

## بررسی ثبات و کنترل نرخ اکسایش روغن ماهی قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در نانو کپسول های حاوی اسانس میخک (*Syzygium aromaticum*)

سیدعلی جعفرپور<sup>۱\*</sup>، الهه شریفی<sup>۱</sup>، محمدهاشم حسینی<sup>۲</sup>

\*a.jafarpour@sanru.ac.ir

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۲- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شیراز

تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۶

### چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر سه متغیر مستقل درصد بیوپلیمر کل (۶، ۸ و ۱۰٪)، درصد روغن (۲ و ۳٪) و غلظت اسانس میخک بر حسب ppm (۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰) بر متغیرهای اکسایشی وابسته از قبیل مقادیر پراکساید و تیوباربیتریک اسید طی یک دوره نگهداری سه ماهه و در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سلسیوس بود. مقایسه نتایج حاصل از بررسی نرخ اکسایش بعد از سه ماه نشان داد که مقادیر پراکساید (PV) و تیوباربیتریک اسید (TBA) در روغن ریز پوشانی شده نسبت به روغن شاهد بسیار کمتر بود ( $P < 0/05$ ). همچنین، این دو شاخص در روغن ریز پوشانی شده نگهداری شده در دمای ۴ درجه سلسیوس نسبت به دمای ۲۵ درجه سلسیوس کمتر بود ( $P < 0/05$ ). مقادیر TBA در کپسول‌های حاوی اسانس میخک و روغن ماهی با افزایش غلظت اسانس میخک، کاهش یافت ( $P < 0/05$ ) و با افزایش درصد روغن میزان پایداری روغن کاهش یافت ( $P < 0/05$ ). در کل می‌توان نتیجه‌گیری نمود که در شرایط نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس، نانو کپسول تهیه شده با درصد بیوپلیمر ۱۰٪ و روغن ۲٪ حاوی ۲۰۰۰ ppm اسانس میخک قادر به حفظ ثبات روغن و کاهش نرخ اکسایش آن به مدت ۳ ماه می‌باشد، در حالی که اگر دمای نگهداری به ۲۵ درجه سلسیوس افزایش یابد نانو کپسول تهیه شده با درصد بیوپلیمر ۸٪، روغن ۳٪ و اسانس ۳۰۰۰ ppm مؤثر خواهد بود.

**کلمات کلیدی:** نانو کپسوله کردن، روغن ماهی، اسانس میخک، اکسیداسیون

\*نویسنده مسئول

## مقدمه

غنی‌سازی مواد غذایی با روغن امگا ۳ به علت ماهیت غیراشباع آن، قرار گرفتن در معرض هوا، نور و افزایش دما که اکسایش آن را تشدید می‌کند، محدود است (Lytle et al., 1992). در طول اکسایش اسیدهای چرب امگا-۳، پراکسید تولید می‌شود که در ادامه به ترکیبات فرار تبدیل شده که برخی از آن‌ها طعم نامطلوب تولید می‌کنند و در نهایت موجب کاهش ارزش تغذیه‌ای اسیدهای چرب امگا-۳ می‌شوند (Miyashita et al., 1993). حتی سطح پایین اکسایش EPA و DHA ماهی طعم نامطلوب و مشکلات حسی در مواد غذایی و نوشیدنی‌ها ایجاد می‌کند (Kampa et al., 2007). بنابراین، ارائه راهکارهای مناسب برای افزایش ماندگاری روغن ماهی حاوی اسیدهای چرب غیراشباع برای استفاده آن در صنعت غذا ضروری است (Kaushik et al., 2015). ریز پوشانی به عنوان یک تکنیک جهت افزایش ماندگاری روغن امگا ۳ و کاهش میزان اکسایش برای افزودن به مواد غذایی و نوشیدنی مطرح است (Barrow et al., 2013). به دلایل مختلف از جمله کاهش واکنش هسته با عوامل محیطی (نور، اکسیژن و آب)، حفاظت از اکسیداسیون و دهیدراسیون مواد در طول مدت فرآوری و نگهداری، جلوگیری از دست رفتن ارزش تغذیه‌ای و متابولیکی مواد و حفاظت از برهمکنش‌های نامطلوب با دیگر اجزای مواد غذایی از روش ریز پوشانی استفاده می‌شود. در نتیجه، ریز پوشانی به عنوان یک روش مؤثر برای حفاظت از آن‌ها اعمال می‌شود (Donsi et al., 2011). تکنیک ریز پوشانی به روش‌های مختلفی صورت می‌گیرد از جمله امولسیون‌سازی، کوآسرواسیون، خشک کردن پاششی، سرد کردن پاششی، خشک کردن انجمادی، پوشش دادن به روش بستر سیال و اکستروژن. ریز پوشانی با تکنیک کوآسرواسیون توسط جداسازی فازی دو یا چند بیوپلیمر در یک محلول و به دنبال آن به وسیله رسوب‌گیری ثانویه لایه کوآسروای تشکیل شده در اطراف مواد میانی انجام می‌شود (Barrow et al., 2013). در کوآسرواسیون پیچیده برهمکنش بین پروتئین و پلی آنیون صورت می‌گیرد که به صورت گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته

است (Weinbreck et al., 2004). Baik و همکاران (۲۰۰۴) اثرات آنتی‌اکسیدانی آلفاتوکوفرول و آسکوربیل پالمیتات را بر روی ثبات اکسیداتیو پودر روغن ماهی ریز پوشانی شده، مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که آلفاتوکوفرول، اثر آنتی‌اکسیدانی بیشتری را نسبت به آسکوربیل پالمیتات دارد. همچنین آلفاتوکوفرول با غلظت ۲۰۰ ppm در یک محدوده ۳۰-۱۰ درصد رطوبت نسبی، پایداری اکسیداتیو پودر روغن ماهی ریز پوشانی شده را طولانی‌تر کرد. در تحقیق Garcia و همکاران (۲۰۰۶)، دو فرایند امولسیون‌سازی و ریز پوشانی به منظور افزایش پایداری روغن کبد کوسه بکار گرفته شد. پروفیل اسید چرب برای امولسیون و روغن ریزپوشانی شده به دست آمد و اثر تیمارهای اعمال شده مورد بررسی قرار گرفت. فرآیندهای امولسیون‌سازی و ریز پوشانی تأثیر قابل توجهی بر ترکیب اسید چرب روغن کوسه نداشت. در مقابل، این فرآیندها اکسایش را کاهش و باعث افزایش پایداری روغن شد. Sun-Waterhouse و همکاران (۲۰۱۱) ثبات روغن زیتون ریز پوشانی شده را در حضور اسیدکافئیک بررسی کردند که طبق نتایج بدست آمده، افزودن اسید کافئیک به همراه ریز پوشانی دارای اثر مثبت بر کاهش مقدار اکسایش بود. در مطالعه Chatterjee و همکاران (۲۰۱۵)، درون‌پوشانی روغن ماهی با استرول بوتیل گلیسرول-کیتوزان با استفاده از غشاء و فرآیندهای امولسیون‌سازی اولتراسونیک مورد بررسی قرار گرفت که استرول بوتیل گلیسرول-کیتوزان مانع انتقال حرارت و به طور قابل توجهی باعث افزایش مدت زمان ماندگاری روغن ماهی شد. در مطالعه Binsi و همکاران (۲۰۱۷) اثر هم‌افزایی صمغ عربی و پلی فنول مریم‌گلی در برقراری ثبات در دیواره کپسول و حفاظت از روغن ماهی در طول خشک‌کن پاششی مورد بررسی قرار گرفت. امولسیون با مواد دیواره کازئینات و صمغ عربی آماده شدند و از عصاره مریم‌گلی به عنوان تثبیت کننده دیواره استفاده شد. نرخ اکسایش کپسول‌های حاوی روغن و عصاره مریم‌گلی در طول ذخیره‌سازی به نسبت نمونه شاهد پایین‌تر بود. علاوه بر تکنیک ریز پوشانی، افزودن آنتی‌اکسیدان برای حفاظت از اسیدهای چرب چند غیراشباع امگا ۳ مطرح

ماهی حاوی هگزان در آون تحت خلأ با دمای محیط قرار گرفت و بعد از گذشت ده روز هگزان از روغن کاملاً جدا شد (McClements *et al.*, 2006). گیاه میخک از عطاری تهیه گردید و با آسیاب کاملاً پودر شد. به منظور استخراج اسانس، به یک بالن با حجم ۵۰۰ میلی لیتر، ۲۵ گرم پودر میخک و ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شدند و دستگاه کلونجر (SCHOTT, Germany) روشن شد. با گذشت سه ساعت، ترکیبات فرار روغن میخک جدا شدند. اسانس بدست آمده به منظور حفظ خواص در ظرف تیره نگهداری شد.

محلول‌های ذخیره ژلاتین و صمغ عربی با غلظت ۶ درصد وزنی-وزنی به طور جداگانه تهیه شدند. به منظور هیدراته شدن کامل بیوپلیمرها عمل هم زدن دیسپرسیون ژلاتین و صمغ عربی به ترتیب در دمای ۵۰ و ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۸ ساعت در بن ماری (Fan azma, Iran) انجام گرفت. در ابتدا برای هر تیمار طبق میزان تعیین شده، اسانس میخک با روغن ماهی مخلوط گردید. سپس محلول ژلاتین به روغن ماهی حاوی اسانس میخک اضافه و کاملاً هموزن شد. بعد از آن آب مقطر نیز اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه با هموزنایزر (Ultra-Turrax, wise 15D, south Korea) دور ۱۱۰۰۰ rpm هموزن شد. همچنین، محلول صمغ عربی به آن اضافه شد و دوباره ۱۰ دقیقه هموزن شد. به این ترتیب امولسیون چندگانه روغن در آب آماده شد. pH امولسیون با افزودن HCl به ۳/۸ رسید و به منظور ایجاد الحاقات عرضی، یک درصد آنزیم ترانس گلوتامیناز نیز اضافه شد. در پایان ۳ درصد مالتودکسترین به محلول‌ها اضافه شد و ۲ دقیقه با دور ۷۰۰۰ rpm هموزن شدند. به منظور خشک کردن امولسیون‌ها و دستیابی به پودر خشک، از خشک‌کن انجمادی (Freeze Dryer, operon, FDU-8624, South Korea) استفاده شد. برای این منظور امولسیون‌ها در ظروف یکبار مصرف ریخته شدند. ابتدا، در قسمت فریزر یخچال معمولی در دمای ۱۸- درجه سلسیوس قرار گرفتند. بعد از منجمد شدن نمونه‌ها، در داخل اتاقک خشک‌کن انجمادی در دمای ۸۵- درجه سلسیوس قرار داده شدند تا فرآیند خشک شدن تحت خلأ را سپری

است. اسانس جوانه میخک به عنوان یک آنتی‌اکسیدان گیاهی مؤثر شناخته شده است که حاوی ترکیبات فنولی (بیش از ۸۰٪ اوژنول) است (Guan *et al.*, 2007). بر اساس مجموعه مطالعات صورت گرفته، تاکنون مطالعه‌ای در زمینه تولید نانو کپسول امگا-۳ به همراه اسانس گیاه میخک با استفاده از روش کوآسرواسیون و بررسی نرخ اکسایش آن صورت نگرفته است. لذا در این تحقیق نرخ اکسایش نانو کپسول‌های روغن ماهی به همراه اسانس میخک با استفاده از تکنیک کوآسرواسیون مورد بررسی قرار گرفتند.

## مواد و روش کار

### مواد مصرفی و تجهیزات مورد نیاز

ژلاتین ماهی (Sigma-Aldrich، آمریکا)، صمغ عربی (Dae Jung، کره جنوبی)، آنزیم ترانس گلوتامیناز (AJINOMOTO، دانمارک)، تیویاربتوریک اسید، کلروفورم، اسید استیک گلاسیال، ایزوبوتانول، ایزوپروپانول و هگزان (Merck، آلمان) و سایر مواد آزمایشگاهی مورد استفاده با درجه آزمایشگاهی از فروشگاه‌های مواد شیمیایی و آزمایشگاهی معتبر تهیه شدند.

ماهی قزل‌آلا از بازار ماهی‌فروشان ساری خریداری شد. پس از این که تخلیه شکمی صورت گرفت با آب مقطر کاملاً شسته و با مولینکس چرخ شد. گوشت چرخ شده ماهی (یک کیلوگرم) درون یک ارلن ریخته شد و به وزن گوشت ماهی، آب مقطر (یک لیتر) به آن اضافه شد و کاملاً هموزن شدند. برای استخراج روغن از محلول هگزان-ایزوپروپانول (۵۰۰ میلی لیتر) به نسبت ۱:۳ استفاده شد. به منظور استخراج بهتر روغن، محلول روی شیکر (LabTron, LS-100, Iran) به مدت ۲ ساعت کاملاً بهم خورد و بعد از آن به مدت ۲۴ ساعت در یک محیط کاملاً تاریک قرار گرفت. بعد از گذشت ۲۴ ساعت ابتدا با پارچه نظیف، گوشت ماهی از محلول جدا شد. سپس محلول با قیف بوختر صاف و به یک دکانتور اضافه شد. با گذشت زمان روغن ماهی حاوی هگزان از محلول آب و ایزوپروپانول جدا شد و در قسمت بالایی دکانتور فاز مجزایی تشکیل داد. به منظور جدا کردن حلال، روغن

۱ می‌باشد.  $A_{532}$  میزان جذب نمونه و  $m$  وزن نمونه به میلی‌گرم می‌باشند ( Pokorny and Dieffenbacher, 1989).

$$TBValue = \frac{50 * A_{532}}{m}$$

### تجزیه و تحلیل آماری

این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. داده‌ها در نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و در همین نرم‌افزار، آنالیز داده‌ها در قالب تجزیه و تحلیل واریانس ANOVA one way و ANOVA two way انجام شد تا معنی‌دار بودن تفاوت بین میانگین تیمارها مشخص گردیده و سپس از آزمون دانکن برای مشخص کردن تفاوت معنی‌داری بین میانگین‌ها در سطح  $\alpha=0.05$  استفاده شد.

### نتایج

اندازه ذرات امولسیون با استفاده از دستگاه پراکندگی نور دینامیک (Dynamic light scattering, Malvern) تعیین گردید. طبق نتایج بدست آمده اندازه ذرات در محدوده بین  $259/19 \pm 55/83$  تا  $814/35 \pm 253/05$  نانومتر قرار داشت. مقادیر روغن سطحی و روغن ریزپوشانی شده، اندازه گیری شد که بازدهی ریز پوشانی در تیمارهای مختلف بین  $65/1 \pm 2/75$  درصد در تیمار ۱۵ (۱۰ درصد مخلوط بیوپلیمر و ۳ درصد روغن) تا  $98/84 \pm 0/78$  درصد در تیمار ۴ (۸ درصد مخلوط بیوپلیمر و ۲ درصد روغن) متفاوت بود.

### اندازه‌گیری پراکساید

روند تولید پراکساید در روغن ریزپوشانی شده در دمای ۴ و ۲۵ درجه سلسیوس به مدت دو ماه بررسی شد که در جدول ۲ قابل مشاهده است. طبق نتایج بدست آمده، بعد از گذشت دو ماه در دمای ۴ درجه سلسیوس در تعدادی از تیمارها کاهش مقدار پراکساید مشاهده و در اکثر تیمارها به صفر نزدیک شد که در آن‌ها بین ماه اول و دوم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

نمایند. در نهایت پودرهای تولید شده در ظروف تیره کاملاً دربسته نگهداری شدند. به منظور بررسی ماندگاری برای هر تیمار، پودر روغن ریزپوشانی شده به دو قسمت تقسیم و درون ظرف‌های تیره ریخته شدند. یکی از ظرف‌ها در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و ظرف دیگر در یخچال معمولی در دمای ۴ درجه سلسیوس قرار گرفت. نمونه‌ها در فواصل زمانی مشخص برای آزمون‌های سنجش فساد خارج شدند (Baik et al., 2004).

### اندازه‌گیری مقدار پراکسید (Peroxide Value)

اندازه‌گیری مقادیر پراکساید از طریق تیتراسیون ید آزاد شده از یدید پتاسیم با استفاده از محلول تیوسولفات سدیم میسر می‌گردد. برای اندازه‌گیری این پارامتر از روش Wrolstad و همکاران (۲۰۰۵) استفاده شد (Wrolstad et al., 2005). محاسبه PV با استفاده از این فرمول انجام شد:

$$PV = \frac{(S - B) * N * 1000}{w}$$

S=حجم تیوسولفات سدیم مورد نیاز برای تیتراژ کردن نمونه (میلی‌لیتر)

B=حجم تیوسولفات سدیم مورد نیاز برای تیتراژ کردن نمونه شاهد (میلی‌لیتر)

N=نرمالیتت محلول تیوسولفات سدیم

W=وزن نمونه (گرم)

### اندازه‌گیری مقدار تیوباربیتوریک اسید (Thiobarbituric acid)

سنجش TBA برای اندازه‌گیری میزان محصولات ثانویه اکسایشی بکار برده می‌شود و شدت رنگ صورتی ناشی از واکنش بین مالون دی‌آلدئید با سایر ترکیبات واکنش دهنده با TBA را با تیوباربیتوریک اسید در نمونه مورد نظر اندازه‌گیری می‌شود. مقادیر TBA با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد و نتایج به صورت میلی‌گرم مالون دی‌آلدئید در کیلوگرم روغن بیان شد که عدد ثابت ۵۰ بر اساس حجم بالن حجمی ۲۵ میلی‌لیتری و طول سل cm

تأثیرگذار بر روی تغییرات شاخص پراکساید مربوط به پارامتر دما و بعد از آن زمان است. مقدار پراکساید در روغن ریز پوشانی شده در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نسبت به ۴ درجه سلسیوس بیشتر است. همچنین در طول زمان مقدار پراکساید ابتدا کاهش و سپس به صورت جزئی افزایش یافته است. تأثیر اسانس میخک بر فاکتور PV در جهت منفی است یعنی با افزایش غلظت اسانس میخک مقادیر پراکساید نیز بیشتر شده است. بطور کلی می‌توان مشاهده کرد که در دمای ۴ درجه سلسیوس در تعداد زیادی از تیمارها اختلاف معنی‌داری در مقدار پراکساید روغن‌های حاوی اسانس و روغن‌های بدون اسانس میخک وجود ندارد. همچنین در تیمارهای ۲، ۱۵ و ۱۷ که حاوی اسانس میخک بودند، مقدار پراکساید بیشتر از نمونه‌های شاهد است. این در حالی است که در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در تعدادی از تیمارها (۳، ۶، ۸، ۱۲، ۱۷ و ۱۸) که حاوی اسانس میخک بودند، مقدار PV نسبت به نمونه‌های شاهد کمتر است.

در این پژوهش علاوه بر تیمارهای تعریف شده مقدار پراکساید روغن ریزپوشانی نشده هم بررسی شد (جدول ۳) و مشخص گردید که شاخص پراکساید دارای روندی صعودی است و با گذشت دو ماه مقدار پراکساید در دمای ۴ درجه سلسیوس به  $4/66 \pm 0/01$  میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به  $6/56 \pm 0/01$  میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم رسید. در جدول ۳ مشاهده می‌شود که مقادیر پراکساید در روغن ریزپوشانی شده نسبت به روغن ریزپوشانی نشده بسیار کمتر است.

#### اندازه‌گیری TBA

سنجش تیوباربتوریک اسید پودرهای تولید شده در دمای ۴ و ۲۵ درجه سلسیوس طی ۳ ماه صورت گرفت که نتایج آن در جداول ۴ و ۵ آورده شده است. کمترین مقدار TBA در دمای ۴ و ۲۵ درجه سلسیوس به ترتیب مربوط به تیمارهای ۹ و ۱۵ (حاوی ۳۰۰۰ ppm اسانس میخک) است و بیشترین مقدار تیوباربتوریک اسید به ترتیب در تیمارهای ۱۶ و ۷ (عاری از اسانس میخک) مشاهده شده است.

جدول ۱: طراحی آزمایش ریز پوشانی اسیدهای چرب امگا-۳ به همراه اسانس میخک با مواد دیواره ژلاتین ماهی و صمغ عربی با استفاده از تکنیک کوآسرواسیون

**Table 1: Designing the experiment of encapsulation of omega-3 fatty acids and clove extract with wall materials including fish gelatin and Arabic gum using coacervation technique.**

تیمار	در صد بیوپلیمر کل (ژلاتین-صمغ عربی)	در صد روغن ماهی	غلظت اسانس میخک (ppm)
۱	۶	۲	۰
۲	۶	۲	۲۰۰۰
۳	۶	۲	۳۰۰۰
۴	۸	۲	۰
۵	۸	۲	۲۰۰۰
۶	۸	۲	۳۰۰۰
۷	۱۰	۲	۰
۸	۱۰	۲	۲۰۰۰
۹	۱۰	۲	۳۰۰۰
۱۰	۶	۳	۰
۱۱	۶	۳	۲۰۰۰
۱۲	۶	۳	۳۰۰۰
۱۳	۸	۳	۰
۱۴	۸	۳	۲۰۰۰
۱۵	۸	۳	۳۰۰۰
۱۶	۱۰	۳	۰
۱۷	۱۰	۳	۲۰۰۰
۱۸	۱۰	۳	۳۰۰۰

بیشترین مقدار پراکساید به تیمار ۲ ( $1/23 \pm 0/06$ ) میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم) در پایان ماه دوم مربوط می‌شود. همچنین بعد از گذشت دو ماه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس مقدار پراکساید در بیشتر نمونه‌ها افزایش و در تعدادی نیز کاهش یافت که در این دما بیشترین مقدار پراکساید در تیمار ۵ ( $3/72 \pm 0/05$ ) میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم) و کمترین آن در تیمار ۶ ( $1/21 \pm 0/09$ ) میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم) مشاهده می‌شود. اثرات جداگانه و توأم پارامترهای مورد آزمایش بر روی PV بررسی شده است. مؤلفه F-value نشان می‌دهد که مهم‌ترین عامل

جدول ۲: مقدار اندیس پراکساید (mEq/kg) در نانوکپسول های حاوی روغن ماهی و اسانس میخک طی دو ماه مدت نگهداری در دمای ۴ و ۲۵ درجه سلسیوس

Table 2: The amounts of peroxide value (mEq/kg) in nanocapsules containing fish oil and clove essential oil during 2 month storage at 4 °C and 25 °C

تیمار	دما ۲۵ °C			دما ۴ °C		
	زمان (ماه)			زمان (ماه)		
	۲	۱	۰	۲	۱	۰
۱	۲/۴۷±۰/۰۰۵ <sup>a</sup>	۱/۹۶±۰/۰۱ <sup>b</sup>	۲/۴۷±۰/۰۱ <sup>a</sup>	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	۲/۴۷±۰/۰۱ <sup>a</sup>
۲	۳/۵۱±۰/۰۰۵ <sup>a</sup>	۱/۹۶±۰/۰۰۸ <sup>b</sup>	۱/۲۴±۰/۰۰۴ <sup>c</sup>	۱/۲۳±۰/۰۰۶ <sup>a</sup>	۰/۹۸±۰/۰۱ <sup>b</sup>	۱/۲۴±۰/۰۰۴ <sup>a</sup>
۳	۲/۴۱±۰/۰۰۱ <sup>b</sup>	۱/۹۹±۰/۰۰۷ <sup>c</sup>	۲/۴۸±۰/۰۰۱ <sup>a</sup>	. <sup>c</sup>	۱/۹۸±۰/۰۰۲ <sup>b</sup>	۲/۴۸±۰/۰۰۱ <sup>a</sup>
۴	۲/۳۶±۰/۰۰۶ <sup>b</sup>	۱/۹۹±۰/۰۰۲ <sup>c</sup>	۲/۴۸±۰/۰۰۱ <sup>a</sup>	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	۲/۴۸±۰/۰۰۱ <sup>a</sup>
۵	۳/۷۲±۰/۰۰۵ <sup>a</sup>	۱/۹۵±۰/۰۰۸ <sup>c</sup>	۲/۴۷±۰/۰۰۲ <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	۲/۴۷±۰/۰۰۲ <sup>a</sup>
۶	۱/۲۱±۰/۰۰۹ <sup>c</sup>	۲/۹۶±۰/۰۰۲ <sup>a</sup>	۱/۲۳±۰/۰۰۹ <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	۱/۲۳±۰/۰۰۹ <sup>a</sup>
۷	۲/۴۶±۰/۰۰۳ <sup>a</sup>	۱/۹۷±۰/۰۰۷ <sup>b</sup>	۱/۲۳±۰/۰۰۴ <sup>c</sup>	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	۱/۲۳±۰/۰۰۴ <sup>a</sup>
۸	۲/۴۲±۰/۰۰۶ <sup>a</sup>	۱/۹۷±۰/۰۰۵ <sup>b</sup>	۱/۲۴±۰/۰۰۹ <sup>c</sup>	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	۱/۲۴±۰/۰۰۹ <sup>a</sup>
۹	۳/۵۸±۰/۰۰۷ <sup>a</sup>	۱/۹۴±۰/۰۰۴ <sup>c</sup>	۲/۴۷±۰/۰۰۲ <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	۲/۴۷±۰/۰۰۲ <sup>a</sup>
۱۰	۲/۴۹±۰/۰۰۶ <sup>a</sup>	۱/۹۴±۰/۰۰۶ <sup>b</sup>	۲/۴۸±۰/۰۰۹ <sup>a</sup>	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	۲/۴۸±۰/۰۰۹ <sup>a</sup>
۱۱	۳/۶۱±۰/۰۰۱ <sup>a</sup>	۲/۸۹±۰/۰۰۱ <sup>b</sup>	۲/۴۷±۰/۰۰۲ <sup>c</sup>	. <sup>c</sup>	۱/۹۶±۰/۰۰۲ <sup>b</sup>	۲/۴۷±۰/۰۰۲ <sup>a</sup>
۱۲	۲/۴۳±۰/۰۰۵ <sup>b</sup>	۱/۹۸±۰/۰۰۱ <sup>c</sup>	۲/۴۸±۰/۰۰۲ <sup>a</sup>	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	۲/۴۸±۰/۰۰۲ <sup>a</sup>
۱۳	۲/۳۷±۰/۰۰۷ <sup>a</sup>	۱/۹۶±۰/۰۰۱ <sup>b</sup>	۱/۲۴±۰/۰۰۱ <sup>c</sup>	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	۱/۲۴±۰/۰۰۱ <sup>a</sup>
۱۴	۲/۴۷±۰/۰۰۶ <sup>a</sup>	۱/۹۶±۰/۰۰۱ <sup>b</sup>	۱/۲۴±۰/۰۰۷ <sup>c</sup>	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	۱/۲۴±۰/۰۰۷ <sup>a</sup>
۱۵	۲/۴۲±۰/۰۰۱ <sup>b</sup>	۲/۹۳±۰/۰۰۳ <sup>a</sup>	۱/۲۴±۰/۰۰۱ <sup>c</sup>	۱/۲۲±۰/۰۰۹ <sup>b</sup>	. <sup>c</sup>	۱/۲۴±۰/۰۰۱ <sup>a</sup>
۱۶	۳/۷۰±۰/۰۰۶ <sup>a</sup>	۲/۹۷±۰/۰۰۲ <sup>b</sup>	۱/۲۴±۰/۰۰۲ <sup>c</sup>	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	۱/۲۴±۰/۰۰۲ <sup>a</sup>
۱۷	۲/۴۴±۰/۰۰۵ <sup>b</sup>	۲/۹۵±۰/۰۰۲ <sup>a</sup>	۱/۲۴±۰/۰۰۲ <sup>c</sup>	۱/۲۱±۰/۰۰۳ <sup>b</sup>	۰/۹۸±۰/۰۰۲ <sup>c</sup>	۱/۲۴±۰/۰۰۲ <sup>a</sup>
۱۸	۳/۶۶±۰/۰۰۷ <sup>a</sup>	۲/۹۶±۰/۰۰۲ <sup>b</sup>	۲/۴۷±۰/۰۰۸ <sup>c</sup>	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	۲/۴۷±۰/۰۰۸ <sup>a</sup>

حروف بالانویس متفاوت در هر سطر بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح  $\alpha=0.05$  می‌باشند. اعداد به صورت میانگین±انحراف معیار در سه تکرار می‌باشند.

جدول ۳: مقادیر پراکساید (mEq/kg) در روغن ریز پوشانی شده و ریز پوشانی نشده طی مدت ۲ ماه نگهداری در دماهای ۴ و ۲۵ درجه سلسیوس

Table 3: The amounts of peroxide value (mEq/kg) of encapsulated and non-capsulated oil during 2 months storage at 4 °C and 25 °C

تیمار	دما ۲۵ (°C)			دما ۴ (°C)		
	۲	۱	زمان (ماه)	۲	۱	زمان (ماه)
روغن ریز پوشانی شده	۱/۲۱±۰/۰۰۹ <sup>b</sup>	۲/۹۶±۰/۰۰۲ <sup>b</sup>	۱/۲۳±۰/۰۰۹ <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	۱/۲۳±۰/۰۰۴ <sup>b</sup>
روغن ریز پوشانی نشده	۶/۵۶±۰/۰۰۱ <sup>a</sup>	۴/۲۷±۰/۰۰۱ <sup>a</sup>	۱/۸۷±۰/۰۰۱ <sup>a</sup>	۴/۶۶±۰/۰۰۱ <sup>a</sup>	۳/۰۹±۰/۰۰۱ <sup>a</sup>	۱/۸۷±۰/۰۰۱ <sup>a</sup>

اعداد به صورت میانگین±انحراف معیار در سه تکرار می‌باشند. حروف بالانویس متفاوت در هر سطر بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح  $\alpha=0.05$  می‌باشند.

جدول ۵: مقادیر تیوباربیتوریک اسید (mMA/kg) طی سه ماه نگهداری در

دمای ۲۵ درجه سلسیوس

Table 5: The amounts of TBA (mMA/kg) during 3 months of storage at 25°C

تیمار	صفر	ماه اول	ماه دوم	ماه سوم
۱	۰/۰۳±۰/۰۱ <sup>d</sup>	۰/۰۷±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۹±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۱۵±۰/۰۱ <sup>a</sup>
۲	۰/۰۳±۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۷±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۸±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۱۱±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۳	۰/۰۳±۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۷±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۷±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۸±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۴	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۸±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۱۱±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۱۲±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۵	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۶±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۷±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۱۱±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۶	۰/۰۳±۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۶±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۷±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۹±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۷	۰/۰۳±۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۵±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۶±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۱۶±۰/۰۱ <sup>a</sup>
۸	۰/۰۳±۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۵±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۵±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۹±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۹	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۵۷±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۶±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۸±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۱۰	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۷±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۸±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۱۴±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۱۱	۰/۰۵±۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۵۹±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۷±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۱۱±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۱۲	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۶±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۶±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۸±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۱۳	۰/۰۳±۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۵±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۸±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۱۵±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۱۴	۰/۰۵±۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۵±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۸±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۹±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۱۵	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۵±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۶±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۷±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۱۶	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۷±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۹±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۱۶±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۱۷	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۷±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۸±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۱۲±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۱۸	۰/۰۵±۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۶±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۱۱±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۰/۱۱±۰/۰۰ <sup>a</sup>

اعداد به صورت میانگین ± انحراف معیار در سه تکرار می‌باشند.

حروف بالانویس متفاوت در هر سطر بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح  $\alpha=0.05$  می‌باشند.

در این پژوهش علاوه بر تیمارهای تعریف شده مقدار تیوباربیتوریک اسید روغن ریزپوشانی نشده هم بررسی شد (جدول ۶) و مشخص گردید که مقادیر TBA دارای روندی صعودی است و بعد از گذشت سه ماه مقدار آن در دمای ۴ درجه سلسیوس به  $0.32 \pm 0.06$  میلی گرم مالون دی آلدئید بر کیلوگرم و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به  $0.33 \pm 0.02$  میلی گرم مالون دی آلدئید بر کیلوگرم رسید (جدول ۷) که با روغن ریز پوشانی شده اختلاف معنی‌داری داشت و در جدول ۶ و ۷ قابل مشاهده است ( $P < 0.05$ ).

تأثیرات متقابل و جداگانه پارامتر زمان، دما، درصد روغن، درصد بیوپلیمر کل و غلظت اسانس میخک بر شاخص TBA بررسی شده است. طبق نتایج حاصل شده مقادیر تیوباربیتوریک اسید ابتدا تحت تأثیر زمان است و مشاهده می‌شود که در طول زمان نگهداری مقادیر مالون‌آلدئید افزایش یافته است. مقادیر F نشان می‌دهد که این شاخص بعد از زمان تحت تأثیر دما قرار دارد و مقادیر آن در دمای ۴ درجه سلسیوس نسبت به دمای ۲۵ درجه سلسیوس کمتر است. شاخص TBA تحت تأثیر غلظت اسانس میخک در جهت منفی است یعنی با افزایش غلظت اسانس مقادیر TBA کاهش یافته است و اختلاف آن معنی‌دار است. همچنین با افزایش درصد روغن میزان تیوباربیتوریک اسید افزایش یافته است (جدول ۴ و ۵).

جدول ۴: مقادیر تیوباربیتوریک اسید (mMA/kg) طی سه ماه

نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس

Table 4: The amounts of TBA (mMA/kg) during 3 months of storage at 4°C

تیمار	صفر	ماه اول	ماه دوم	ماه سوم
۱	۰/۰۳±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۳±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۷±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۹±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۲	۰/۰۳±۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۶±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۸±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۹±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۳	۰/۰۳±۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۶±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۸±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۴	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۵±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۸±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۹±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۵	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۴۳±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۸±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۰/۰۸±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۶	۰/۰۳±۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۳±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۵±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۷±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۷	۰/۰۳±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۷±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۸	۰/۰۳±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۵±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۵±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۶±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۹	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۳±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۶±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۰/۰۶±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۱۰	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۸±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۱۵±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۱۱	۰/۰۵±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۵±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۷±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۹±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۱۲	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۵±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۵±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۷±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۱۳	۰/۰۳±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۷±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۱۳±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۱۴	۰/۰۵±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۵±۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۷±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۸±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۱۵	۰/۰۳±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۵±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۸±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۰/۰۸±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۱۶	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۷±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۱۵±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۱۷	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۵±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۱۱±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۱۳±۰/۰۰ <sup>a</sup>
۱۸	۰/۰۵±۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۶±۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۹±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۱۱±۰/۰۰ <sup>a</sup>

اعداد به صورت میانگین ± انحراف معیار در سه تکرار می‌باشند.

حروف بالانویس متفاوت در هر سطر بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح  $\alpha=0.05$  می‌باشند.

جدول ۶: مقادیر تیوباربیتوریک اسید (mMA/kg) در روغن ریز پوشانی شده و ریز پوشانی نشده طی سه ماه نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس

Table 6: The amounts of TBA (mMA/kg) in encapsulated and non-encapsulated fish oil during 3 months of storage at 4°C

تیمار	زمان (ماه)			
	۰	۱	۲	۳
روغن ریز پوشانی شده	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۰/۰۳±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۶±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۶±۰/۰۰ <sup>b</sup>
روغن ریز پوشانی نشده	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۰/۲۵±۰/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۳۰±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۳۲±۰/۰۶ <sup>a</sup>

جدول ۷: مقادیر تیوباربیتوریک اسید (mMA/kg) در روغن ریز پوشانی شده و ریز پوشانی نشده طی سه ماه نگهداری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس

Table 7: The amounts of TBA (mMA/kg) in encapsulated and non-encapsulated fish oil during 3 months of storage at 25°C

تیمار	زمان (ماه)			
	۰	۱	۲	۳
روغن ریز پوشانی شده	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۰/۰۵±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۶±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۷±۰/۰۰ <sup>b</sup>
روغن ریز پوشانی نشده	۰/۰۴±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۰/۲۷±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۰/۳۵±۰/۰۰ <sup>a</sup>	۰/۳۸±۰/۰۲ <sup>a</sup>

اعداد به صورت میانگین±انحراف معیار در سه تکرار می‌باشند

حروف بالانویس متفاوت در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح  $\alpha=0.05$  می‌باشند

## بحث

از روغن ریز پوشانی شده بود. پایین بودن سطح پراکساید نشان‌دهنده این است که احتمالاً تکنیک ریز پوشانی یک روش کارآمد جهت حفاظت از روغن در مقابل اکسایش است. ریز پوشانی روغن ماهی به علت عدم تماس روغن با اکسیژن و یون‌های فلزی، همچنین عدم قرار گرفتن در معرض نور روش مناسبی جهت حفاظت از روغن در برابر ایجاد طعم و بوی نامطلوب است (Garg *et al.*, 2006). در طول زمان در تعدادی از تیمارها مقادیر پراکساید صفر یا کمتر شده بود که می‌توان علت آن را ناپایداری و تبدیل هیدروپراکسیدها به محصولات ثانویه اکسایش یا برهمکنش آن‌ها با پروتئین بیان کرد. در مطالعه Wang و همکاران (۲۰۱۴) بهینه‌سازی ریز پوشانی روغن ماهی تن در هگزامتافسفات سدیم-ژلاتین با استفاده از کوآسرواسیون پیچیده مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که ماندگاری روغن ریز پوشانی شده بیش از دو برابر روغن غیر محصور شده بود که نتایج آن با مطالعه حاضر مطابقت دارد. Wu و همکاران (۲۰۱۲) به منظور بهبود پایداری اکسیداتیو روغن ماهی از روش کوآسرواسیون

فرآورده حاصل از اکسایش اولیه چربی‌ها هیدروپروکسیدها هستند که این ترکیبات ناپایدارند و نقشی در طعم نامطلوب ماهی ندارند. در مرحله دوم اکسایش هیدروپراکسیدها پس از تجزیه، موادی نظیر آلدئیدها، کتون‌ها، الکل‌ها، هیدروکربن‌ها، استرها، فوران‌ها و لاکتون‌ها را ایجاد می‌کنند. این مواد به عنوان عوامل اصلی تغییر بو و مزه در محصولات مطرح می‌باشند. آزمایشی که بطور گسترده جهت اندازه‌گیری مقدار فساد اکسایشی چربی‌ها بکار گرفته می‌شود، شاخص TBA و PV است (Chouliara *et al.*, 2004). شاخص پراکساید مربوط به هیدروپراکساید و شاخص TBA مربوط به اندازه‌گیری میزان مالون‌آلدئید می‌باشد که محصول ثانویه اکسایش اسیدهای چرب چند غیراشباع است (Bremner, 2002).

در این مطالعه روند تولید پراکساید در روغن ریز پوشانی شده و شاهد بررسی شد و نتایج نشان داد که بعد از گذشت دو ماه مقدار پراکساید در روغن شاهد بسیار بیشتر



پودر وجود ندارد، اما نسبت به نمونه شاهد بسیار کمتر است. در این دو فرآیند اکسایش کاهش و پایداری روغن افزایش یافت. در مطالعه حاضر با افزایش غلظت اسانس میخک مقادیر پراکساید افزایش جزئی داشت که با مطالعه Kolanowski و همکاران (۲۰۰۴) مطابقت دارد، در مطالعه آن‌ها پایداری اکسیداتیو نمونه حاوی آلفاتوکوفرول، نمونه حاوی لیکوپن و روغن خالص کپسوله‌شده در دمای محیط و یخچال به عنوان شاهد بررسی شد. نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها (آلفاتوکوفرول و لیکوپن) در بهبود ماندگاری روغن تأثیر ندارد. همچنین مقدار پراکساید در زمان نگهداری در نمونه حاوی آنتی‌اکسیدان بطور قابل توجهی بیشتر از روغن خالص بوده است. در این مطالعه بیشترین مقدار پراکساید به نمونه حاوی لیکوپن و کمترین آن به روغن ریز پوشانی شده که در دمای یخچال نگهداری شده است، مربوط می‌شود.

طبق نتایج بدست آمده شاخص تیوباربتوریک اسید در روغن محصور شده بسیار کمتر از روغن شاهد (ریزپوشانی نشده) است. احتمالاً هنگامیکه هسته (روغن ماهی) در کوآسروای حاصل از برهمکنش مخلوط بیوپلیمر (ژلاتین و صمغ عربی) قرار می‌گیرد، مواد دیواره به عنوان یک مانع فیزیکی از ترکیب اکسیژن با هسته جلوگیری و نرخ اکسایش را کنترل می‌نماید. در مطالعه Chen و همکاران (۲۰۱۳) درون‌پوشانی روغن ماهی با استرهای فیتواسترول و لیمونن با پروتئین‌های شیر مورد بررسی قرار گرفت. بطور کلی، اکسایش اولیه و ثانویه تمام نمونه‌ها در طول نگهداری افزایش یافت اما نرخ اکسایش در نمونه ریز پوشانی شده نسبت به روغن خالص بسیار کمتر بود که مطالعه حاضر با این مطالعه مطابقت دارد. همچنین در مطالعه Chatterjee و همکاران (۲۰۱۵) درون‌پوشانی روغن ماهی با استفاده از مواد دیواره استرول بوتیل گلیسرول-کیتوزان و فرآیندهای امولسیون سازی اولتراسونیک مورد بررسی قرار گرفت که استرول بوتیل گلیسرول-کیتوزان مانع انتقال حرارت و بطور قابل توجهی باعث افزایش مدت زمان ماندگاری روغن ماهی شد. Sun-Waterhouse و همکاران (۲۰۱۱) ثابت روغن

ساده و خشک کردن با خشک‌کن پاششی، برای تولید میکروکپسول‌های حاوی روغن ماهی استفاده کردند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که پایداری اکسیداتیو روغن ماهی توسط تکنیک ریز پوشانی بهبود یافته است. Augustin و همکاران (۲۰۱۴)، دوغ بدون کره (Buttermilk) را به منظور سنجش پتانسیل آن به عنوان کپسوله‌کننده روغن امگا-۳ (روغن ماهی) مورد بررسی قرار دادند، دوغ کامل به تنهایی و یا در ترکیب با شربت گلوکز باعث بهبود پایداری اکسیداتیو امولسیون‌ها و پودرها شد. طبق نتایج بدست آمده از این پژوهش مقدار پراکساید در روغن ریزپوشانی شده در دمای ۲۵ نسبت به ۴ درجه سلسیوس بیشتر است. نرخ اکسایش تحت تأثیر درجه حرارت محیط قرار می‌گیرد. در دماهای پایین‌تر مقادیر پراکساید تولید شده در نمونه کمتر است که با مطالعه Kolanowski و همکاران (۲۰۰۴) مطابقت دارد. در مطالعه آن‌ها ریز پوشانی روغن ماهی به روش خشک‌کن پاششی و تأثیر آن بر ثبات اکسیداتیو و پایداری اکسیداتیو نمونه‌ها در دمای محیط و یخچال بررسی شد. نتایج نشان داد که مقادیر پراکساید در نمونه‌های نگهداری شده در دمای یخچال بسیار کمتر از نمونه‌های نگهداری شده در محیط است. سرعت اکسایش با افزایش دما افزایش قابل توجهی می‌یابد، البته در دماهای بسیار زیاد مانند سرخ کردن به علت خروج ترکیبات فرار نرخ اکسایش نیز کاهش می‌یابد. Baik و همکاران (۲۰۰۴) اثرات آنتی‌اکسیدانی آلفاتوکوفرول و آسکوربیل پالمیتات را بر روی ثبات اکسیداتیو پودر روغن ماهی ریزپوشانی شده، مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که مقدار پراکساید در نمونه‌های حاوی آلفاتوکوفرول نسبت به نمونه‌های حاوی آسکوربیل پالمیتات کمتر است. همچنین آلفاتوکوفرول با دوز ۲۰۰ ppm در یک محدوده ۱۰-۳۰ درصد رطوبت نسبی، پایداری اکسیداتیو پودر روغن ماهی ریز پوشانی شده را طولانی‌تر کرد. در تحقیق Garcia و همکاران (۲۰۰۶)، دو فرایند امولسیون سازی و ریز پوشانی به منظور افزایش پایداری روغن کبد کوسه به کار گرفته شد. آن‌ها مشاهده کردند که بعد از گذشت شصت روز تفاوت معنی‌داری بین مقدار پراکساید تولید شده در امولسیون و

بیشتر در نمونه‌های حاوی اسانس میخک است که در معرض تماس مستقیم با اکسیژن قرار گرفته‌اند. همچنین می‌توان نتیجه گرفت که در تیمارهایی که غلظت اسانس میخک بیشتر است، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در اسانس از ورود روغن به مرحله دوم اکسایشی و تجزیه هیدروپراکسایدها که ترکیبات ناپایداری هستند، جلوگیری کرده است. احتمالاً به همین علت در غلظت بالای اسانس مقادیر هیدروپراکساید (شاخص مرحله اول اکسایش) زیاد اما مقادیر تیوباربتوریک اسید (شاخص مرحله دوم اکسایش) کم است. با افزایش درصد روغن مقادیر روغن آزاد در سطح نانوکپسول‌ها افزایش یافت، در نتیجه به علت تماس با نور و اکسیژن شاخص تیوباربتوریک اسید افزایش یافته است.

### منابع

- Augustin, M.A. and Oliver, C.M., 2014.** Use of Milk Proteins for Encapsulation of Food Ingredients. *Microencapsulation in the Food Industry*. In Anilkumar G. Gaonkar, Niraj Vasisht, Atul R. Khare and Robert Sobel (Eds). *Microencapsulation in the Food Industry*. San Diego: Academic Press. pp211-226. DOI:10.1016/B978-0-12-404568-2.00019-4
- Baik, M.Y., Suhendro, E., Nawar, W., McClements, D., Decker, E. and Chinachoti, P., 2004.** Effects of antioxidants and humidity on the oxidative stability of microencapsulated fish oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81:355-360. DOI:10.1007/s11746-004-0906-7
- Barrow, C., Wang, B., Adhikari, B. and Liu, H., 2013.** Spray drying and encapsulation of omega-3 oils. *Food enrichment with*

زیتون ریزپوشانی شده را در حضور اسیدکافئیک بررسی کردند که طبق نتایج بدست آمده، افزودن اسید کافئیک به همراه ریز پوشانی دارای اثر مثبت بر کاهش مقدار پراکساید و افزایش ماندگاری روغن بود. مقادیر تیوباربتوریک اسید در دمای ۴ و ۲۵ درجه سلسیوس با یکدیگر مقایسه و بررسی شدند. طبق نتایج بدست آمده اختلاف معنی‌داری در شاخص TBA بین آن‌ها دیده نشد اما مقدار آن در دمای ۴ کمتر از ۲۵ درجه سلسیوس است. این نتایج با مطالعه Legako و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت دارد. در مطالعه آن‌ها تأثیر روش‌های تولید بر روی خصوصیات و پایداری میکروکپسول روغن ماهی بررسی شد. میکروکپسول‌های روغن ماهی در دو دمای ۵ و ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شدند، مقایسه مقادیر تولید شده پروپانال (به عنوان معرف شروع مرحله دوم فساد اکسیداتیو در روغن) نشان داد که مقادیر پروپانال در روغن شاهد نسبت به روغن ریز پوشانی شده بسیار بیشتر بود. همچنین تولید پروپانال در میکروکپسول‌هایی که در دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شده بودند، کمتر بود. شاخص TBA تحت تأثیر غلظت اسانس میخک در جهت منفی است یعنی با افزایش غلظت اسانس مقادیر TBA کاهش یافته است. این نتیجه حاکی از آن است که احتمالاً ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در اسانس میخک با تأثیر بر روی روغن ماهی تا حدودی از روغن در برابر اکسایش حفاظت کرده است که با مطالعه Binsi و همکاران (۲۰۱۷) مطابقت دارد. در این مطالعه اثر هم‌افزایی صمغ عربی و عصاره مریم‌گلی در برقراری ثبات در دیواره کپسول و حفاظت از روغن ماهی در طول خشک‌کن پاششی مورد بررسی قرار گرفت. نرخ اکسایش کپسول‌های حاوی روغن و عصاره مریم‌گلی در طول ذخیره‌سازی به نسبت نمونه شاهد پایین‌تر بود. با افزایش غلظت اسانس میخک مقادیر پراکساید بیشتر شده است. اسانس میخک در جهت منفی بر بازدهی ریز پوشانی تأثیر داشت، اما مقادیر تیوباربتوریک اسید کاهش یافته است. در غلظت‌های بالای اسانس مقادیر روغن ریزپوشانی نشده که در سطح کپسول‌ها حضور دارند، بیشتر است. یکی از دلایل افزایش پراکساید احتمالاً حضور روغن سطحی

- omega-3 fatty acids, 194-225.  
DOI:10.1533/9780857098863.2.194
- Binsi, P. K., Nayak, N., Sarkar, P. C., Jeyakumari, A., Muhamed Ashraf, P., Ninan, G. and Ravishankar, C.N., 2017.** Structural and oxidative stabilization of spray dried fish oil microencapsulates with gum arabic and sage polyphenols: Characterization and release kinetics. *Food Chemistry*, 219, 158-168.  
DOI:10.1016/j.foodchem.2016.09.126
- Bremner, H.A., 2002.** Safety and quality issues in fish processing (1<sup>st</sup> ed), Wood Head Publishing Series, Elsevier. p520.
- Chatterjee, D., and Bhattacharjee, P., 2015.** Use of eugenol-lean clove extract as a flavoring agent and natural antioxidant in mayonnaise: product characterization and storage study. *Journal of food science and technology*, 52, 4945-4954.  
DOI:10.1007/s13197-014-1573-6
- Chen, Q., McGillivray, D., Wen, J., Zhong, F. and Quek, S.Y., 2013.** Co-encapsulation of fish oil with phytosterol esters and limonene by milk proteins. *Journal of Food Engineering*, 117, 505-512.  
DOI:10.1016/j.jfoodeng.2013.01.011
- Chouliara, I., Savvaidis, I., Panagiotakis, N., and Kontominas, M., 2004.** Preservation of salted, vacuum-packaged, refrigerated sea bream (*Sparus aurata*) fillets by irradiation: microbiological, chemical and sensory attributes. *Food Microbiology*, 21, 351-359.  
DOI:10.1016/S0740-0020(03)00065-0
- Donsi, F., Annunziata, M., Sessa, M., and Ferrari, G., 2011.** Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *LWT-Food Science and Technology*, 44, 1908-1914. DOI: 10.1016/j.lwt.2011.03.003
- García, E., Gutierrez, S., Nolasco, H., Carreón, L., and Arjona, O., 2006.** Lipid composition of shark liver oil: effects of emulsifying and microencapsulation processes. *European Food Research and Technology*, 222, 697-701.  
DOI:10.1007/s00217-005-0129-4
- Garg, M., Wood, L., Singh, H., and Moughan, P., 2006.** Means of delivering recommended levels of long chain n-3 polyunsaturated fatty acids in human diets. *Journal of Food Science*, 71.  
DOI:10.1111/j.1750-3841.2006.00033.x
- Guan, W., Li, S., Yan, R., Tang, S., and Quan, C., 2007.** Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. *Food Chemistry*, 101, 1558-1564.  
DOI:10.1016/j.foodchem.2006.04.009
- Kampa, M., Nifli, A.-P., Notas, G., and Castanas, E., 2007.** Polyphenols and cancer cell growth. In *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology*. Springer, Berlin, Heidelberg. DOI:10.1007/112\_2006\_0702
- Kaushik, P., Dowling, K., Barrow, C. J., and Adhikari, B., 2015.** Microencapsulation of omega-3 fatty acids: A review of microencapsulation and characterization methods. *Journal of Functional Foods*, 19,

- Part B, 868-881.  
DOI:10.1016/j.jff.2014.06.029
- Kolanowski, W., Laufenberg, G., and Kunz, B., 2004.** Fish oil stabilisation by microencapsulation with modified cellulose. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 55, 333-343.  
DOI:10.1080/09637480410001725157
- Legako, J. 2009.** Effect of Production Method on Characteristics and Oxidative Stability of Microencapsulated Fish Oil. Master of Science Dissertation, Oklahoma State University.
- Lytle, J. S., Lytle, T. F., Newmark, H.L., and Deschner, E.E., 1992.** Stability of a commercially prepared fish oil (omega-3 fatty acid) laboratory rodent diet. *Journal of Nutrition and Cancer*, 17(2), 187-194.  
DOI:10.1080/01635589209514186
- McClements, D., and Decker, E., 2006.** Encapsulated emulsions and methods of preparation: Google Patents.
- Miyashita, K., Nara, E., and Ota, T., 1993.** Oxidative stability of polyunsaturated fatty acids in an aqueous solution. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 57, 1638-1640. DOI:10.1271/bbb.57.1638
- Newton, I. S., 2001.** Long-chain fatty acids in health and nutrition. ACS Publications.
- Pokorny, J. & Dieffenbacher, A. 1989.** Determination of 2-thiobarbituric acid value: direct method-results of a collaborative study and the standardised method. *Pure and applied chemistry*, 61, 1165-1170.  
DOI:10.1351/pac198961061165
- Sun-Waterhouse, D., Zhou, J., Miskelly, G., Wibisono, R., and Wadhwa, S., 2011.** Stability of encapsulated olive oil in the presence of caffeic acid. *Food Chemistry*, 126, 1049-1056  
DOI:10.1016/j.foodchem.2010.11.124.
- Wang, B., Adhikari, B., and Barrow, C. J., 2014.** Optimisation of the microencapsulation of tuna oil in gelatin-sodium hexametaphosphate using complex coacervation. *Food chemistry*, 158, 358-365. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.02.135
- Weinbreck, F., Tromp, R., and De Kruijff, C., 2004.** Composition and structure of whey protein/gum arabic coacervates. *Biomacromolecules*, 5, 1437-1445.  
DOI:10.1021/bm049970v
- Wrolstad, R. E., Acree, T. E., Decker, E. A., Penner, M. H., Reid, D. S., Schwartz, S. J., Shoemaker, C. F., Smith, D. M., and Sporns, P., 2005.** Handbook of Food Analytical Chemistry, Volume 1: Water, Proteins, Enzymes, Lipids, and Carbohydrates, John Wiley & Sons.
- Wu, Y., Luo, Y., and Wang, Q., 2012.** Antioxidant and antimicrobial properties of essential oils encapsulated in zein nanoparticles prepared by liquid-liquid dispersion method. *LWT-Food Science and Technology*, 48(2), 283-290.  
DOI:10.1016/j.lwt.2012.03.027

**Evaluating the stability and controlling the oxidation rate of Rainbow trout fish oil (*Oncorhynchus mykiss*) in nanocapsules containing clove essential oil (*Syzygium aromaticum*)**

Jafarporur S.A.<sup>1\*</sup>, Sharifi E.<sup>1</sup>, Hosseini M.H.<sup>2</sup>

\*a.jafarpour@sanru.ac.ir

1- Department of Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari-Iran

2- Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz-Iran

**Abstract**

The aims of this study were to evaluate the effects of three independent variables including the percentage of total biopolymer (6, 8 and 10%), fish oil content (2 and 3%) and concentration of clove oil (0, 2000 and 3000 ppm) on two dependent oxidative variables including the peroxide value (PV) and thiobarbituric acid (TBA) during 3 months of storage at 4 and 25°C. Evaluating the results after three months of storage indicated that the amounts of PV and TBA of the encapsulated fish oil were significantly lower than those of the control group ( $P<0.05$ ). Furthermore, the amounts of PV and TBA of the encapsulated fish oil stored at 4°C were lower than the amounts of PV and TBA of the encapsulated fish oil stored at 25°C. The amounts of TBA of the encapsulated fish oil containing clove essential oil were decreased by increasing the amounts of clove essential oil ( $P<0.05$ ) and the stability of oil was decreased by increasing the percentages of fish oil ( $P<0.05$ ). Overall, it can be concluded that using 10% biopolymer, 2% fish oil and 2000 ppm clove essential oil were capable to preserve the fish oil stability during three months of storage at 4°C, whereas using 8% biopolymer, 3% fish oil and 3000 ppm clove essential oil were effective in preserving the fish oil stability during three months of storage at 25°C.

**Keywords:** Nanoencapsulation, Fish oil, Clove oil, Oxidation

---

\*Corresponding author