

تولید الیاف پروتئین-پلی ساکارید حاوی اسید چرب امگا-۳ به روش الکتروریسی و تعیین شرایط بهینه فرایند با استفاده از روش سطح پاسخ

بهناز بنایی فر^۱، هاجر عباسی^۲

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۲- نویسنده مسئول: گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران. پست الکترونیکی: H.abbasi@Khuisf.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۹/۲۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۶/۱۵

چکیده

سابقه و هدف: اسیدهای چرب امگا-۳ اهمیت بسیاری در تغذیه انسان در رابطه با پیشگیری از بیماری‌ها دارند. این پژوهش با هدف پایداری نمودن اسیدهای چرب غیراشباع در الیاف پروتئین-پلی ساکارید انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، تأثیر غلظت‌های مختلف کنسانتره پروتئین آب پنیر (۵، ۶/۶۷، ۱۰، ۱۳/۳۳، ۱۵٪) و صمغ گوار (۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵۵، ۰/۸۵، ۱٪) بر ویژگی‌های کیفی امولسیون و الیاف الکتروریسی حاوی روغن ماهی مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: با افزایش غلظت کنسانتره پروتئین آب پنیر و گوار تا محدوده متوسط، راندمان ریزپوشانی و بارگیری الیاف افزایش یافت. همچنین غلظت کنسانتره پروتئین آب پنیر و گوار تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر پروفایل اسیدهای چرب روغن موجود در الیاف داشت. کاهش اندازه ذرات امولسیون در غلظت‌های پایین گوار مشاهده شد و غلظت کنسانتره پروتئین آب پنیر و گوار نیز تأثیر چشمگیری بر تغییرات ویسکوزیته امولسیون نشان داد. بررسی پروفایل اسیدهای چرب تحت شرایط حرارت‌دهی، نشان دهنده پایداری حرارتی و حفظ بهتر اسیدهای چرب غیراشباع موجود در الیاف نسبت به نمونه شاهد بود. نتایج FTIR بیانگر عدم برقراری پیوندشیمیایی میان پروتئین-پلی ساکارید و اسیدهای چرب و ریزپوشانی موفقیت‌آمیز آنها بود. بررسی مورفولوژی، تشکیل الیاف رشته‌ای نسبتاً یکنواخت را تأیید نمود.

نتیجه‌گیری: با هدف دستیابی به ماکزیمم راندمان ریزپوشانی و بارگیری و بالاترین محتوی کل اسیدهای چرب چندغیراشباعی، غلظت ۱۰/۶۲٪ کنسانتره پروتئین آب پنیر و ۰/۴۵٪ صمغ گوار معرفی می‌گردد. فرایند الکتروریسی با ریزپوشانی مؤثر اسیدهای چرب امگا-۳ درون الیاف کنسانتره پروتئین آب پنیر و گوار، پایداری اسیدهای چرب حساس به اکسایش را افزایش می‌دهد. لذا، از این الیاف می‌توان به عنوان حامل اسیدهای چرب امگا-۳ در غنی‌سازی محصولات غذایی استفاده نمود.

واژگان کلیدی: الکتروریسی، الیاف، اسیدهای چرب امگا-۳، کنسانتره پروتئین آب پنیر، صمغ گوار

● مقدمه

تغذیه‌ای جهت حفظ عملکرد طبیعی مغز، کاهش احتمال ابتلا به سرطان و بیماری‌های قلبی و عروقی شناخته می‌شوند (۳). مهم‌ترین و اصلی‌ترین چالش تکنیکی در جهت افزودن مقادیر مؤثر EPA و DHA به مواد غذایی، اکسیداسیون و ایجاد عطر و بوی نامطبوع ناشی از تجزیه لیپیدها است که سبب کاهش و از بین رفتن کیفیت محصولات خوراکی می‌گردد. استفاده از نانوحامل‌ها برای انتقال و حفاظت از مواد غذایی محلول در چربی و یا به عبارتی ریزپوشانی این ترکیبات، راهکاری مناسب برای غلبه بر این مشکلات است (۱). ریزپوشانی فرایندی است که در آن از انواع ترکیبات طبیعی و یا سنتتیک به عنوان حامل‌هایی با اندازه ۱ تا ۱۰۰۰ میکرومتر به منظور

در سال‌های اخیر، توجه به مقدار مصرف روزانه اسیدهای چرب امگا-۳ در رژیم غذایی افزایش یافته است. جامعه بین‌المللی در زمینه مطالعه اسیدهای چرب، مصرف ۵۰۰ میلی گرم در روز ایکوزاپنتانویک اسید (EPA) و دوکوزاهگزانویک اسید (DHA) را پیشنهاد می‌کند (۱). این اسیدهای چرب در رژیم غذایی روزانه کمتر از میزان توصیه شده می‌باشند و همین امر موجب شده است تا تولیدکنندگان مواد غذایی در بسیاری از کشورها به سوی تولید غذاهای فراسودمند و عملگرا حاوی این ترکیبات گام بردارند (۲). فواید سلامتی‌بخش حاصل از مصرف EPA و DHA موجود در روغن ماهی شناخته شده است و به عنوان منبعی برای غنی‌سازی مواد غذایی و مکمل‌های

وینیل الکل به عنوان امولسیفایر باعث افزایش ظرفیت بارگیری اسیدهای چرب امگا-۳ می شود (۸).

در ریزپوشانی ترکیبات غذایی از طیف وسیعی از پلیمرهای طبیعی و سنتزی استفاده می شود، اما تحقیقات نشان داده است که کمپلکس های بیوپلیمری بهتر می توانند از ترکیبات حساس در برابر عوامل نامساعد محیطی محافظت کنند. در این خصوص تحقیقات انجام شده توسط Bedie و همکاران (۲۰۰۸) نشان داد که استفاده از ترکیب بیوپلیمرهای پکتین و ایزوله پروتئین آب پنیر بر پایداری و کاهش تخریب تیامین و اندازه ذرات ریزکپسول نهایی مؤثرتر از اثر مستقل هر یک از بیوپلیمرها است (۹). در تحقیقی دیگر، Zimet و همکاران (۲۰۰۹) گزارش نمودند که امگا-۳ ریزپوشانی شده در کمپلکس پکتین-بتالاکتوگلوبولین نسبت به امگا-۳ ریزپوشانی شده در یک لایه بتالاکتوگلوبولین به میزان کمتری تحت تأثیر عوامل مخرب محیطی قرار می گیرد (۱۰). بر اساس مطالعه صورت گرفته توسط Duan و همکاران (۲۰۱۱)، از فیلم های کامپوزیتی کیتوزان-ایزوله پروتئین آب پنیر برای ریزپوشانی و بهبود پایداری اکسیداتیو روغن ماهی حاوی ۹۳/۷٪ ایکوزاپنتانوائیک اسید استفاده کردند (۱۱).

پروتئین های غذایی مانند کازئینات سدیم و پروتئین آب پنیر و ایزوله پروتئین سویا به عنوان ترکیبات دیواره در ریزپوشانی به کار می روند. پروتئین های آب پنیر به عنوان محصول فرعی صنعت پنیرسازی به طور وسیعی در صنعت غذا به کار گرفته می شوند. بتالاکتوگلوبولین، سرم آلبومین گاوی و ایمینوگلوبولین ها از اجزای اصلی پروتئین های آب پنیر هستند. داشتن گروه های عاملی مختلف، خصوصیات دوگانه دوستی، توانایی خود تجمعی و خود ساختارسازی و برهم کنش با ترکیبات متفاوت، وزن مولکولی بالا و انعطاف پذیری زنجیره مولکولی پروتئین ها سبب شده است تا خصوصیات عملکردی مناسبی همچون حلالیت، گرانروی، امولسیون کنندگی و تشکیل لایه را پیدا کنند و از همین روی در فرایند ریزپوشانی مورد توجه قرار گرفته اند. پروتئین های آب پنیر از خصوصیات عملکردی منحصر به فردی برخوردار هستند. این ویژگی ها موجب شده که آنها به عنوان یک ترکیب مناسب برای دیواره کپسول ها در نظر گرفته شوند (۱۲).

صمغ گوار یک گالاکتومانان به دست آمده از اندوسپرم دانه های گوار (*Cyamopsis tetragonolobus*)، پلی ساکاریدی است که در دیواره کپسول ها در فرایند ریزپوشانی مورد استفاده قرار می گیرد. ویسکوزیته بالا و عدم داشتن فعالیت امولسیفیه کنندگی از محدودیت های اصلی برای استفاده از گوار به عنوان یک ماده دیواره برای ریزپوشانی محسوب می شود. این

غنی سازی مواد غذایی و انتقال ترکیبات زیست فعال (اسیدهای چرب ضروری، آنتی اکسیدان ها، کاروتنوئیدها و غیره) به بخش های هدف، مورد استفاده قرار می گیرد (۴). روش های مختلفی در تولید میکرو و نانو کپسول، از جمله خشک کردن پاششی، خشک کردن انجمادی، اکستروژن (*Extrusion*)، پوشش دهی بستر سیال، امولسیون سازی، کوآسرواسیون (*Coacervation*) و نانوترسیب برای حفاظت ترکیبات فعال وجود دارند که هر یک از آنها دارای محاسن و معایبی هستند، و یا برخی از این روش ها برپایه حرارت دهی بوده و منجر به تخریب ترکیبات زیست فعال حساس ریزپوشانی شده می شوند (۴).

الکترورسی (*Electrospinning*) فرایندی ساده برای ایجاد نانوالیاف به شکل شبکه ای یکنواخت و بدون در هم تنیدگی است. الیاف الکترورسی شده می توانند به عنوان حامل هایی برای ریزپوشانی ترکیبات فعال حساس عمل کنند. فرایند الکترورسی شامل کشش یک سیال، به صورت پلیمر، مذاب و یا محلول پلیمری، تحت تأثیر یک میدان الکتریکی با ولتاژ بالا است. از مزایای این روش می توان به ریزپوشانی با کارایی بالا، رهایی پایدار مواد ریزپوشانی شده و در نتیجه افزایش زمان نگهداری، حفاظت مواد فعال زیستی از تخریب شیمیایی، تک مرحله ای بودن فرایند، سادگی، مقرون به صرفه بودن و قابلیت انجام فرایند در دما و فشار محیط و به عبارتی سرد بودن فرایند (*Cold Processing*) اشاره نمود. برخی از کاربردهای الکترورسی در صنایع غذایی مورد بررسی قرار گرفته اند که از جمله آن می توان به حامل های مواد مغذی و سایر ترکیبات فعال مانند اسانس ها و طعم دهنده ها جهت بسته بندی مواد غذایی و همچنین طراحی سنسورهای حساس به دما و pH اشاره کرد (۵). Kayaci و Uyar (۲۰۱۲) الیاف پلی وینیل الکل را تولید و وانیلین را در آن بارگذاری کردند. نتایج آنها حاکی از افزایش پایداری حرارتی، رهایش پیوسته و آرام وانیلین و افزایش عمر نگهداری آن بود. همچنین مورفولوژی الیاف تولید شده توسط پلیمر پلی وینیل الکل ساختار شبکه ای از الیاف میله ای فاقد گویچه را نشان داد (۶). در تحقیقی دیگر از پروتئین زئین برای ریزپوشانی گالیک اسید استفاده شد، که نتایج حاکی از افزایش پایداری فیزیکی و حرارتی گالیک اسید بود. به علاوه هیچ نوع واکنشی بین زئین و گالیک اسید رخ نداده بود و پروتئین زئین قابلیت بالایی برای تولید نانوالیاف یکنواخت با شکل یکسان و بدون گره داشت (۷). Garcia-Moreno و همکاران (۲۰۱۶) با تولید نانوالیاف پلی وینیل الکل حاوی روغن ماهی توسط الکترورسی بیان داشتند که غلظت پلی وینیل الکل تأثیر چشمگیری بر روی مورفولوژی نانوفیبریل ها داشته است، و بالاترین راندمان کپسولاسیون امگا-۳ زمانی به دست آمد که از محلول حاوی ۱/۵٪ وزنی/وزنی پلی وینیل الکل استفاده شده است. به علاوه افزودن ایزوله پروتئین آب پنیر در محلول پلی

چرب اشباع، فرایند بهینه‌یابی انجام گرفت. سطوح متغیرهای مستقل و مقادیر متغیرهای وابسته اندازه‌گیری شده در جدول ۱ آورده شده است.

تهیه امولسیون روغن ماهی

برای تهیه امولسیون، روغن ماهی به میزان ۷/۵ درصد وزنی/وزنی به تدریج و در حال همزدن به فاز آبی (محلول پلیمری) اضافه گردید. سپس سوسپانسیون توسط همزن مغناطیسی مدل MR Hei-standard (ساخت شرکت Helderph، کشور آلمان) با سرعت ۱۶۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه همگن شد. پس از این مرحله جهت همگن کردن بیشتر، امولسیون به دستگاه اولتراسونیک همزنایزر مدل Up200H (شرکت Heilscher، کشور آلمان) با فرکانس ۲۵ کیلوهرتز و شدت ۸۵۰ وات به مدت ۳ دقیقه منتقل گردید و بدین ترتیب نانوامولسیون مورد نظر تهیه شد (۸).

اندازه‌گیری ویسکوزیته محلول‌های پلیمری

برای اندازه‌گیری ویسکوزیته نمونه‌های امولسیون از ویسکومتر چرخشی بروکفیلد مدل Brookfield RVDVIII Ultra (ساخت شرکت بروکفیلد، کشور آمریکا) استفاده گردید. اندازه‌گیری در دمای اتاق و با استفاده از اسپیندل SC4-31 در محدوده سرعت برش S^{-1} ۱۵۰-۱ انجام شد (۱۶).

اندازه‌گیری اندازه ذرات محلول‌های پلیمری

اندازه ذرات محلول‌های حاصل در دستگاه آنالیز کننده اندازه ذرات (Malvern, zetasizer nano، ساخت کشور انگلستان) بر اساس روش تفرق نور لیزر انجام شد. متوسط اندازه ذرات بر اساس میانگین قطر حجمی آنها تعیین شد. میانگین قطر حجمی (De Broukera Mean Diameter) ۹۰٪ (D 90٪)، قطری است که حجم ذرات کوچک‌تر از آن، ۹۰٪ حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد (۱۷).

الکتروروسی محلول

برای تولید الیاف از دستگاه الکتروروسی اتوماتیک مدل RN/K (شرکت نانوفناوری ساختار آسیا، کشور ایران) استفاده شد. این دستگاه مجهز به یک منبع تغذیه با ولتاژ بالا ۳۵-۰ کیلو ولت با دقت ± 0.50 کیلو ولت است. محلول پلیمری درون یک سرنگ با حجم ۱۰ میلی‌لیتر قرار گرفت و از طریق یک لوله باریک توسط یک پمپ دارای کنترل دیجیتالی به سوزن منتقل شد. الکتروروسی محلول پلیمری حاوی اسید چرب امگا-۳ با نرخ جریان ۰/۵ میلی‌لیتر در ساعت، فاصله نوک سوزن تا صفحه جمع‌کننده ۱۵۰ میلی‌متر و اعمال ولتاژ ۲۵ کیلو ولت صورت گرفت. در نهایت الیاف روی صفحه جمع‌کننده به ابعاد ۵×۵ سانتی‌متر مربع تشکیل شدند (۱۸).

در حالی است که می‌توان از مشتقات هیدرولیز شده صمغ گوار و یا ترکیب آن با سایر بیوپلیمرها به عنوان ماده دیواره در فرایند ریزپوشانی استفاده کرد (۱۳). سهولت استفاده از صمغ گوار در صنایع مختلف به دلیل پخش و هیدراته شدن سریع آن در آب‌های سرد و گرم، رسیدن به غلظت‌های مناسب بدون نیاز به حرارت، ایجاد لایه فیلم مانند و مقاوم در برابر روغن‌ها و حلال‌ها و افزایش قدرت جذب آب در محصولات از مزایای مهم این صمغ می‌باشند (۱۴).

هدف از این پژوهش، بررسی امکان تولید الیاف حامل اسیدهای چرب امگا-۳ با استفاده از کنسانتره پروتئین آب پنیر و صمغ گوار به روش الکتروروسی و همچنین بهینه‌یابی متغیرهای مورد بررسی در محدوده ۱۵-۵ درصد غلظت کنسانتره پروتئین آب پنیر و ۱-۰/۱ درصد صمغ گوار برای دستیابی به تولید الیافی با حداکثر راندمان ریزپوشانی، ماکزیمم میزان اسیدهای چرب غیراشباع و چند غیراشباعی و حداقل میزان اسیدهای چرب اشباع است.

• مواد و روش‌ها

مواد مورد نیاز

روغن ماهی از شرکت نوش دارو دریا مازندران خریداری گردید. کنسانتره پروتئین آب پنیر (CAS no: 91082-88-1) از شرکت Parchem آمریکا تهیه شد. صمغ گوار و دیگر مواد مصرفی در این تحقیق، دارای خلوص آزمایشگاهی بوده و از شرکت مرک (Merck) آلمان فراهم گردیدند.

آماده‌سازی محلول‌های پلیمری

محلول‌های پلیمری، از طریق حل کردن غلظت‌های مختلف کنسانتره پروتئین آب پنیر و صمغ گوار (جدول ۱)، در آب مقطر در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد توسط همزن مغناطیسی با سرعت ۷۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه تهیه گردید. محلول حاصل به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد تا حباب‌های موجود در آن خارج و پیوندهای بین مولکولی در محلول پروتئینی تشکیل شود و محلولی یکنواخت و شفاف به دست آید (۱۵). متغیرهای مستقل این پژوهش شامل غلظت کنسانتره پروتئین آب پنیر (۵-۱۵٪) و صمغ گوار (۱-۰/۱٪) در نظر گرفته شدند. برای ارزیابی تأثیر متغیرها و به دست آوردن نقطه‌ی بهینه، ۱۳ ترکیب مختلف از متغیرهای مستقل توسط نرم افزار دیزاین اکسپرت (Design Expert) نسخه ۱۱ در قالب طرح مرکب مرکزی (Central Composite Designs) با ۵ تکرار در نقطه مرکزی ایجاد گردید. جهت دستیابی به تولید الیاف حامل اسیدهای چرب امگا-۳ با حداکثر راندمان ریزپوشانی، ماکزیمم میزان اسیدهای چرب غیر اشباع و چند غیر اشباعی و حداقل میزان اسیدهای

جدول ۱. نمایش متغیرهای مستقل در تیمارهای مختلف و مقادیر متغیرهای وابسته آنها

تیمار	کنسانتره پروتئین آب پنیر (درصد)	صمغ گوار (درصد)	راندمان ریزپوشانی (درصد)	ظرفیت بارگیری (درصد)	ویسکوزیته (سنتی پواز)	اندازه ذرات (نانومتر)	مجموع اسیدهای چرب اشباع (درصد)	مجموع اسیدهای چرب غیراشباع (درصد)	مجموع اسیدهای چرب چند غیراشباعی (درصد)
۱	۶/۶۷	۰/۲۵	۸۱/۰۰	۵۵/۰۰	۵۸/۰۰	۷/۰۷	۳۶/۵۰	۶۳/۵۰	۳۰/۲۵
۲	۱۳/۳۳	۰/۲۵	۹۰/۰۰	۸۰/۰۰	۴۹/۶۰	۴/۵۰	۳۶/۲۴	۶۳/۷۶	۲۳/۰۰
۳	۶/۶۷	۰/۸۵	۷۰/۰۰	۵۰/۰۰	۵۵/۰۰	۴/۰۰	۳۶/۰۶	۶۳/۹۴	۲۳/۲۰
۴	۱۳/۳۳	۰/۸۵	۶۹/۰۰	۵۰/۰۰	۴۴/۰۰	۶/۸۳	۳۳/۶۹	۶۶/۳۱	۲۴/۱۰
۵	۵	۰/۵۵	۷۳/۰۰	۵۶/۲۹	۵۳/۰۰	۷/۰۰	۳۶/۸۵	۶۲/۹۷	۲۷/۱۰
۶	۱۵	۰/۵۵	۸۱/۵۰	۷۵/۰۰	۴۶/۴۱	۶/۰۰	۳۶/۰۰	۶۴/۰۰	۲۵/۳۰
۷	۱۰	۰/۱۰	۸۳/۰۰	۷۲/۰۰	۵۱/۲۰	۶/۰۰	۳۵/۳۰	۶۴/۷۰	۲۶/۱۰
۸	۱۰	۱/۰۰	۶۷/۹۴	۴۶/۴۳	۵۲/۰۰	۴/۵۰	۳۳/۳۷	۶۶/۶۳	۲۰/۴۵
۹	۱۰	۰/۵۵	۸۷/۰۰	۷۶/۰۰	۵۲/۶۰	۴/۵۰	۳۳/۹۵	۶۶/۰۵	۲۸/۱۰
۱۰	۱۰	۰/۵۵	۸۵/۰۰	۷۲/۰۰	۵۱/۰۰	۴/۵۰	۳۳/۷۹	۶۶/۲۱	۲۹/۰۱
۱۱	۱۰	۰/۵۵	۸۳/۰۰	۷۳/۹۴	۵۰/۷۵	۴/۵۰	۳۳/۵۶	۶۶/۴۴	۲۷/۸۹
۱۲	۱۰	۰/۵۵	۸۴/۰۰	۷۰/۰۰	۴۸/۰۰	۴/۵۰	۳۳/۳۶	۶۶/۶۴	۲۹/۵۰
۱۳	۱۰	۰/۵۵	۸۵/۱۲	۷۵/۴۰	۵۰/۳۰	۴/۹۰	۳۳/۰۴	۶۶/۹۶	۳۰/۱۲

تعیین راندمان ریزپوشانی و بارگیری الیاف حاوی اسید چرب امگا-۳

به منظور بررسی درصد امگا-۳ کپسوله شده در کپسول‌های کنسانتره پروتئین آب پنیر- گوار، ابتدا ۰/۲۵ گرم از الیاف حاوی اسید چرب امگا-۳ با ۱۰ میلی‌لیتر حلال هگزان به مدت ۱۵ دقیقه مخلوط گردید. سپس مخلوط حاصل با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. فاز رویی (حاوی اسید چرب امگا-۳ در هگزان) و جذب آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محتوی روغن موجود در فاز محلول با استفاده از منحنی کالیبراسیون حاصل شده از انحلال مقادیر متفاوت روغن در حلال و بررسی شدت جذب آنها به دست آمد. راندمان ریزپوشانی و بارگیری اسید چرب امگا-۳ به ترتیب با استفاده از روابط (۱) و (۲) محاسبه گردید (۱۹).

رابطه (۱)

$$\text{راندمان ریزپوشانی } (\%) = \frac{A-B}{A} * 100$$

رابطه (۲)

$$\text{راندمان بارگیری } (\%) = \frac{A-B}{C} * 100$$

A: مقدار کل روغن موجود در الیاف، B: محتوی روغن آزاد الیاف، C: وزن الیاف

تعیین پروفایل اسیدهای چرب الیاف حاوی اسید چرب امگا-۳

پروفایل اسیدهای چرب ریزپوشانی شده در الیاف با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) تعیین گردید.

برای استریفیکاسیون اسیدهای چرب، نمونه‌ها در حلال هگزان با هیدروکسید پتاسیم متانولی مخلوط و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. شناسایی و جداسازی متیل استرهای اسید چرب توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی مجهز به ستون CP-FL 88 (۰/۲۵ میکرومتر × ۰/۲۵ میلی‌متر × ۶۰ متر) انجام گرفت. از هلیوم با فشار ۲۵ بار و درجه خلوص ۹۹/۹ درصد به عنوان گاز حامل استفاده شد. پس از تزریق نمونه به دستگاه کروماتوگرافی گازی، منحنی رسم شده و زمان بازداری مربوط به هر اسید چرب با منحنی مربوط به اسید چرب استاندارد و زمان بازداری آن مقایسه و بدین ترتیب نوع و میزان اسیدهای چرب موجود در نمونه مورد آزمایش، مشخص گردید (۲۰). براساس نتایج حاصل از ارزیابی پروفایل اسیدهای چرب، مجموع اسیدهای چرب اشباع، غیراشباع و چند غیراشباعی تعیین گردید.

بررسی خصوصیات الیاف الکتروریسی شده

پس از مدل‌سازی و بررسی تأثیر متغیرهای مستقل بر تغییرات متغیرهای وابسته، سطوح مناسب متغیرهای مستقل تعیین و الیاف الکتروریسی شده با استفاده از سطوح مناسب متغیرها تهیه گردید. الیاف الکتروریسی تولید شده از نظر ویژگی‌های مورد مطالعه از جمله راندمان ریزپوشانی، راندمان بارگیری، مجموع اسیدهای چرب اشباع، مجموع اسیدهای چرب غیراشباع، مجموع اسیدهای چرب چند غیراشباعی پس از حرارت‌دهی در دمای ۱۵۰ و ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ریزساختار الیاف و طیف‌سنجی تبدیل فوری مادون قرمز مورد ارزیابی قرار گرفتند.

طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR)

آنالیز FTIR به منظور بررسی ساختار شیمیایی و برهم کنش‌های بین بیوپلیمرها و اسیدهای چرب امگا-۳ صورت گرفت. این آزمون با استفاده از طیف‌سنجی انتقال فوریه مادون قرمز Avatar 370FT-IR) Thermo Nicolet، ساخت کشور آمریکا، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، در محدوده عدد موجی ۴۰۰۰-۴۰۰ بر سانتی‌متر انجام شد (۲۱).

بررسی ساختار و مورفولوژی الیاف

مورفولوژی الیاف الکتروریسی شده به وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی (Hitachi S-4100، ساخت کشور ژاپن) مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها توسط دستگاه پوشش دهنده با یک لایه نازک از جنس طلا پوشیده شدند و تصویربرداری در ولتاژ ۲۰ کیلوولت و بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰۰ انجام شد (۱۲).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این تحقیق، به منظور بررسی تأثیر متغیرهای مستقل شامل غلظت کنسانتره پروتئین آب پنیر (A) و غلظت صمغ گوار (B) بر متغیرهای وابسته (راندمان ریزپوشانی، راندمان بارگیری، ویسکوزیته، اندازه ذرات، مجموع اسیدهای چرب اشباع، غیر اشباع و چند غیر اشباعی) از نرم افزار دیزاین اکسپرت ورژن ۹ و روش سطح پاسخ (RSM Response Surface Methodology) در قالب طرح مرکب مرکزی با ۵ تکرار در نقطه مرکزی استفاده شد. کلیه بررسی‌های آماری و معنی‌داری و یا غیر معنی‌داری داده‌ها در سطح اطمینان (Confidence level) ۹۵ درصد انجام گردید. جست و جوی شرایط عملیاتی بهینه جهت دستیابی به پاسخ‌های مطلوب مورد نظر با استفاده از تکنیک بهینه‌سازی عددی انجام گرفت. در روش RSM پس از تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم افزار، برای هر متغیر وابسته مدلی با انحراف استاندارد (Standard Deviation) و مجموع مربعات باقی مانده برآورد شده PRESS (Residual Sum of Squares) اندک و ضریب تبیین R^2 (Coefficient of Determination) بالا تعریف می‌گردد و آثار اصلی و متقابل متغیرها بر فاکتور مربوطه را بیان می‌کند. همانطور که در رابطه (۳) مشاهده می‌شود، برای پاسخ پیش‌بینی شده Y ، ضریب ثابت β_0 ، اثرات خطی $\beta_a, \beta_b, \beta_c$ ، اثرات مجذور $\beta_{aa}, \beta_{bb}, \beta_{cc}$ و اثرات متقابل $\beta_{ab}, \beta_{ac}, \beta_{bc}$ تعریف می‌شوند.

رابطه (۳)

$$Y = \beta_0 + \beta_a A + \beta_b B + \beta_c C + \beta_{aa} A^2 + \beta_{bb} B^2 + \beta_{cc} C^2 + \beta_{ab} AB + \beta_{ac} AC + \beta_{bc} BC$$

• یافته‌ها

به منظور به دست آوردن مدل تجربی برای پیش‌بینی متغیرهای وابسته (اندازه ذرات و ویسکوزیته امولسیون، راندمان ریزپوشانی، راندمان بارگیری، مجموع اسیدهای چرب اشباع، غیر اشباع و چند غیر اشباعی)، ابتدا رابطه‌های چند جمله‌ای خطی، دو فاکتوری (تعاملی)، درجه دو و درجه سه بر داده‌های به‌دست آمده از این پاسخ‌برازش داده شدند و سپس این مدل‌ها مورد آنالیز آماری قرار گرفتند. از نظر آماری مدلی مناسب است که آزمون عدم برازش آن معنی‌دار نبوده و دارای بالاترین ضریب تبیین و ضریب تبیین اصلاح شده باشد. نتایج نشان داد مدل درجه دو برای پیش‌بینی تغییرات اندازه ذرات، ویسکوزیته، راندمان ریزپوشانی، راندمان بارگیری و مجموع اسیدهای چرب اشباع، غیر اشباع و چند غیر اشباعی در اثر تغییر کمیت متغیرهای مورد بررسی (غلظت کنسانتره پروتئین آب پنیر و صمغ گوار) مناسب است. نتایج تجزیه واریانس متغیرهای وابسته در جدول (۲) آورده شده‌اند.

تغییرات ویسکوزیته محلول پلیمری

نتایج ارائه شده در جدول ۳ نشان می‌دهد که افزایش غلظت کنسانتره پروتئین آب پنیر تا محدوده متوسط غلظت‌های مورد بررسی موجب افزایش ویسکوزیته محلول شد. اثر متقابل غلظت کنسانتره پروتئین آب پنیر و صمغ گوار بر تغییرات ویسکوزیته نیز نشان دهنده افزایش ویسکوزیته امولسیون با افزایش غلظت پروتئین تا ۱۰٪ و افزایش غلظت صمغ گوار تا ۷/۵٪ بود (شکل (۱-الف)).

تغییرات اندازه ذرات محلول پلیمری

در این تحقیق، بررسی تغییرات اندازه ذرات امولسیون بر مبنای اندازه ذرات با در نظر گرفتن ۹۰٪ ذرات موجود انجام گرفت. نتایج حاصل از جدول ۲ نشان می‌دهد که مدل درجه دوم به‌دست آمده از تغییرات اندازه ذرات در تیمارهای مختلف معنی‌دار است ($P < 0.001$). نتایج حاصل از جدول ۳ نشان می‌دهد که در سطوح پایین مصرف صمغ گوار، اندازه ذرات امولسیون (D90%) کاهش یافت، درحالی که استفاده از غلظت‌های بالاتر کنسانتره پروتئین آب پنیر و صمغ گوار سبب افزایش اندازه ذرات امولسیون گردید. بررسی اثر متقابل متغیرهای مورد بررسی بر تغییرات اندازه ذرات نیز نشان می‌دهد که تأثیر توأم متغیرهای مستقل تا سطوح متوسط هر دو متغیر سبب کاهش اندازه ذرات امولسیون و استفاده از غلظت‌های بالاتر، افزایش اندازه ذرات را به‌همراه دارد (شکل (۱-ب)).

جدول ۲. تجزیه واریانس اثرات درصد کنسانتره پروتئین آب پنیر و صمغ گوار بر ویژگی‌های امولسیون و الیاف الکترورسی شده

ویژگی‌های امولسیون و الیاف الکترورسی شده														
منبع تغییرات	ویسکوزیته (سنّتی پویز)		اندازه ذرات (نانومتر)		راندمان ریزپوشانی (درصد)		راندمان بارگیری (درصد)		مجموع اسیدهای چرب اشباع (درصد)		مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع (درصد)		مجموع اسیدهای چرب چند غیر اشباعی (درصد)	
	درجه آزادی	مجموع مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات
مدل	۵	۸۱/۳۵***	۵	۱۴/۳۲***	۵	۶۲۳/۶۷***	۵	۱۶۴۵/۸***	۵	۱۳/۱۰**	۵	۲۳/۸۱**	۵	۱۰۸/۴۹***
A	۱	۴۲/۷۴***	۱	۰/۱۸ ^{ns}	۱	۵۰/۶۵*	۱	۳۳۱/۲۸**	۱	۰/۱۶ ^{ns}	۱	۲/۰۵**	۱	۹/۶۴*
B	۱	۰/۰۱۶ ^{ns}	۱	۱/۰۵*	۱	۳۵۰/۶۰***	۱	۶۳۳/۰۵***	۱	۲/۲۴*	۱	۴/۰۷***	۱	۲۴/۴۸**
AB	۱	۱۷/۲۷*	۱	۷/۲۹***	۱	۲۵/۰۰*	۱	۱۵۶/۲۵***	۱	۹/۰۰***	۱	۱/۱۱**	۱	۱۶/۶۱**
A ²	-	-	۱	۵/۶۷***	۱	۹۱/۶۹**	۱	۱۶۳/۷۶**	۱	-	۱	۱۶/۳۰**	۱	۱۲/۴۰**
B ²	-	-	۱	۰/۶۱*	۱	۱۴۰/۴۸***	۱	۴۴۱/۹۲***	۱	۱/۵۱*	۱	۱/۵۶*	۱	۵۲/۷۶***
باقی مانده	۸	۱۸/۳۱	۷	۰/۷۱	۷	۲۹/۲۲	۷	۷۸/۱۵	۷	۱/۶۳	۷	۱/۱۱	۷	۵/۹۲
عدم برازش	۴	۷/۳۰ ^{ns}	۳	۰/۵۸ ^{ns}	۳	۲۰/۳۶ ^{ns}	۳	۵۳/۶۱ ^{ns}	۳	۰/۸۰ ^{ns}	۳	۰/۶۰ ^{ns}	۳	۲/۴۱ ^{ns}
خطای کل	۴	۱۱/۰۱	۵	۰/۱۳	۴	۸/۸۶	۴	۲۴/۵۵	۴	۰/۸۳	۴	۰/۵۱	۴	۳/۵۲
کل	۱۱	۹۹/۶۶	۱۲	۱۵/۰۳	۱۲	۶۵۲/۸۹	۱۲	۱۷۲۳/۹۶	۱۲	۱۴/۷۳	۱۲	۲۴/۹۲	۱۲	۱۱۴/۴۱
R ²		۰/۸۱		۰/۹۱		۰/۹۵		۰/۹۵		۰/۸۸		۰/۹۵		۰/۹۴

خطوط تیره در جدول نشان دهنده‌ی بی تأثیر بودن متغیر مربوطه در پاسخ‌های اندازه‌گیری شده است، ***: اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۰۱ درصد، **: اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد، *: اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد، ns: عدم وجود اختلاف معنی‌دار؛ A: کنسانتره پروتئین آب پنیر (%، B: صمغ گوار (%).

جدول ۳. ضرایب مدل‌های برازش یافته برای ویژگی‌های مورد مطالعه

ضرایب	صفات مورد مطالعه						
	ویسکوزیته (سنتی پویز)	اندازه ذرات (نانومتر)	راندمان ریزپوشانی (درصد)	راندمان بارگیری (درصد)	مجموع اسیدهای چرب اشباع (درصد)	مجموع اسیدهای چرب غیر اشباعی (درصد)	مجموع اسیدهای چرب چند غیر اشباعی (درصد)
β_0	+۴۳/۴۷***	+۲۱/۴۴***	+۳۱/۷۵***	-۲۸/۶۲***	+۵۰/۰۹**	+۵۲/۵۲***	+۲۶/۹۴***
β_1	+۰/۶۷***	-۲/۲۸ ^{ns}	+۸/۱۰*	+۱۳/۳۱*	-۰/۸۷ ^{ns}	+۲/۳۸**	+۰/۷۶*
β_2	+۲۶/۳۰ ^{ns}	-۱۸/۰۰*	+۵۳/۹۲***	+۱۲۳/۰۰*	-۱۸/۶۳*	+۲/۳۳**	+۴/۸۱**
β_{12}	-۲/۶۰*	+۱/۳۵***	-۲/۵۰*	-۶/۲۵*	+۱/۵۰***	+۰/۵۳*	+۲/۰۴**
β_{11}	-	+۰/۰۷***	-۰/۳۰**	-۰/۴۰***	-	-۰/۱۳**	-۰/۱۱**
β_{22}	-	+۳/۰۲*	-۴۵/۷۵***	-۸۱/۱۵***	+۴/۸۵*	-۴/۸۲*	-۲۸/۰۴***
Lack of Fit	۰/۶۴	۰/۰۵۵۹۶۸	۰/۱۵۳۸	۰/۱۶۴۳	۰/۳۳۰۸	۰/۳۳۰۸	۰/۵۱۰۵
R ²	۰/۸۱	۰/۹۱	۰/۹۵	۰/۹۵	۰/۸۸	۰/۹۵	۰/۹۴

0: عرض از مبدأ 1: غلظت ایزوله پروتئین آب پنیر، 2: غلظت گوار

*, **, ***: به ترتیب، نشان دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ و ns عدم معنی‌دار بودن را نشان می‌دهد.

(الف)

تغییرات اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع الیاف الکترورسی شده

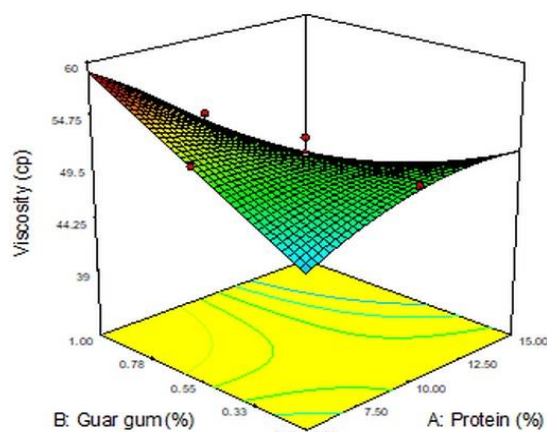
نتایج حاصل از جدول ۲ نشان می‌دهد که مدل درجه دوم به دست آمده از تغییرات مجموع اسیدهای چرب اشباع، غیر اشباع و چند غیر اشباعی الیاف‌های الکترورسی شده معنی‌دار ارزیابی گردید ($P < 0.0001$ و $P < 0.001$). غلظت کنسانتره پروتئین آب پنیر اثر معنی‌داری بر محتوی کل اسیدهای چرب اشباع الیاف الکترورسی شده نداشت ($P > 0.05$)؛ با این حال، کاهش محتوی کل اسیدهای چرب اشباع با افزایش غلظت گوار مشاهده شد. با توجه به شکل (۲-ج) اثر متقابل غلظت کنسانتره پروتئین آب پنیر و صمغ گوار تا سطوح متوسط متغیرها سبب کاهش محتوی کل اسیدهای چرب اشباع گردید. بر اساس نتایج به دست آمده از جدول ۳، روند افزایشی در محتوی کل اسیدهای چرب غیر اشباع و چند غیر اشباعی الیاف‌های الکترورسی شده با افزایش غلظت کنسانتره پروتئین آب پنیر و صمغ گوار دیده شد. همانطور که در شکل (۲-د و ۲-ه) مشخص است اثر متقابل غلظت کنسانتره پروتئین آب پنیر و صمغ گوار تا سطوح متوسط متغیرها منجر به افزایش محتوی اسیدهای چرب غیر اشباع و چند غیر اشباعی گردید.

بهینه‌یابی و اعتبارسنجی مدل

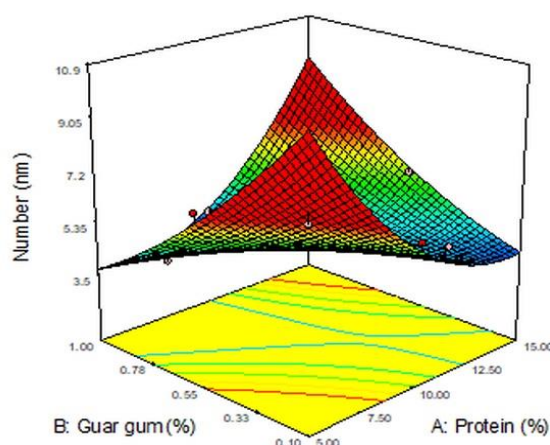
پس از مدل‌سازی متغیرهای کیفی مورد نظر، تعیین شرایط بهینه متغیرهای مستقل به منظور دستیابی به ماکزیم راندمان ریزپوشانی، راندمان بارگیری و همچنین محتوی کل اسیدهای چرب چند غیر اشباعی در الیاف الکترورسی شده انجام گرفت. شرایط بهینه تولید الیاف الکترورسی شده حاوی اسید چرب امگا-۳ شامل ۱۰/۶۲٪ کنسانتره پروتئین آب پنیر و ۰/۴۵٪ گوار تعیین گردید. به منظور اعتبارسنجی مدل‌های حاصل، نمونه الیاف الکترورسی شده تهیه و درصد خطای هر یک از پارامترهای کیفی مورد نظر با استفاده از رابطه (۴) محاسبه شد. نتایج ویژگی‌های مورد مطالعه نمونه تهیه شده در شرایط آزمایشگاهی و پیش‌بینی شده توسط مدل و درصد خطای برآورد هر ویژگی در جدول (۴) نشان داده شده است. تفاوت ناچیز میان نتایج ارزیابی شده و پیش‌بینی شده و همچنین درصد خطای محاسبه شده، بیانگر صحت عملکرد مدل‌های به دست آمده می‌باشد.

رابطه (۴)

$$\text{خطا (درصد)} = \frac{\text{پیش‌بینی شده} - \text{آزمایش شده}}{\text{آزمایش شده}}$$



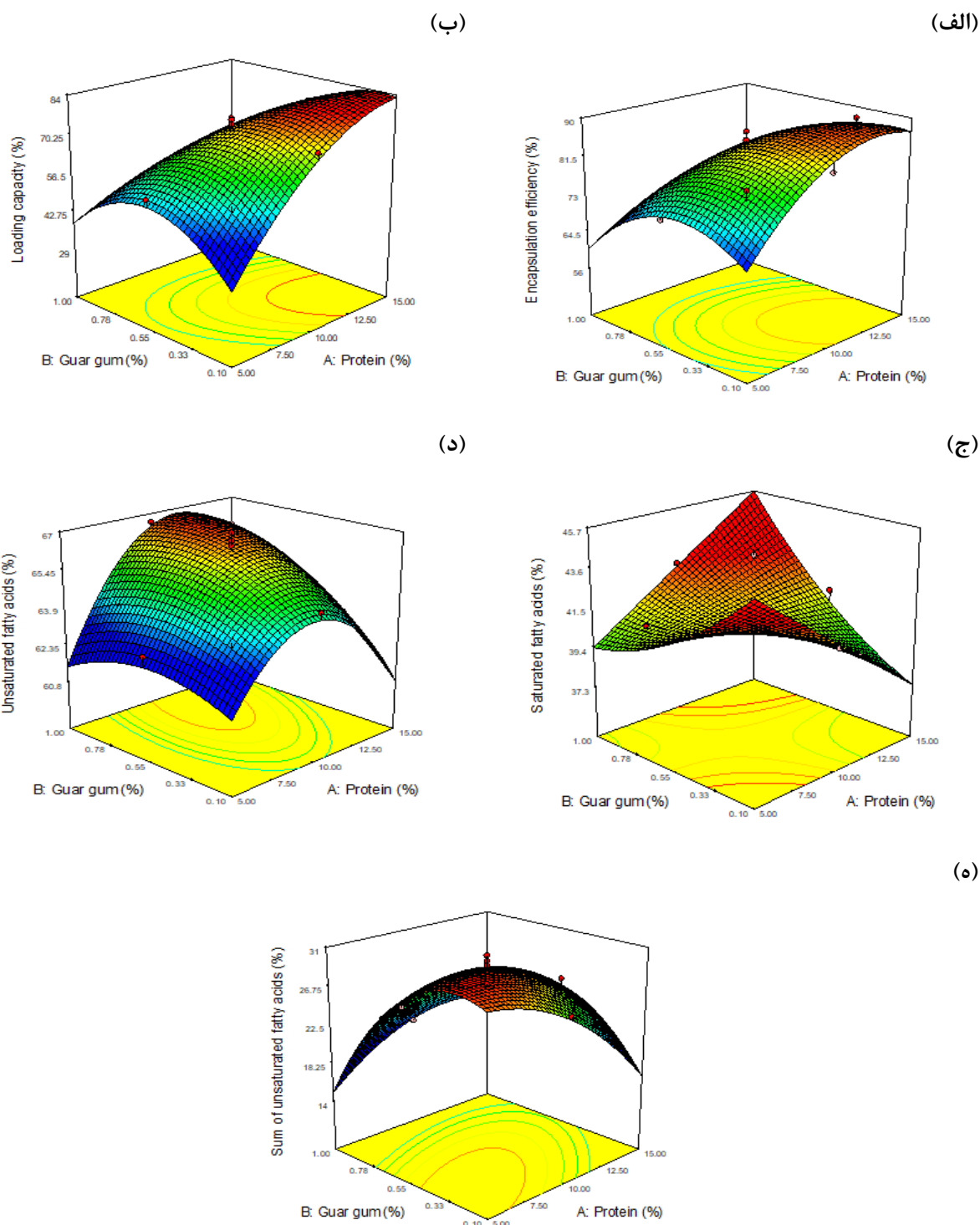
(ب)



شکل ۱. اثر متقابل متغیرهای مستقل بر تغییرات ویسکوزیته (الف) و اندازه ذرات با D90 (ب)

تغییرات راندمان ریزپوشانی و بارگیری الیاف الکترورسی شده

بر طبق نتایج، افزایش غلظت کنسانتره پروتئین آب پنیر و صمغ گوار تا محدوده متوسط غلظت‌های مورد بررسی بر راندمان ریزپوشانی و بارگیری الیاف‌های الکترورسی شده مثبت و معنی‌دار ارزیابی شد ($P < 0.0001$ و $P < 0.05$). همان‌طور که در شکل (۲-الف و ۲-ب) مشاهده می‌شود اثر متقابل غلظت کنسانتره پروتئین آب پنیر و صمغ گوار تا سطوح متوسط متغیرها موجب افزایش راندمان ریزپوشانی و بارگیری شد.



شکل ۲. اثر متقابل متغیرهای مستقل بر تغییرات راندمان ریزپوشانی (الف)، راندمان بارگیری (ب)، اسیدهای چرب اشباع (ج)، اسیدهای چرب غیراشباع (د)، اسیدهای چرب چند غیراشباعی (ه)

جدول ۴. بررسی صحت پیش‌بینی مدل‌های حاصل شده با استفاده از روش سطح پاسخ در پیش‌بینی فاکتورهای کیفی الیاف الکترورسی شده حاوی اسید چرب امگا-۳

آزمون	مقدار پیش‌بینی شده	مقدار آزمایش شده	درصد خطا
راندمان کپسول کردن (درصد)	۸۷/۰۰	۸۲/۰۵	۶/۰۳
مجموع اسیدهای چرب اشباع (درصد)	۳۳/۸۳	۳۳/۸۰	۰/۰۸۸
مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع (درصد)	۶۶/۱۷	۶۶/۰۰	۰/۲۵
مجموع اسیدهای چرب چند غیراشباعی (درصد)	۲۸/۸۳	۲۸/۰۵	۲/۷۸

بررسی برخی خصوصیات الیاف الکترورسی شده حاوی

اسید چرب امگا-۳

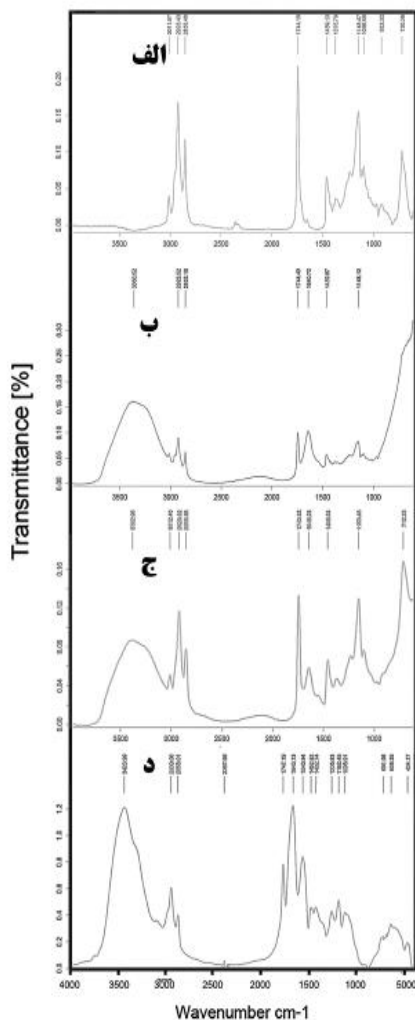
در این پژوهش، پروفایل اسیدهای چرب الیاف حاوی اسید چرب امگا-۳ تولید شده و حرارت داده شده در دماهای ۱۵۰ و ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد با روغن حرارت داده شده در همین دما مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت که نتایج آنها در جدول ۵ ارائه شده است. همان طور که نتایج جدول ۵ نشان می‌دهد بیشترین میزان اسیدهای چرب روغن ماهی حرارت دیده و نمونه الیاف الکترورسی شده حرارت دیده به ترتیب، به اسیدهای چرب نروئیک اسید (C24:1n9)، دوکوزاهگزانوئیک اسید (C22:6-n3)، ایکوزتریانوئیک اسید (C20:3 n3) و ایکوزانوئیک اسید (C18:3-n3) و لینولئیک اسید (C18:2-n6)

اختصاص داشت. کمترین اسیدهای چرب شناسایی شده در هر دو نمونه روغن حرارت دیده و الیاف الکترورسی شده حرارت دیده مربوط به اسیدهای چرب کاپریک اسید (C8:0) و کاپروئیک اسید (C6:0) بود. نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان دهنده حفظ بهتر اسیدهای چرب غیراشباع و چند غیراشباعی نمونه الیاف الکترورسی شده حرارت داده شده در دماهای ۱۵۰ و ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد نسبت به روغن ماهی حرارت دیده شده در دماهای مختلف می‌باشد که همین امر نیز بیانگر پایداری حرارتی روغن محبوس در الیاف است. با این حال محتوی کل اسیدهای چرب چند غیراشباعی در نمونه روغن ماهی حرارت داده شده در دماهای مختلف و الیاف الکترورسی شده حرارت دیده در مقایسه با روغن ماهی تازه به طور قابل توجهی کمتر است.

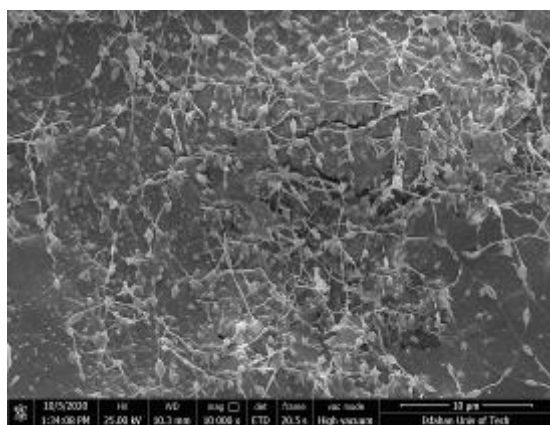
جدول ۵. مقایسه پروفایل اسیدهای چرب الیاف الکترورسی شده و روغن ماهی

اسید چرب	نوع روغن			
	روغن ماهی تازه	الیاف حرارت دیده (۲۸۰°C)	الیاف حرارت دیده (۱۵۰°C)	روغن حرارت دیده (۲۸۰°C)
آن دکانوئیک (C11:0)	۳/۸۹	۳/۷۴	۳/۷۶	۳/۷۵
دکانوئیک (C10:0)	۳/۵۰	۳/۴۸	۳/۵۱	۳/۵۰
کاپروئیک اسید (C6:0)	۱/۰۱	۰/۹۷	۰/۹۷	۰/۹۶
کاپریک اسید (C8:0)	۰/۹۹	۰/۸۶	۰/۸۷	۰/۸۷
پالمیتیک اسید (C16:0)	۵/۰۱	۵/۳۲	۵/۳۲	۵/۳۴
تری دسیلیک اسید (C13:0)	۲/۲۰	۲/۱۱	۲/۱۲	۲/۱۱
میریستیک اسید (C14:0)	۷/۵۹	۷/۸۸	۷/۸۹	۷/۹۰
پنتانوئیک اسید (C15:0)	۴/۰۴	۴/۶۹	۴/۷۰	۴/۷۰
بوتانوئیک اسید (C4:0)	۲/۰۱	۱/۹۱	۱/۹۱	۱/۹۰
لوریک اسید (C12:0)	۳/۰۱	۲/۸۲	۲/۸۸	۲/۸۷
لینولئیک اسید (C18:3)	۲/۸۷	۲/۴۶	۲/۵۵	۲/۵۷
پالمیتولئیک اسید (C16:1)	۱/۱۵	۴/۹۳	۴/۹۶	۴/۹۵
لینولئیک اسید (C18:2n6)	۳/۵۱	۳/۰۰	۳/۰۱	۳/۰۰
میریستولئیک اسید (C14:1)	۱/۶۸	۱/۲۰	۱/۲۱	۱/۲۰
اولئیک اسید (C18:1)	۱/۳۳	۲/۸۸	۲/۹۰	۲/۸۹
ایکوزانوئیک اسید (C18:3-n3)	۱۱/۹۰	۱۱/۰۵	۱۱/۰۹	۱۱/۰۸
ایکوزاتریانوئیک اسید (C20-3n3)	۱۲/۵۰	۱۱/۱۴	۱۱/۱۹	۱۱/۱۶
دوکوزاهگزانوئیک اسید (C22:6-n3)	۱۵/۰۰	۱۴/۰۷	۱۴/۱۰	۱۴
نروئیک اسید (C24:1n9)	۱۶/۸۰	۱۵/۰۰	۱۵/۰۵	۱۴/۹۸
مجموع اسیدهای چرب چند غیراشباعی	۴۵/۷۸	۴۱/۷۲	۴۱/۹۷	۴۱/۸۱
مجموع اسیدهای چرب اشباع	۳۳/۲۵	۳۳/۷۸	۳۳/۹۳	۳۳/۹۰
مجموع اسیدهای چرب غیراشباع	۶۶/۷۴	۶۵/۷۳	۶۶/۰۶	۶۵/۸۳

صنعتی از قبیل پلی وینیل الکل جهت افزایش قطر الیاف و کم شدن گره خوردگی استفاده نشده است. لذا می‌توان تا حدودی وجود گویچه و یا در اصطلاح گره در الیاف تولید شده در این تحقیق را به این موضوع نسبت داد.



شکل ۳. طیف FTIR نمونه‌های مختلف: الف) روغن ماهی، ب) محلول پروتئین-پلی‌ساکاراید، ج) آمولسیون حاوی روغن، د) الیاف الکتروپرسی شده حاوی روغن



شکل ۴. تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی در بزرگنمایی ۱۰۰۰۰ از الباف کنسانتره پوتاش آب-نم - گوار حاوی اسید حزب امگا ۳

بررسی طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR)

در پژوهش حاضر به منظور شناسایی گروه‌های عاملی و تعیین نوع پیوندهای برقرار شده بین الیاف پروتئین- پلی ساکارید و اسید چرب امگا-۳، و همچنین اثبات برهم کنش میان ترکیبات پلیمری و اسید چرب امگا-۳ از آنالیز FTIR استفاده شد. شکل (۳) طیف‌های ارائه شده از روغن ماهی، محلول حاوی پروتئین-پلی ساکارید، امولسیون حاوی روغن و نمونه الکتروژیسی شده را نشان می‌دهد. همانطور که در شکل (۳) مشاهده می‌شود، پیک‌های شاخص به ترتیب از طول موج‌های زیاد به سمت کم، به صورت نوارهای جذبی کششی (CH_2 ، C-H (CH_3) در 2923 cm^{-1} و 2853 cm^{-1} ، نوارهای ارتعاشی کششی گروه‌های کربونیل C=O در 1744 cm^{-1} ، ارتعاشات کششی و خمشی گروه‌های C-H_2 ، C-O در 1448 cm^{-1} ، و ارتعاشات خمشی گروه‌های -HC=CH- ، C-H در 720 cm^{-1} ظاهر شده است (شکل ۳- الف). در نمونه حاوی پلیمرهای پروتئین-پلی ساکارید، پیک‌های پهن در محدوده 2923 cm^{-1} ، 2853 cm^{-1} و 1744 cm^{-1} مشاهده شد (شکل ۳- ب). نمونه امولسیون حاوی روغن، در پیک‌های cm^{-1} 2923 ، 2853 ، 1744 ، 1449 و 720 cm^{-1} با دو نمونه روغن ماهی و محلول پلیمری مشابهت داشت، با این تفاوت که پیکی با سطح زیر پیک بزرگ در محدوده cm^{-1} 1455 که به ارتعاشات خمشی گروه‌های (CH_2 ، CH_3) مربوط می‌شود نیز در آن ظاهر شدند (شکل ۳- ج). الیاف الکتروژیسی شده از نظر پیک‌های ظاهر شده در محدوده‌های 2926 cm^{-1} ، 2854 cm^{-1} و 1744 cm^{-1} با سایر نمونه‌ها تفاوت نداشتند، اما نوارهای جذبی کششی گروه‌های O-H ، N-O و C=N به ترتیب، در 3437 cm^{-1} ، 1545 cm^{-1} و 1643 cm^{-1} ظاهر شدند (شکل ۳- د، (۲۲)).

بررسی خصوصیات مورفولوژی

شکل (۴) تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نمونه الکترونیسی شده الیاف کنسانتره پروتئین آب پنیر-گوار حاوی اسید چرب امگا-۳ را نشان می‌دهد. همانطور که ملاحظه می‌شود، الیافی با یکنواختی نسبی تشکیل شده که از نظر یکنواختی و شبکه‌ای شدن نسبتاً مناسب است. به علاوه، ساختار الیاف تولید شده از محلول پلیمری پروتئین و پلی‌ساکارید، ساختار شبکه‌ای از الیاف میله‌ای و یا دوکی شکل بافته نشده را نشان می‌دهد. در حقیقت می‌توان مشاهده کرد که کنسانتره پروتئین آب پنیر و صمغ گوار بدون جدا شدن فازی با هم ترکیب شده و ساختاری همگن ایجاد کرده‌اند. لازم به تذکر است که به علت کاربرد فیبرها در صنعت غذا، از پلیمرهای

• بحث

خصوصیات امولسیون

ویژگی محلول‌های مورد استفاده در فرایند الکتروروسی، تأثیر چشمگیری بر کیفیت فیبریل‌های تولید شده از آن خواهند داشت. ویسکوزیته یکی از مهم‌ترین پارامترهای تعیین کننده خصوصیات امولسیون‌ها است که تأثیر زیادی بر پایداری امولسیون و ویژگی‌های میکروسکوپی آن می‌گذارد. تغییر ویسکوزیته ناشی از تغییر غلظت پروتئین و گوار در محلول پلیمری با تغییر در تعداد پیوندهای هیدروژنی و پیکربندی زنجیره‌های پلی‌ساکارید-پروتئین مرتبط می‌باشد. شایان ذکر است که با افزایش غلظت پروتئین در محلول پلیمری، پروتئین به عنوان یک ترکیب یونی و قطبی در محلول عمل کرده و رقابت بین پروتئین و صمغ گوار برای رسیدن به مولکول‌های آب اتفاق می‌افتد که همین امر منجر به کاهش پیوندهای هیدروژنی بین زنجیره‌های صمغ گوار و آب می‌شود. بنابراین، هیدراتاسیون پروتئین در غلظت‌های بالا و در حضور صمغ گوار می‌تواند باعث کاهش ویسکوزیته امولسیون گردد. در برخی از مطالعات قبلی گزارش شد که کاهش ویسکوزیته امولسیون با افزایش غلظت پروتئین منجر به بهبود قابلیت الکتروروسی و همچنین مورفولوژی یکنواخت در الیاف حاصله می‌شود (۲۳). Garcia-Moreno و همکاران (۲۰۱۶) با تولید نانوالیاف پلی وینیل الکل حاوی روغن ماهی توسط الکتروروسی بیان داشتند که با افزایش غلظت پلی وینیل الکل ویسکوزیته محلول افزایش می‌یابد (۸). در تحقیقی دیگر که در رابطه با تولید نانوالیاف حامل آنتی اکسیدانت توسط آرد لوبیای خرنوب و پروتئین آب پنیر انجام گرفته بود، نتایج نشان داد که افزایش غلظت کنسانتره پروتئین آب پنیر از ۱٪ به ۳٪ باعث افزایش ویسکوزیته محلول می‌گردد (۲۴).

تغییر اندازه و قطر ذرات با تغییر غلظت محلول پلیمری به هدایت الکتریکی و ویسکوزیته محلول پلیمری وابسته است. کاهش اندازه و قطر ذرات با افزایش غلظت محلول پلیمری به دلیل افزایش هدایت الکتریکی و کاهش ویسکوزیته آن می‌باشد. از آنجایی که پروتئین هدایت الکتریکی بالاتری نسبت به پلی‌ساکارید دارد، در این تحقیق نیز افزایش غلظت پروتئین و به تبع آن افزایش هدایت الکتریکی محلول پلیمری منجر به کاهش چشمگیر اندازه ذرات امولسیون شده است. به علاوه، نتایج تحقیقات پیشین نشان می‌دهد که تأثیر غلظت پلی-ساکارید بر اندازه ذرات امولسیون با وزن مولکولی و ساختار کنفورماسیونی آن در ارتباط است (۲۵). Farshi و همکاران (۲۰۱۹) گزارش نمودند که در تهیه نانوامولسیون روغن سیاه

دانه با استفاده از ایزوله پروتئین آب پنیر و صمغ گوار، نانوامولسیون‌های حاوی ایزوله پروتئین آب پنیر در طول ۵ روز نگهداری در دمای اتاق روند افزایشی در اندازه ذرات داشتند و افزایش غلظت صمغ گوار در فاز آبی باعث افزایش اندازه ذرات امولسیون گردید (۲۶). نتایج تحقیق دیگری نیز نشان داده است که با افزایش نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید (پروتئین نخود: صمغ زانتان) از ۱:۴ به ۱:۱۲ اندازه ذرات امولسیون افزایش چشمگیری دارد (۲۷).

خصوصیات الیاف الکتروروسی شده

راندمان ریزپوشانی و بارگیری از مهمترین فاکتورهای کیفی الیاف به حساب می‌آیند. ارتباط مستقیمی بین غلظت محلول پلیمری، اندازه ذرات امولسیون، مساحت سطح ویژه و راندمان ریزپوشانی و بارگیری وجود دارد. به‌طوریکه با افزایش اندازه ذرات و کاهش مساحت سطح ویژه، راندمان ریزپوشانی کاهش می‌یابد (۱۸). در این تحقیق، اندازه ذرات امولسیون با افزایش غلظت صمغ گوار در سطوح پایین مصرف کنسانتره پروتئین آب پنیر کاهش یافت و همانطور که انتظار می‌رفت راندمان ریزپوشانی افزایش پیدا کرد. لازم به ذکر است نتایج این تحقیق بیانگر وجود همبستگی مثبت معنی‌دار (۰/۹۳) میان دو فاکتور راندمان ریزپوشانی و بارگیری بود.

بررسی پروفایل اسیدهای چرب نشان داد که ریزپوشانی روغن ماهی در فیبریل پروتئین-پلی‌ساکارید به حفظ بهتر اسیدهای چرب غیراشباع به ویژه اسیدهای چرب امگا-۳ کمک می‌کند و موجب پایداری بیشتر اسیدهای چرب غیراشباع و چند غیراشباعی در مقابل حرارت‌های بالا می‌گردد. مطالعات متعدد صورت گرفته در زمینه تأثیر ریزپوشانی اسیدهای چرب به روش‌های مختلف تأیید کننده نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر می‌باشد. در همین راستا، Habib و همکاران (۲۰۱۲) نانوکپسول‌هایی از آلفا لینولنیک اسید توسط روش امولسیون-دیفوژن اصلاح شده با بازده ریزپوشانی ۹۳٪ تهیه و پایداری شیمیایی بالاتر این اسید چرب را مشاهده نمودند (۲۸). در تحقیق صورت گرفته توسط Moomand و Lim (۲۰۱۴) نتایج نشان داد روغن ماهی الکتروروسی شده با زئین نسبت به روغن ماهی پوشش داده نشده پایداری اکسیداتیو بالاتری در دماهای ۴، ۲۵ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد دارد و در طی ۱۴ روز نگهداری اندیس آنیزیدین کمتری گزارش شد (۲۹). Garcia-Moreno و همکاران (۲۰۱۷) گزارش دادند که انکپسولاسیون اسیدهای چرب امگا-۳ روغن ماهی به روش تهیه نانوفیبریل پلوان باعث بهبود پایداری اکسایشی آنها می‌گردد (۳۰).

پس از مدل‌سازی و تعیین شرایط بهینه تولید الیاف، بررسی ویژگی‌های کیفی آنها انجام شد. نتایج به دست آمده حاکی از

امتزاج پذیری مناسب و عدم جدایی فازی دو ترکیب کنسانتره پروتئین آب پنیر و صمغ گوار و همچنین عدم واکنش اسید چرب امگا-۳ با الیاف پروتئین-پلی ساکارید می باشد. همچنین می توان گفت که طی فرایند الکترورسی تغییر محسوسی در ساختار ترکیبات روغن ماهی و الیاف الکترورسی شده به وجود نیامده است و فرایند به دام افتادن (Entrapment) ترکیب فعال زیستی درون ساختار الیاف پروتئین آب پنیر-گوار به صورت فیزیکی انجام شده است. Movaffagh و همکاران (۱۳۹۷) با بررسی طیف FTIR الیاف حاصل از الکترورسی زئین حامل وانکومایسین گزارش نمودند که با قرار گرفتن وانکومایسین در ساختار پلیمری زئین، پیوند هیدروژنی بین مولکولی در ساختار زئین کمتر شده است. همچنین تغییری در پیک های شاخص بستر پلیمر زئین شامل حذف و یا ظاهر شدن پیک جدید مشاهده نشد که همین امر نشان دهنده عدم واکنش بین وانکومایسین و بستر پلیمری زئین است (۳۱). نتایج مطالعات قبلی نشان داده است که در فرایند الکترورسی کیتوزان و کلاژن به دلیل مشابهت گروه های عاملی در هر دو ترکیب، نوارهای جذبی مشابهی دیده می شود (۳۲). Aman Mohammadi و همکاران (۲۰۱۹) با تولید نانوالیاف ایزوله پروتئین آب پنیر- صمغ گوار توسط الکترورسی و بررسی طیف FTIR الیاف، تغییر باندهای آمید نوع اول و دوم را مشاهده کردند و بیان داشتند که تغییر پیک های مربوط به آمید نوع اول دوم نشان دهنده تغییرات ساختار ثانویه پروتئین و تشکیل آلفا-هلیکس است که نتیجه ی برهم کنش میان گروه هیدروکسیل صمغ و گروه آمین پروتئین می باشد (۲۲). در تحقیقی دیگر Zeren و همکاران (۲۰۲۲) با آنالیز طیف FTIR الیاف حاصل از الکترورسی آرد لوبیای خرنوب و پروتئین آب پنیر حامل کافئیک اسید، مشابهت پیک های مربوط به گروه های $C=O$ ، $C-O-C$ و $C=C$ ، و از طرفی تغییر برخی از پیوندها مانند آمید نوع سوم و خمشی متیلن را گزارش نمودند و علت تغییر این باندها را به برهم کنش های الکترواستاتیک گروه باردار آمینه پروتئین و گروه باردار کربوکسیل حلقه فنولی کافئیک اسید نسبت دادند (۲۴).

بررسی خصوصیات مورفولوژی

الیاف کنسانتره پروتئین آب پنیر-گوار حاوی اسید چرب امگا-۳ نشان از وجود الیافی با یکنواختی نسبی و مناسب از نظر یکنواختی و شبکه ای شدن دارد. یکی از عوامل مهم و مؤثر در تشکیل الیاف این است که محلول مورد استفاده در فرایند الکترورسی از پلیمری با وزن مولکولی مناسب و غلظت مطلوب تهیه گردد تا خصوصیات محلول برای انجام فرایند کافی باشد. زمانی که یک جریان باریک و پرشتاب از محلول پلیمری، نوک

سوزن را ترک و در طول حرکت به سمت صفحه جمع کننده کشیده می شود، در حین کشش محلول پلیمری، در هم تنیدگی (Entanglement) زنجیره های مولکولی، از قطع شدن جریان سیال که توسط نیروهای الکتریکی رانده می شود، جلوگیری کرده و در نتیجه یک جریان پیوسته از محلول حاصل می گردد. نتیجه این فرایند، تشکیل ساختاری بدون نقص و ترجیحا فاقد گره در بستر تولید شده است. یکی از عوامل تأثیرگذار بر میزان در هم تنیدگی زنجیره های پلیمری در حلال و متعاقبا افزایش ویسکوزیته محلول، غلظت و وزن مولکولی محلول پلیمر می باشد. افزایش غلظت محلول همانند افزایش وزن مولکولی آن باعث افزایش در هم تنیدگی زنجیره های پلیمری می شود که برای رسیدن به تداوم جریان شتابدار محلول در طول الکترورسی لازم است. در واقع، الکترورسی محلول رقیق به علت درگیری ناکافی بین زنجیره های مولکولی پلیمر، موجب افزایش تعداد گره ها در سطح الیاف می گردد. از طرفی، در غلظت های بسیار بالای محلول های پلیمری به دلیل افزایش ویسکوزیته و تشکیل یک ساختار ژل مانند، تولید الیاف به دلیل عدم کشش مناسب در میدان الکتریکی به طور چشمگیری کاهش می یابد. از این رو، غلظت محلول پلیمری نمی تواند از یک حد معین تجاوز کند زیرا افزایش زیاد ویسکوزیته از الکترورسی مداوم و یکنواخت ممانعت می نماید (۳۳). لازم به ذکر است که علت وجود گره در الیاف را می توان به ویسکوزیته و کشش سطحی محلول پلیمری نسبت داد. هنگامی که جریان به سمت صفحه جمع کننده حرکت می کند، احتمال می رود که کشش سطحی موجب تشکیل مهره ها (Beads) در طول مسیر حرکت پرشتاب محلول شود. در یک حرکت پرشتاب محلول، وقتی غلظت مولکول های آزاد حلال زیاد باشد (ویسکوزیته کم)، مولکول های محلول پلیمری بیشتر تمایل دارند تا دور هم جمع شوند و یک شکل کروی را به وجود آورند. در ویسکوزیته بالا که اثر متقابل بیشتری میان مولکول های حلال و زنجیره های پلیمری وجود دارد، کشش سطحی مولکول های حلال کاهش یافته و در نتیجه تمایل مولکول ها برای اینکه تحت تأثیر کشش سطحی تجمع پیدا کنند، کاهش پیدا می کند و همین امر موجب تولید الیافی بدون مهره خواهد شد (۳۴). Aceituno Medina و همکاران (۲۰۱۳) بیان داشتند که استفاده از غلظت های مناسب پولولان در تهیه محلول پلیمری ایزوله پروتئین آب پنیر، از طریق افزایش ویسکوزیته و کاهش هدایت الکتریکی محلول منجر به تشکیل الیافی با مورفولوژی یکنواخت می شود (۳۵).

نتیجه‌گیری

در این تحقیق تأثیر غلظت‌های مختلف کنسانتره پروتئین آب پنیر و صمغ گوار بر ویژگی‌های کیفی امولسیون و الیاف بارگذاری شده با اسیدهای چرب امگا-۳ به روش الکترورسی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کنسانتره پروتئین آب پنیر و گوار در محدوده مناسب، راندمان ریزپوشانی و بارگیری الیاف افزایش می‌یابد. پروفایل اسیدهای چرب و مجموع اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع نیز به تغییر غلظت کنسانتره پروتئین آب پنیر و صمغ گوار وابسته است که نشان از تأثیر ترکیب پلیمری مورد استفاده در حفظ روغن حاوی مقادیر بالای امگا ۳ دارد. بررسی امولسیون نیز نشان داد که تغییر غلظت صمغ گوار و کنسانتره پروتئین آب پنیر، اندازه ذرات امولسیون و ویسکوزیته آن را تحت تأثیر قرار می‌دهد که این ویژگی‌ها بر کیفیت تولید الیاف مؤثر است. به منظور تولید الیافی با بیشترین راندمان ریزپوشانی و بارگیری و همچنین بالاترین محتوی کل اسیدهای چرب چند غیراشباعی، استفاده

از محلول حاوی ۱۰/۶۲٪ کنسانتره پروتئین آب پنیر و ۰/۴۵٪ گوار به عنوان بهترین محلول برای الکترورسی و تهیه الیاف انتخاب شد. مقایسه داده‌های پیش‌بینی شده با نتایج حاصل از آزمایشگاه، عملکرد مناسب مدل‌های حاصل شده در این زمینه را نشان می‌دهد. ریزساختار الیاف به دست آمده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی بررسی و شکل‌گیری الیاف رشته‌ای نسبتاً یکنواخت مشاهده گردید. نتایج حاصل از FTIR نشان داد که میان بیوپلیمرهای پروتئین و پلی‌ساکارید با اسیدهای چرب امگا-۳ پیوند شیمیایی برقرار نشد، و تمامی اجزای الیاف پروتئین-پلی‌ساکارید حاوی اسیدهای چرب امگا-۳ در طول فرایند الکترورسی ساختار خود را حفظ نموده و دچار تغییرات شیمیایی نشده است. فرایند الکتروریزپوشانی با استفاده از الیاف الکترورسی شده کنسانتره پروتئین آب پنیر و صمغ گوار به عنوان یک سیستم تحویل مناسب برای ترکیبات فعال پتانسیل خوبی دارد. از این رو، استفاده از این تکنولوژی نوین به منظور ریزپوشانی ترکیبات زیست فعال حساس در صنعت غذا و دارو توصیه می‌شود.

References

- 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(3): 200-207.
- Innes JK, Calder PC. Marine Omega-3 (N-3) Fatty acids for cardiovascular health: An Update for 2020. *Int. J. Mol. Sci* 2020; 21: 1-21.
- Molnar J, Pal M. The Effect of omega-3 fatty acids in health preservation. *J. Food. Res. Technol* 2020; 08(01): 05-07.
- Eratte D, Wang B, Dowling K, Barrow CJ, Adhikari BP. Complex coacervation with whey protein isolate & gum arabic for the microencapsulation of omega-3 rich tuna oil. *Food Funct* 2014; 5(11): 2743-2750.
- Cui W, Zhou Y, Chang J. Electrospun nanofibrous materials for tissue engineering and drug delivery. *Sci Technol Adv Mater* 2010; 11(1): 1-12.
- Kayaci F, Uyar T. Solid inclusion complexes of vanillin with cyclodextrins: Formation, characterization and their high temperature stability. *J. Agric. Food. Chem* 2011; 59(21): 11772-11778.
- Neo YP, Ray S, Jin J, Gizdavic-Nikolaidis M, Nieuwoudt MK, Liu D, et al. Encapsulation of food grade antioxidant in natural biopolymer by electrospinning technique: A physicochemical study based on zein-gallic acid system. *Food Chem* 2013; 136: 1013-1021.
- Garcia-Moreno PJ, Stephansen K, van der Kruijs J, Guadix A, Guadix EM, Chronakis IS, et al. Encapsulation of fish oil in nanofibers by emulsion electrospinning: Physical characterization and oxidative stability. *J. Food Eng* 2016; 183: 39-49.
- Bedie GK, Turgeon SL, Makhoulouf 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.
- Zimet P, Livney YD. Beta-lactoglobulin and its nanocomplexes with pectin as vehicles for omega 3 polyunsaturated fatty acids. *Food Hydrocoll* 2009; 23: 1120-1126.
- Duan J, Jiang Y, Zhao Y. Chitosan-whey protein isolate composite films for encapsulation and stabilization of fish oil containing ultra pure omega-3 fatty acids. *J. food sci* 2011; 76: 133-141.
- Razavizadeh BBM, Khan Mohammadi F, Azizi SN. Comparative study on properties of rice bran oil microcapsules prepared by spray drying and freeze drying. *Innovative Food Sci. Technol* 2014; 3(2): 97-114. [in persian]
- Theocharidou A, Mourtzinou I, Ritzoulis C. The role of guar gum on sensory perception, on food function, and on the development of dysphagia supplements – A review. *Food Hydrocoll* 2022; 2: 1-9.
- Kuck LS, Wesolowski JL, Noreña CPZ. Effect of temperature and relative humidity on stability following simulated gastro-intestinal digestion of microcapsules of Bordo grape skin phenolic extract produced with different carrier agents. *Food Chem* 2017; 230: 257-264.
- Ghorani B, Russell SJ, Goswami P. Controlled morphology and mechanical characterisation of electrospun cellulose acetate fibre webs. *Int. J. Polym. Sci* 2013; 1: 1-12.
- Zhang L, Yan J, Yin Z, Tang C, Guo Y, Li D, et al. Electrospun vancomycin-loaded coating on titanium implants for the prevention of implant-associated infections. *Int. J. Nanomedicine* 2014; 9: 3027-3036.
- Zhang HY, Arab Tehrani E, Kahn CJF, Ponçot M, Linder M, Cleymand F. Effects of nanoliposomes based on soya,

- rapeseed and fish lecithins on chitosan thin films designed for tissue engineering. *Carbohydr. Polym* 2012; 88(2): 618-627.
18. Rather AH, Wani TU, Khan RS, Pant B, Park M, Sheikh FA. Prospects of polymeric nanofibers loaded with essential oils for biomedical and food- packaging applications. *Int. J. Mol. Sci* 2021; 22: 1-39.
 19. Haghu S, Beigzadeh S, Almasi H, Hamishehkar H. Chitosan films incorporated with nettle (*Urtica dioica* L.) extract loaded nanoliposomes: I. Physicochemical characterization and antimicrobial properties. *J Microencapsul* 2016; 33(5): 438-448.
 20. Farhoosh R, Hoseini-Yazdi SZ. Evolution of oxidative values during kinetic studies on olive oil oxidation in the Rancimat test. *J Am Oil Chem Soc* 2014; 91(2): 281-293.
 21. Berechet MD, Gaidau C, Miletic A, Pilic B, Râpa M, Stanca M, et al. Bioactive properties of nanofibers based on concentrated collagen hydrolysate loaded with thyme and oregano essential oils. *Materials* 2020; 13(7): 1-25.
 22. Aman Mohammadi M, Ramazani S, Rostami M, Raeisi M, Tabibiazar M, Ghorbani M. Fabrication of food-grade nanofibers of whey protein Isolate-Guar gum using the electrospinning method. *Food Hydrocoll* 2019; 90: 99-104.
 23. Amjadi S, Almasi H, Ghadertaj A, Mehryar, L. Whey protein isolate-based films incorporated with nanoemulsions of orange peel (*Citrus sinensis*) essential oil: Preparation and characterization. *J food Process Preserv* 2021; 45(2): 1-12.
 24. Zeren S, Sahin S, Sumnu G. Encapsulation of caffeic acid in carob bean flour and whey protein-based nanofibers via electrospinning. *Foods* 2022; 11: 1-18.
 25. Espinosa-Sandoval L, Ochoa-Martínez C, Ayala-Aponte A, Pastrana L, Gonçalves C, Cerqueira MA. Polysaccharide-based multilayer nano-emulsions loaded with oregano oil: production, characterization, and in vitro digestion assessment. *Nanomater* 2021; 11(4): 1-16.
 26. Farshi P, Tabibiazar M, Ghorbani M, Mohammadifar M, Bannazadeh Amirkhiz M, Hamishehkar H. Whey protein isolate-guar gum stabilized cumin seed oil nanoemulsion. *Food Bioscience* 2019; 28: 49-56.
 27. Velez-Erazo EM, Bosqui K, Rabelo RS, Hubinger MD. Effect of pH and Pea Protein: Xanthan Gum Ratio on Emulsions with High Oil Content and High Internal Phase Emulsion Formation. *Molecules* 2021; 26: 1-16.
 28. Habib SM, Amr AS, Hamadneh IM. Nanoencapsulation of alpha-linolenic acid with modified emulsion diffusion method. *J Am Oil Chem Soc* 2012; 89: 695-703.
 29. Moomand K, Lim LT. Oxidative stability of encapsulated fish oil in electrospun zein fibres. *Food Res Int* 2014; 62: 523-532.
 30. Garcia-Moreno PJ, Damberg C, Chronakis LS, Jacobsen C. Oxidative stability of pullulan electrospun fibers containing fish oil: Effect of oil content and natural antioxidants addition. *Eur J Lipid Scie Technol* 2017; 119(12): 1-29.
 31. Movaffagh J, Amiri N, Ebrahimi S, Kalalinia BF, Fazli Bazaz BS, Azizzadeh M, et al. Electrospun zein nanofibers as nanocarrier of vancomycin: Characterization, release and antibacterial properties. *J Food Scie Technol* 2018; 15(80): 199-212. [in persian]
 32. Chen ZG, Wang PW, Wei B, Mo XM, Cui FZ. Electrospun collagen-chitosan nanofibr Abiomimetic extracellular matrix for endothelial cell and smooth muscell cell. *Acta Biomater* 2010; 6: 372-382.
 33. Haider A, Haider S, Kang IK. A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology. *Arab J Chem* 2018; 11(8): 1165-1188.
 34. Li Y, Lim LT, Kakuda Y. Electrospun zein fibers as carriers to stabilize epigallocatechin gallate. *J foodsci* 2009; 74(3): 233-240.
 35. Aceituno-Medina M, Mendoza S, Lagaron JM, López-Rubio A. Development and characterization of food-grade electrospun fibers from amaranth protein and pullulan blends. *Food res int* 2013; 54(1): 667-674.

Production of Protein-Polysaccharide Fibers Containing Omega-3 Fatty Acids Using Electrospinning Method and Determination of Optimal Process Conditions with Response Surface Methodology

Banaeifar B¹, Abbasi H^{1*}

1- Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

2- *Corresponding author: Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran. Email: H.abbasi@Khuisf.ac.ir

Received 6 Sept, 2022

Accepted 14 Dec, 2022

Background and Objectives: Omega-3 fatty acids are very important in the human diet for the prevention of diseases.

Materials & Methods: In the present study, the effect of whey protein concentrate (5, 6.67, 10, 13.33, 15%) and guar gum (0.1, 0.25, 0.55, 0.85, 1%) were evaluated on the qualitative properties of fish oil emulsion and electrospun fibers.

Results: Increasing concentration of whey protein and guar up to the intermediate range of the studied concentrations increased the microencapsulation and loading efficiency of nanofibers. The concentration of whey protein and guar had a significant effect on the fatty acids profile of oil in fiber. A reduction in particle size of emulsions was observed with the slight increasing guar gum concentration. The concentration of whey protein and guar had a significant effect on emulsion viscosity changes. Evaluation of fatty acids in fibers and oil indicated the better preservation of unsaturated and polyunsaturated fatty acids, as well as the thermal stability of fibers compared to the control. According to the results of the FTIR, successive microencapsulation of omega-3 fatty acids without the interaction between protein-polysaccharide biopolymers and omega-3 fatty acids was observed. Morphological examination confirmed the formation of relatively uniform filamentary fibers.

Conclusion: The best condition for the preparation of electrospun fibers with the achievement of the maximum microencapsulation and loading efficiency, and also the highest total polyunsaturated fatty acids content was using 10.62% whey protein concentrate and 0.45% guar gum. Microencapsulation of omega-3 fatty acids in whey protein concentrate and guar gum fibers is able to enhancement he stability of fatty acids against heat. Therefore, protein-polysaccharide fibrils can be used as carriers of omega-3 fatty acids in the enrichment of food products.

Keywords: Electrospinning, Fibers, Omega-3 fatty acids, Whey protein concentrate, Guar gum