدوده pH زیر نقطه ایزوالکتریک بتالاکتوگلوبولین (PI=۵/۱۸) که پروتئین دارای بار مثبت می‌باشد، با افزودن مقادیر اضافی پکتین با بار منفی می‌توان نانوکمپلکس‌های محلول با دافعه الکتروستاتیک قوی ایجاد کرد (۱۱). در پژوهشی تشکیل کمپلکس‌های پکتین (LMP) و پروتئین ایزوله شده آب پنیر(WPI) حاوی تیامین (ترکیب حساس محلول در آب) در غذاهای اسیدی، مورد مطالعه قرار گرفت و مشخص شد که برهمکنش‌های الکتروستاتیک برای تشکیل کمپلکس‌های WPI و LMP، شدیداً به نسبت اختلاط دو بیوپلیمر وابسته است. طبق نتایج به دست آمده، بیشترین تعداد کمپلکس با اختلاط محلول‌های بیوپلیمری با نسبت ۱:۲ برای پروتئین:پلی‌ساکارید گزارش شد (۱۵). بررسی‌های انجام شده بر روی کمپلکس زئین-کیتوزان حاوی توکوفرول نیز نشان داد که افزودن کیتوزان به محلول زئینی به نسبت ۱-۲۰، سبب کاهش اندازه ذرات از ۸۰۰ به ۲۱۱ نانومتر شده و با تغییر این نسبت به ۱-۱۰ و ۱-۵، اندازه ذرات افزایش می-یابد (۱۲). هم‌چنین گزارش شد که افزایش غلظت پروتئین زئین تا ۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (نسبت ۱۰-۱ زئین-کیتوزان)، اندازه ذرات را کاهش داده و افزایش بیشتر غلظت آن تا ۲۰ میلی‌گرم سبب افزایش در اندازه ذرات شد (۱۲). با توجه به پژوهش‌های انجام شده در این زمینه می‌توان نتیجه گرفت که رعایت نسبت مناسب بین بیوپلیمرها از عوامل مهم و تأثیرگذار در بهینه‌سازی اندازه ذرات کمپلکس می‌باشد. بررسی‌های انجام شده بر روی اثر pH بر برهمکنش‌های پکتین و کازئین نشان داد که با نزدیک شدن pH نوشیدنی اسیدی شیر به pKa پکتین (۳/۵)، احتمالاً تمایل پکتین برای جذب شدن در سطح ذرات کازئین، به دلیل کاهش بار الکتریکی سطحی آن، کاهش می‌یابد (۲۰). همان طور که در این تحقیق مشاهده شد، غلظت ۰/۴۵٪ پکتین با ۱٪

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-16]

کازئینات سدیم بهترین برهمکنش را از نظر تشکیل نانوکمپلکس در pH=۴/۱ داشته و با کم و زیاد شدن pH در این شرایط، میزان تمایل پکتین و کازئینات به یکدیگر به ترتیب کاهش و افزایش می‌یابد. اثر pH بر اندازه ذرات سیستم‌های متشکل ازپلی‌ساکارید ـپروتئین در پژوهش‌های دیگر محققان نیز ذکر شد. نتایج پژوهش های این محققان بیانگر این مطلب بود که با کاهش pH از ۷ به ۴، اندازه ذرات محلول پکتین کم‌استر-بتالاکتوگلوبولین تقریباً ثابت و درpH زیر۴، افزایش شدیدی می‌یابد (۲۱). در این تحقیق، اندازه ذرات کمپلکس‌های پکتین پراستر-بتالاکتوگلوبولین نیز تقریباً در حدود ۳۰۰ نانومتر ثابت باقی ماند ولی اندازه ذرات کمپلکس‌های کاراگینان ـ بتالاکتوگلوبولین، در محدوده pH ۴/۷ تا ۷ یکباره کاهش یافت (۲۱). بطورکلی سیستم کاراگینان-بتا لاکتوگلوبولین به تغییرات pH حساس‌تر و اندازه ذرات در تمام pHها بزرگ‌تر از سیستم پکتین ــ - بتالاکتوگلوبولین بود به طوریکه در pH ۴/۷۵، اندازه ذرات سیستم پکتین-بتالاکتوگلوبولین حدود ۲۰۰ تا ۳۰۰ نانومتر و سیستم کاراگینان-بتالاکتوگلوبولین حدود ۷۰۰ نانومتر و مقادیر شاخص چند پخشی (PDI) برای سیستم کاراگینان بالاتر از سیستم‌های حاوی پکتین بود (۲۱). بررسی‌های انجام شده بر روی نانوکمپلکس کازئینات-صمغ عربی نیز نشان داد که در نسبت۰/۱٪ به ۰/۱٪ دو بیوپلیمر و در pH بین ۵/۴ و ۴/۲، اندازه ذرات در حدود ۱۱۵ نانومتر ثابت باقی می‌ماند و خارج از این محدوده pH، افزایش می‌یابد (۲۲).

کدورت: اندازه، غلظت و ضریب شکست نسبی ذرات از جمله عوامل مؤثر بر میزان کدورت سوسپانسیون هستند و افزایش این پارامترها می‌تواند موجب افزایش در کدورت شود. نتایج به دست آمده نشان داد که کمپلکس حاوی امگا ۳، نسبت به کمپلکس بدون امگا ۳ دارای کدورت بیشتری است. افزایش در میزان کدورت را می‌توان به افزایش در اندازه ذرات کمپلکس با ورود امگا ۳ در آن (مطابقت با نتایج مربوط به اندازه ذرات)، وجود قطرات امگا ۳ آزاد در محیط آبی، تغییر در ضریب شکست نور تابیده شده و پراکنده کردن آن و وجود حلال آلی استون و اتانول در فاز آبی و افزایش ضریب شکست آن نسبت داد.

طیف‌سنجی فروسرخ (FT-IR): از آنجا که گروه‌های عاملی مختلف، دارای جذب در فرکانس‌های مشخصی هستند و تغییر در ساختار مواد سبب تغییر در فرکانس‌های جذبی می‌شود؛ بنابراین اسپکتروسکوپی IR به عنوان وسیله-ای مناسب در تشخیص و نمایش تغییرات ساختاری در مواد معرفی می‌شود. با توجه به شکل (۱) و مقایسه طیف‌های a و c، مشاهده می‌شود که پیک جدیدی در عدد موج cm^{-1} ۲۳۳۹ ایجاد شده است و با توجه به اینکه این پیک تنها در نمونه‌های کمپلکس (حاوی امگا ۳ و بدون امگا ۳) مشاهده شده است؛ می‌توان این پدیده (ظهور پیک جدید) را به ایجاد برهمکنش‌های الکتروستاتیک بین گروههای COO^- پکتین و NH_3^+ کازئینات نسبت داد. علاوه بر این مشاهده می‌شود که پیک‌های مربوط به عدد موج محدوده cm^{-1} ۳۱۰۰ـ۳۵۰۰ در نمونه کمپلکس، باریک‌تر شده و به سمت چپ متمایل شده است که نشان‌دهنده کاهش پیوندهای هیدروژنی در حالت تشکیل کمپلکس است (شکل ۱). در این خصوص Grenha و همکاران، با بررسی طیف IR نانوکمپلکس کیتوزان-کاراگینان، ظهور پیک جدید در عدد موج cm^{-1} ۱۵۳۰ (مربوط به گروه NH_3^+) (عدم مشاهده این پیک در بیوپلیمرهای خالص) و هم‌چنین جابه‌جایی پیک‌های مربوط به گروه‌های آمیدی در حالت تشکیل کمپلکس را به ایجاد برهمکنش الکتروستاتیک بین گروه‌های ناهمنام کیتوزان و کاراگینان نسبت دادند (۲۳). مطالعات انجام شده توسط Li و همکاران نیز نشان داد که برهمکنش بین کیتوزان و آلژینات موجب جابه‌جایی پیک‌های نامتقارن و متقارن گروه-های کربوکسیلات از عددهای موجی cm^{-1} ۱۶۱۷ و cm^{-1} ۱۴۱۷ به cm^{-1} ۱۶۳۷ و cm^{-1} ۱۴۱۵ و هم‌چنین جابه‌جایی پیک مربوط به عدد موج cm^{-1} ۱۵۹۹ کیتوزان به cm^{-1} ۱۵۵۹ شده است (۲۴). Honary و همکاران، با بررسی میکروذرات کیتوزان و آلژینات با استفاده از روش FTIR، شاهد ناپدید شدن پیک‌های مربوط به ارتعاشات خمشی گروه N-H آمید نوع دوم کیتوزان، در عدد موجی cm^{-1} ۱۵۷۰ و ارتعاشات کششی متقارن و نامتقارن C-O– در cm^{-1} ۱۴۷۰ با ایجاد برهمکنش‌های الکتروستاتیک بین NH_3^+ کیتوزان و COO^- آلژینات بودند (۱۷). در این تحقیق هم‌چنین، اثر کیتوزان با وزن مولکولی مختلف بر تشکیل کمپلکس بررسی شد و نشان داد که ایجاد پیوند هیدروژنی قوی‌تر (با افزایش وزن مولکولی کیتوزان) پهنای پیک محدوده عدد موجی cm^{-1} ۳۱۰۰ـ۳۵۰۰ را افزایش می‌دهد (۱۷). Dudhani و همکاران، با بررسی طیف IR نانوذرات کیتوزان حاوی کاتکین، گزارش کردند که با برهمکنش بین کاتکین و گروه آزاد آمینی کیتوزان، پیوندهای هیدروژنی افزایش یافته و سبب افزایش پهنای پیک عدد موجی cm^{-1} ۳۳۶۷ و جابه‌جایی آن به cm^{-1} ۳۱۰۰ می‌شود (۲۵). با توجه به این نتایج می‌توان گفت که هرگونه تغییر در پیک‌های مربوط به طیف IR نمونه‌های کمپلکس (جابه‌جایی پیک، ظهور پیک جدید یا ناپدید شدن آن) می‌تواند دلیلی بر ایجاد برهمکنش بین بیوپلیمرها باشد.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-16]

نتایج حاصل از طیف‌سنجی IR نمونه‌های حاوی امگا ۳، هیچ یک از اعداد موج مربوط به امگا ۳ خالص (گزارش شده در جدول ۲) را نشان نداد و می‌توان گفت که امگا ۳ در سطح کازئینات و به صورت آزاد وجود ندارد بلکه توسط کازئینات پوشیده شده است. از سوی دیگر، با توجه به اینکه پیک‌های مربوط به عدد موج‌های (cm^{-1})۳۳۲۱، ۳۰۶۲، ۲۹۶۸ و ۱۵۲۲ در کازئینات، به ترتیب به (cm^{-1}) ۳۲۹۵، ۳۰۶۷، ۲۹۵۳ و ۱۵۵۹ در کازئینات‌ـامگا ۳ انتقال یافته‌اند، می‌توان نتیجه گرفت که بین کازئینات و امگا ۳ برهمکنش اتفاق افتاده است و ساختار جدیدی شکل گرفته است و با توجه به وجود بخش‌های آبگریز در ساختار کازئینات، این برهمکنش‌ها احتمالاً از نوع برهمکنش‌های آبگریز می‌باشند. انحراف شدید در عدد موج cm^{-1}۳۳۲۱ نمودار a، احتمالاً به دلیل وجود ترکیبات بلند زنجیر امگا ۳ می‌باشد. به طور کلی، موقعیت ارتعاشات کششی C-H- متصل به باندهای دوگانه سیس -C=C- در محدوده عدد موج cm^{-1}-۳۱۰۰ ۳۰۰۰ بسته به بلندی زنجیر و تعداد باند دوگانه در زنجیر اسید چرب، منحرف می‌شود و هر چه تعداد باندهای دوگانه یا بلندی زنجیر بیشتر باشد (C > ۱۴)، میزان این انحراف شدیدتر است (۲۶).

شکل (۱-d)، ترکیب کمپلکس بین بیوپلیمرها به همراه امگا ۳ را نشان می‌دهد و همانند نمودار a جابه‌جایی پیک‌ها، ایجاد برهمکنش‌های آبگریز بین امگا ۳ و کازئینات را به اثبات می‌رساند. علاوه بر این، گروه عاملی انیدرید در نمودار، در عدد موج cm^{-1} ۱۷۸۳ مشاهده شد که احتمالاً به دلیل ایجاد برهمکنش بین گروه‌های اسیدی امگا ۳ و گروه کربوکسیلیک اسید پکتین می‌باشد.

کاهش جذب در عدد موج cm^{-1}۱۶۵۳ (پیوندهای دوگانه سیس -C=C-) شکل (۱ - e) و cm^{-1}۳۳۰۰-۳۱۰۰ (گروه‌های عاملی C-H- متصل به -C=C-) نشان‌دهنده کاهش تعداد باندهای دوگانه در ترکیب امگا ۳ و به عبارت دیگر اشباع شدن باندها می‌باشد و با توجه به نتایج حاصل از طیف‌سنجی IR می‌توان نتیجه گرفت که امگا ۳ در اثر عمل پاستوریزاسیون اکسید شده است. این امر احتمالاً به دلیل دناتوره شدن پروتئین در اثر فرایند حرارتی و در نتیجه افزایش تخلخل و پرزهای کپسول حاصله، نشت ترکیبات امگا ۳ به بیرون کپسول و در نتیجه اکسید شدن آن می‌باشد. با توجه به طیف‌های a، d و e مشاهده می‌شود که میزان جذب IR در عدد موج cm^{-1}۱۷۴۳، در نمودار a کم، و با افزودن پکتین به ترکیب این مقدار زیادتر شده است (نمودارهای d و e). با افزودن پکتین، احتمالاً گروه‌های متیل با گروه COO^- تشکیل پیوند استری داده است و می‌توان گفت که امگا ۳ علاوه بر کازئینات با پکتین نیز پیوند متیل استری برقرار کرده است.

گرماسنجی اسکنی افتراقی (DSC): نتایج DSC، حذف پیک‌های مربوط به پکتین و کازئینات خالص و تشکیل پیک جدید در دمای بالاتر (۲۴۸/۷°C) را در اثر اختلاط محلول‌های ۱٪ کازئینات سدیم و ۰/۴۵٪ پکتین در pH=۴/۱، نشان داد (شکل ۲-d). جابه‌جایی پیک ذوب و هم‌چنین عدم حضور دو پیک مربوط به ترکیبات اولیه کازئینات و پکتین نشان‌دهنده ایجاد پیوند و تشکیل ماده جدیدی است که خواص آن با ترکیبات سازنده اولیه متفاوت است. این نتیجه با مشاهدات طیف‌سنجی IR مبنی بر ایجاد برهمکنش جاذبه الکتروستاتیک بین COO^-- پکتین و NH_3^+- کازئینات مطابقت دارد. افزایش نقطه ذوب، تشکیل ساختارهای منظم و متراکم‌تر را در اثر ایجاد برهمکنش الکتروستاتیک و تشکیل کمپلکس بین پکتین-کازئینات را نشان داد (شکل ۲). *Honary* و همکاران، با بررسی خواص حرارتی میکروذرات کیتوزان-آلژینات، جابه‌جایی پیک ذوب را به ایجاد پیوندهای الکتروستاتیک بین گروه کربوکسیل آلژینات و آمین کیتوزان و تشکیل کمپلکس بین این دو ترکیب نسبت دادند (۱۷). Zaleska و همکاران نیز طی تحقیق بر خواص حرارتی کمپلکس نشاسته سیب زمینی-پروتئین ایزوله آب پنیر، جابه‌جایی پیک اندوترمیک نمونه کمپلکس، نسبت به مواد خام اولیه و قرار گرفتن آن در بین پیک‌های اندوترمیک نشاسته و پروتئین را به دلیل برقراری کمپلکس و تشکیل ساختار جدید گزارش کردند (۲۷). با توجه به اینکه در کمپلکس کازئینات-پکتین-امگا ۳ تنها یک پیک ذوب وجود دارد و پیک مربوط به ذوب امگا ۳ در آن دیده نمی‌شود؛ می‌توان گفت که امگا ۳ به صورت آزاد وجود ندارد و احتمالاً وارد برهمکنش‌های الکتروستاتیک و یا آبگریز با ترکیبات بیوپلیمری شده و خواص حرارتی آن تغییر کرده است. این نتایج نیز با مشاهدات طیف‌سنجی IR در این تحقیق مطابقت دارد. افزایش دمای ذوب نمونه‌های کمپلکس حاوی امگا ۳ را می‌توان به تشکیل نواحی بلوری کامل‌تر نسبت به نمونه‌های بدون امگا ۳ نسبت داد (شکل ۲). با توجه به شکل (۲) بالاترین نقطه ذوب، برای نمونه کازئینات-امگا ۳ (بدون پکتین) مشاهده شد و پیک اندوترمیک دوم در این ترکیب، احتمالاً به تخریب شدن ترکیب کازئینات-امگا ۳ در دماهای بالا مربوط می‌شود. کاهش دمای انتقال شیشه‌ای در نمونه‌های کمپلکس (حاوی امگا ۳ و بدون آن) احتمالاً به دلیل کاهش وزن مولکولی نمونه کمپلکس نسبت

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-16]

به مواد اولیه و یا اثر نرم کنندگی اسیدهای چرب بر کمپلکس بیوپلیمری می‌باشد.

کارایی کپسولاسیون: نتایج حاصل از کروماتوگرافی گازی برای کلیه فرمولاسیون‌های تولید شده کارایی بالای ۱۲٪ و مناسب بودن کازئینات سدیم (به دلیل داشتن بخش‌های آبگریز در ساختار) برای انکپسولاسیون امگا ۳ را نشان داد. همان طور که از نتایج جدول (۴) برمی‌آید، افزایش غلظت کازئینات سدیم، کارایی کپسولاسیون را افزایش داد. افزایش درصد امگا ۳ موجود در نمونه ۲ به دلیل افزایش بخش‌های آبگریز کازئینات سدیم، با افزایش غلظت کازئینات سدیم و هم‌چنین پایداری این ترکیب در برابر توده‌ای شدن اسیدی می‌باشد، زیرا همان طور که گفته شد، کمپلکس حاوی ۱٪ کازئینات سدیم و پکتین ۰/۴۵٪ بیشترین پایداری را در برابر توده‌ای شدن و افزایش اندازه ذرات داشتند. با توجه به درصد بالای کپسولاسیون در نمونه ۲، می‌توان نتیجه گرفت که pH اسیدی (۴/۱) نه تنها اثر منفی در تخریب امگا ۳ نداشته است بلکه، با کاهش دافعه الکتروستاتیکی آن در اثر یونیزاسیون و افزایش خاصیت آبگریزی امگا ۳، کارایی کپسولاسیون را افزایش داده است (۷). *Zimet* و همکاران، با بررسی کارایی کپسولاسیون کمپلکس بتالاکتوگلوبولین‌ـ پکتین حاوی DHA، این میزان را ۶۴٪ مقدار DHA افزوده شده در نانوکپسول‌ها گزارش کردند و بتالاکتوگلوبولین را به دلیل داشتن بخش‌های آبگریز در ساختار خود به عنوان پروتئینی مناسب برای انتقال ترکیبات آبگریز معرفی کردند (۷). در پژوهشی دیگر *Ron* و همکاران نیز مناسب بودن بتالاکتوگلوبولین را برای به دام انداختن ویتامین D_2 (ترکیب آبگریز) تأیید کردند و نشان دادند که تمایل این ویتامین برای قرار گرفتن در بخش‌های آبگریز بتالاکتوگلوبولین‌ـ پکتین، ۷۷/۲۶ mg/ml می‌باشد (۱۳). Luo و همکاران، طی پژوهشی نشان دادند که با افزایش غلظت زئین‌ـکیتوزان حاوی آلفاتوکوفرول، درصد کپسولاسیون از ۷۶/۵٪ به ۸۶/۵٪ افزایش می‌یابد که با نتایج به دست آمده از این تحقیق مطابقت دارد (۱۲). *Harris* و همکاران، نانوذرات کیتوزان ـ تری پلی فسفات پنتا سدیم را به عنوان ترکیبی مناسب برای کپسولاسیون ترکیبات فنلی با کارایی کپسولاسیون ۸۸٪ معرفی کردند (۲۸).

نتیجه گیری: مقادیر pH و غلظت بیوپلیمرهای مورد استفاده در تولید حامل‌های کمپلکس، اثرات قطعی در ویژگی‌های کاربردی این سیستم‌ها داراست به همین دلیل در طراحی این سیستم‌ها برای نوشیدنی‌های مختلف باید مقادیر بهینه این دو عامل را در نظر گرفت. در این تحقیق در PH ۴/۱ کوچکترین ذرات تولید شد و بطورکلی با افزایش غلظت کازئینات مقدار پکتین مورد نیاز نیز برای کاهش اندازه ذرات افزایش می‌یابد. حضور پکتین نه تنها با افزایش دافعه الکترواستاتیک اطراف ذرات کازئینی موجب افزایش پایداری و کاهش اندازه ذرات می‌گردد بلکه با جلوگیری از توده شدن موجب افزایش کارایی انکپسولاسیون امگا ۳ نیز می‌شود.

• References

1. Considine T, Patel HA, Singh H, Creamer LK. Influence of binding conjugated linoleic acid and myristic acid on the heat- and high-pressure-induced unfolding and aggregation of [beta]-lactoglobulin B. Food Chem 2007;102:1270-80.
2. Lavie CJ, Milani RV, Mehra MR, Ventura HO. Omega-3 Polyunsaturated fatty acids and cardiovascular diseases. J Am Coll Cardiol 2009;54:585-94.
3. Freemantle E, Vandal M, Tremblay-Mercier J, Tremblay S, Blachère JC, Bégin ME, et al. Omega-3 fatty acids, energy substrates, and brain function during aging. Prostag Leukotr ESS 2006;75:213-20.
4. Lopez-Huertas E. Health effects of oleic acid and long chain omega-3 fatty acids (EPA and DHA) enriched milks, A review of intervention studies. Pharmacol Res 2010;61:200-207.
5. Liu Z, Jiao Y, Wang Y, Zhou C, Zhang Z. Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems. Adv Drug Deliver Rev 2008;60:1650-62.
6. Ye, A, Flanagan J, Singh H. Formation of stable nanoparticles via electrostatic complexation between sodium caseinate and gum. Arabic Biopolymers 2006;82:121-33.
7. Zimet P, Livney YD. Beta-lactoglobulin and its nanocomplexes with pectin as vehicles for omega 3 polyunsaturated fatty acids. Food Hydrocoll 2009;23:1120–26.
8. Nussinovitch A. Hydrocolloid application gum thecnology in the food and other industries. Blackie academic and professional. London; 1997. p. 247-264.
9. Philips GO, Williams PA. HandBook of hydrocolloids. CRC press. Florida; 2000. p. 443.
10. Chen L, Remondetto GE, Subirade M. Food protein-based materials as nutraceutical delivery systems. Trends Food Sci Tech 2006;17:272-83.
11. Girard M, Turgeon SL, Gauthier SF. Thermodynamic parameters of beta-lactoglobulin –

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-16]

pectin complexes assessed by isothermal titration calorimetry. J Agr Food Chem 2003;51:4450–55.

12. Luo Y, Zhang B, Whent MYUL, Wang Q. Preparation and characterization of zein/chitosan complex for encapsulation of tocopherol, and its in vitro controlled release study. Colloid Surface B 2011;85:145–52.
13. Ron N, Zimet P, Livney YD. Beta-lactoglobulin-polysaccharide complexes as nanovehichles for hydrophobic nutraceuticals in non-fat foods and clear beverages. Int Dairy J 2010;20:686-93.
14. Ye A. Complexation between milk proteins and polysaccharides via electrostatic interaction: principles and applications – a review. Int J Food Sci Tech 2008;43:406–15.
15. Bedie GK, Turgeon SL, Makhlouf K. Formation of native whey protein isolate–low methoxyl pectin complexes as a matrix for hydro-soluble food ingredient entrapment in acidic foods. Food Hydrocoll 2008;22:836–44.
16. Semo E, Kesselman E, Danino D, Livney YD. Casein micelle as a natural nano-capsular vehicle for nutraceuticals. Food Hydrocoll 2007;21:936–42.
17. Honary S, Maleki M, Karimi M. The effect of chitosan molecular weight on the properties of alginate/chitosan microparticles containing prednisolone. Trop J Pharma Res 2009;8:53-61.
18. Maroziene A, de Kruif CG. Interaction of pectin and casein micelles. Food Hydrocoll 2000;14:391–94.
19. Pereyra RS, Schmidt KA, Wicker L. Interaction and stabilization of acidified casein dispersions with low and high methoxyl pectins. J Agr Food Chem 1997;45:3448–51.
20. Kouame FA, Bohoua G, Assemand EF, Tano K, Kouame PL. Effect of low methoxylpectin in acidified milk gels 2010; 8(2); 46-51.
21. Tuinier R, Rolin C, de Kruif CG. Electrosorption of pectin onto casein micelles. Biomacromolecules 2002 3:632– 638.
22. Jones W, Decker EA, McClements DJ. Thermal analysis of beta-lactoglobulin complexes with pectins or carrageenan for production of stable biopolymer particles. Food Hydrocoll 2010;24:239–48.
23. Grenha A, Gomes ME, Rodrigues M, Santo VE, Mano JF, Neves NM, Reis RL. Development of new chitosan/carrageenan nanoparticles for drug delivery applications J Biomed Mater Res 2010; 92(4):1265-72.
24. Grenha A, Gomes ME, Rodrigues M, Santo VE, Mano JF, Neves NM, et al. Development of new chitosan/carageenan nanoparticles for drug delivery applications. J Mater Res A 2009;92:1265-72.
25. Li P, Dai YN, Zhang JP, Wang AQ. Chitosan-Alginate nanoparticles as a novel drug delivery system for nifedipine. Int J Biomed Sci 2008;4:221-28.
26. Dudhani AR, Kosaraju SL. Bioadhesive chitosan nanoparticles: Preparation and characterization. Carbohyd Polym 2010;81:243-51.
27. Yoshida S, Yoshida H. Nondestructive analyses of unsaturated fatty acid species in dietary oils by attenuated total reflectance with Fourier transform IR spectroscopy. Biopolymers 2003;70:604-13.
28. Zaleska H, Ring S, Tomasik P. Electrosynthesis of potato starch-whey protein isolate complexes. Carbohyd Polym 2001;45:89-94.
29. Harris R, Lecumberri E, Mateos-Aparicio I, Mengíbar M, Heras A. Chitosan nanoparticles and microspheres for the encapsulation of natural antioxidants extracted from Ilex paraguariensis. Carbohyd Polym 2011;84:803–806.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-16]

Nanoencapsulation of omega-3 fatty acids using caseinate-pectin based complexes: FTIR, DSC, particle size, and encapsulation efficiency

Bahrani S[1], Ghanbarzadeh B [2], Hamishekar H[3], Sowti khiyabani M[4]*

1- M.Sc Student in Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

2- Associated Prof, Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

*3- *Corresponding author:Assistant Prof, Dept. of Pharmaceutical Sciences, Pharmaceutical Technology Laboratory, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran, E-mail: hamishehkar.hamed@gmail.com*

4- Assistant Prof, Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Received 17 Apr, 2013 **Accepted 16 Jul, 2013**

Background and Objectives: A protein-polysaccharide complex can be used to produce nanocapsules containing nutrients and active compounds. This study determined optimum conditions for producing caseinate-pectin based nanocomplexes containing omega-3 fatty acids with minimal particle size and size distribution and evaluated the stability and encapsulation efficiency of this system.

Materials and Methods: Caseinate-pectin nanocapsules were formed by the addition of electrolyte salts into the caseinate solution (0.5%, 1%, 1.5%) containing omega-3 and pectin solution (0.2%, 0.45%, 0.7%) into the system. The pH was then adjusted to below the isoelecteric point of the protein. Determination of the size and size distribution was done using the laser light scattering method. Infrared spectroscopy (FTIR) and differential scanning calorimetry (DSC) were used to detect complex formations and the types of interaction between the biopolymers and omega-3 and the thermal behavior of the complexes. Gas chromatography (GC) was used to determine the encapsulation of omega-3. A three-level four-factorial Box-Behnken experimental design was employed using Minitab 15 software to analyze particle size.

Results: The complex containing 1% sodium caseinate and 0.45% pectin at pH = 4.1 had a the smallest particle size (86 nm) and turbidity; with omega-3 capsulation, the particle size increased to 118 nm. FTIR results showed complex formation and interaction (electrostatic and hydrophobic) between the biopolymers and omega-3 and DSC results showed formation of new structures. Gas chromatography results showed an encapsulation efficiency of 12%-76% for the different formulations.

Conclusions: The results showed that pH, pectin, and caseinate biopolymer concentrations played important roles on the particle size of the complex, stability, and encapsulation efficiency. This system can be used to encapsulate omega-3 in beverages having relatively acidic pH values.

Keywords: Caseinate-pectin nanocomplex, Omega-3, DSC, FTIR, Encapsulation efficiency

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-16]