دانشکده کشاورزی
گروه آموزشی علوم دامی

رساله دکتری

ریزکپسوله کردن روغن ماهی و تأثیر آن بر عملکرد بز شیری سانن

رشید صفری

تیر ۱۳۹۱

دانشکده کشاورزی

رساله دکتری

ریزکپسوله کردن روغن ماهی و تأثیر آن بر عملکرد بز شیری سانن

رشید صفری

استاد راهنما

دکتر ولی‌زاده

استادان مشاور

دکتر رسول کدخدایی

دکتر عبدالمنصور طهماسبی

دکتر عباسعلی ناصریان

تیر ۱۳۹۱

تعهد نامه

عنوان رساله:

اینجانب رشید صفری دانشجوی دوره دکتری رشته علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد نویسنده رساله **ریزکپسوله کردن روغن ماهی و تأثیر آن بر عملکرد بز شیری سانن** متعهد می شوم:

۱. نتایج ارائه شده در این پایان نامه حاصل مطالعات علمی و عملی اینجانب بوده، مسئولیت صحت و اصالت مطالب مندرج را به طور کامل بر عهده می گیرم.
۲. در خصوص استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد نظر استناد شده است.
۳. مطالب مندرج در این پایان نامه را اینجانب یا فرد یگری به منظور اخذ هیچ نوع مدرک یا امتیازی تاکنون به هیچ مرجعی تسلیم نکرده است.
۴. کلیه حقوق معنوی این اثر به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد. مقالات مستخرج از پایان نامه، ذیل نام دانشگاه فردوسی مشهد (Ferdowsi University of Mashhad) به چاپ خواهد رسید.
۵. حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تاثیر گذار بوده اند در مقالات مستخرج از رساله رعایت خواهد شد.
۶. در خصوص استفاده از موجودات زنده یا بافتهای آنها برای انجام پایان نامه، کلیه ضوابط و اصول اخلاقی مربوطه رعایت شده است.

تاریخ

نام و امضاء دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- **کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، برنامه های رایانه ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد و بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه قابل واگذاری به شخص ثالث نیست.**
- **استفاده از اطلاعات و نتایج این پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نیست.**

چکیده

به منظور تولید ریزکپسول‌های روغن ماهی و بررسی تأثیر ریزکپسول‌های تولید شده بر عملکرد تولیدی دام چهار سری آزمایش طراحی شد. در مرحله اول هدف بررسی تأثیر ترکیبات فنولی مختلف بر روی پروتئین آب پنیر مورد استفاده در ساختار دیوارهٔ ریزکپسول‌ها و امولسیون روغن ماهی بود. غلظت‌های مختلف اسید تانیک و اسید گالیک در محلول ۳٪ آب پنیر مورد استفاده قرار گرفت. نتایج پراکنش اندازه ذرات، قطر متوسط ذرات و تغییرات مقادیر وزنی ذرات پروتئین آب پنیر بزرگ‌تر از ۲/۵ میکرون و منحنی‌های طیف سنجی مادون قرمز فوریه نشان دهندهٔ تأثیر معنی‌دار ترکیبات فنولی بر ساختار پروتئینی بود ($P<۰/۰۵$). به طوری که در تیمار حاوی ۳۰۰ میلی‌گرم اسید تانیک، قطر متوسط ذرات به طور معنی‌داری از ۱/۶۴ میکرومتر برای تیمار فاقد فنول به ۴/۲۱ میکرومتر افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). در آزمایشات مربوط به امولسیون روغن ماهی نسبت بهینه کنسانتره پروتئین آب پنیر و اسید تانیک و همچنین pH ساخت امولسیون بررسی شد. تا سطح ۲۵ درصد (وزنی/ وزنی) پودر پروتئین آب پنیر روند کاهشی معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) در اندازه قطر قطرات روغن در امولسیون روغن ماهی مشاهده شد. به طوری که از ۰/۶۷ میکرومتر در سطح ۱۰ درصد پودر پروتئین آب پنیر به ۰/۴۷ میکرومتر در سطح ۲۵ درصد پودر پروتئین آب پنیر رسید. سطح بهینهٔ استفاده از اسید تانیک در امولسیون روغن ماهی ۳۰۰ میلی‌گرم به ازای هر گرم پروتئین به دست آمد و pH بهینه برای حداکثر واکنش اسید تانیک با ساختارهای پروتئینی pH=۹ تعیین شد. سری دوم آزمایشات بررسی کیفی ریزکپسول‌های روغن ماهی و شرایط بهینهٔ انبارداری ریزکپسول‌ها بود. تیمارها آزمایشی شامل: کنترل (ریزکپسول تهیه شده از امولسیون اولیه حاوی روغن ماهی و کنسانتره پودر آب پنیر)، 300T1، 300T2 (ریزکپسول حاوی اسید تانیک) و 300Ca (ریزکپسول حاوی اسید تانیک و کلرید کلسیم) بود. تیمار 300T2 به صورت صنعتی و بقیه تیمارها به صورت آزمایشگاهی تولید شد. نتایج آزمایشات انبارداری نشان دهندهٔ عملکرد بهینهٔ تیمار 300T1 نسبت به سایر تیمارهای تولیدشده به روش آزمایشگاهی بود. نتایج حاصل از تیمار 300T2 اختلاف معنی‌دار با تیمار 300T1 نداشت که نشان دهنده شرایط مناسب تولید نیمه صنعتی این تیمار بود. از طرفی میزان اکسیداسیون اولیه اسیدهای چرب در شرایط بهینه نگهداری (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۱۱ درصد) در تیمار 300T1 نسبت به کنترل کاهش معنی‌داری یافت و از ۲/۶۸ به ۰/۴۷ درصد از کل چربی کپسوله شده رسید. سری سوم آزمایشات به صورت آزمایشگاهی جهت بررسی مقاومت انواع ریزکپسول‌های روغن ماهی در شکمبه و میزان خروج روغن از این ریزکپسول‌ها و تأثیر آن‌ها بر تولید گاز و قابلیت هضم در شرایط شکمبه در مقایسه با تیمارهای حاوی روغن ماهی محافظت نشده بود. تیمارهای آزمایشی در بررسی مقاومت انواع ریزکپسول‌های روغن ماهی در شکمبه شامل: کنترل، 300T1 و 300Ca با زمان انکوباسیون ۲۴ ساعت بود. میزان خروج روغن ماهی از ریزکپسول‌های کنترل، 300T1 و 300Ca تحت شرایط pH شکمبه (pH=۶/۴) به ترتیب ۷۴، ۷ و ۱۲درصد و در pH شیردان (pH=۲/۳) به ترتیب ۷۴، ۵۹ و ۶۷ درصد از کل روغن ماهی کپسوله شده بود. در آزمایشات قابلیت هضم ماده خشک و تولید گاز تیمارها شامل: تیمار کنترل (فاقد افزودنی) در مقایسه با ۷ تیمار دیگر با ۲۴ و۷۲ ساعت زمان انکوباسیون بود. تیمارهای حاوی ریزکپسول اسید تانیکی بهترین عملکرد تولید گاز را در مقایسه با سایر تیمارها نسبت به تیمار کنترل داشت. تجزیه پذیری ماده خشک در تیمار حاوی ریزکپسول اسید تانیکی با تیمار کنترل اختلاف معنی‌داری نداشت ($p>۰/۰۵$). در سری چهارم آزمایشات ریزکپسول روغن ماهی در تغذیه بزهای شیرده سانن استفاده شد. تعداد ۱۲ رأس بز شیرده سانن در قالب یک طرح چرخشی ۲ × ۳ در دو دورهٔ آزمایشی ۳۰ روزه مورد آزمایش قرار گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل: کنترل (بدون افزودنی روغن ماهی و یا ریزکپسول روغن ماهی)، روغن ماهی ریزپوشانی شده (۲ درصد روغن ماهی ریزپوشانی شده در ۶ درصد پودر آب پنیر تیمارشده) و روغن ماهی (۲ درصد روغن ماهی و ۶ درصد پودر آب پنیر) بود. نتایج نشان داد که غلظت اسید ایکوزاپنتاانوئیک، اسید دوکوزاپنتاانوئیک و اسید دوکوزاهگزاانوئیک پلاسما به عنوان اسیدهای چرب امگا ۳ نسبت به تیمار کنترل به ترتیب ۲۰، ۱۰ و ۱۳ برابر و نسبت به تیمار روغن ماهی ۲۰، ۲ و ۲/۵ برابر افزایش یافت. این اسیدهای چرب در چربی شیر از ۰/۳۵ ،۰/۰۸ و صفر درصد برای تیمار کنترل به ۰/۸۱، ۱/۵ و۰/۳۷ درصد در تیمار حاوی روغن ماهی ریزپوشانی شده و ۰/۳۴، ۰/۴۶ و ۰/۱۷ درصد در تیمار حاوی روغن ماهی محافظت نشده رسید. با توجه به نتایج، مکمل سازی روغن ماهی بخصوص به صورت ریزکپسوله شده باعث تغییر ترکیب اسیدهای چرب خون و شیر دام مصرف کننده شد و مقدار اسیدهای چرب امگا ۳ را در تولیدات دامی افزایش داد. افزایش این اسیدهای چرب در تیمار حاوی روغن ماهی ریزکپسوله شده نشان دهندهٔ تأثیر مثبت کپسوله کردن جهت محافظت اسیدهای چرب غیراشباع از بیوهیدروژناسیون میکروبی شکمبه است.

کلید واژه‌ها: اسید چرب، امولسیون، چربی شیر، روغن ماهی، ریزکپسول

فهرست مطالب

فصل اول ۱

مقدمه ۱

۱-۱-اهمیت و ضرورت تحقیق ۱

فصل دوم ۵

بررسی منابع ۵

۲-۱- امولسیون ۵

۲-۱-۱- اجزای تشکیل دهنده امولسیون‌ها ۶

۲-۱-۱-۱- فاز آبی ۶

۲-۱-۱-۲- روغن‌ها و چربی‌ها ۶

۲-۱-۱-۳- امولسیفایر ۷

۲-۱-۲- عوامل مؤثر بر رئولوژی امولسیون ۸

۲-۱-۳- پایداری امولسیون ۸

۲-۲- ریزکپسول‌ها ۹

۲-۲-۱- هسته ریزکپسول ۱۰

۲-۲-۲- دیواره ریزکپسول ۱۱

۲-۳- استفاده از پودر آب پنیر جهت ریزپوشانی ۱۱

۲-۳-۱- ترکیب شیمیایی انواع پودر آب پنیر ۱۲

۲-۳-۲-کنسانتره پودر آب پنیر تجاری ۱۳

۲-۴- ترکیبات فنولی ۱۵

۲-۵- استفاده از چربی در جیره نشخوارکنندگان ۲۰

۲-۶- اثرات استفاده از منابع چربی بر تخمیر شکمبه و متابولیسم مواد آلی ۲۱

۲-۷- اثرات میکروارگانیسم‌های شکمبه بر چربی جیره ۲۴

۲-۸- تأثیر روغن ماهی بر چربی شیر نشخوارکنندگان ۲۵
۲-۹- عوامل تغذیه‌ای و فیزیولوژیکی موثر بر سنتز چربی شیر بز ۲۷
۲-۱۰- ترکیب اسید چرب شیر بز ۲۸
۲-۱۰-۱- تأثیر مکمل سازی چربی‌ها بر ترکیب اسید چرب شیر بز ۲۸
۲-۱۰-۲- تأثیر استفاده از روغن‌های محافظت شذه و ریزپوشانی شده بر چربی شیر بز ۲۹
۲-۱۰-۳- تأثیر استفاده از روغن ماهی بر چربی شیر بز ۳۱
فصل سوم ۳۳
مواد و روش‌ها ۳۳
۳-۱- مواد شیمیایی ۳۳
۳-۲- روش‌ها ۳۳
۳-۲-۱- تهیهٔ سوسپانسیون‌های پودر آب پنیر ۳۳
۳-۲-۲- تهیهٔ امولسیون ۳۵
۳-۲-۲-۱- تهیهٔ آزمایشگاهی امولسیون ۳۵
۳-۲-۲-۲- تهیه نیمه صنعتی امولسیون ۳۶
۳-۲-۳- اندازه گیری اندازه ذرات و قطر قطرات ۳۶
۳-۲-۴- تعیین گرانروی ظاهری و رفتار جریان امولسیون ۳۶
۳-۲-۵- تعیین مقادیر وزنی ذرات با قطر بزرگ‌تر از ۲/۵ میکرون ۳۷
۳-۲-۶- تهیهٔ ریزکپسول ۳۷
۳-۲-۶-۱- تهیهٔ آزمایشگاهی ریزکپسول ۳۷
۳-۲-۶-۲- تهیهٔ نیمه‌صنعتی ریزکپسول‌ها ۳۸
۳-۲-۷- تعیین مقدار روغن سطحی ریزکپسول‌ها ۳۸
۳-۲-۸- استخراج روغن کل ۳۸
۳-۲-۹- استخراج روغن از ریزکپسول‌ها با توجه به میزان محلولیت دیواره ۳۹
۳-۲-۱۰- راندمان ریزپوشانی ۳۹

۳-۲-۱۱- اندازه‌گیری رطوبت ریزکپسول‌ها ۳۹
۳-۲-۱۲- آزمون طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR)..... ۴۰
۳-۲-۱۳- عکس برداری با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)..... ۴۲
۳-۲-۱۴- مراحل انجام آزمایشات و جمع آوری داده‌ها ۴۲
۳-۲-۱۴-۱- آزمایش تأثیر ترکیبات فنولی بر پروتئین آب پنیر..... ۴۲
۳-۲-۱۴-۲- آزمایش تعیین سطح مناسب پودر آب پنیر در امولسیون..... ۴۳
۳-۲-۱۴-۳- بررسی تأثیر سطوح مختلف اسید تانیک و کلرید کلسیم بر امولسیون روغن ماهی..... ۴۳
۳-۲-۱۴-۴- بررسی تأثیر pH بر امولسیون روغن ماهی..... ۴۳
۳-۲-۱۴-۵- بررسی ساختار و ویژگی‌های کیفی ریزکپسول‌های روغن ماهی..... ۴۴
۳-۲-۱۴-۶- انبارداری، رهایش و اکسیداسیون روغن ماهی از ریز کپسول‌ها در دما و رطوبت معین ۴۴
۳-۲-۱۴-۷- تأثیر pH شکمبه و شیردان بر میزان باز شدن دیواره ریزکپسول‌ها در محیط آبی ۴۵
۳-۲-۱۴-۸- تأثیر ریزکپسول‌های روغن ماهی بر روند تولید گاز ۴۶
۳-۲-۱۴-۹- آزمایش تأثیر روغن ماهی ریزپوشانی شده بر تجزیه پذیری شکمبه‌ای ۴۷
۳-۲-۱۴-۱۰- تأثیر ریزکپسول روغن ماهی بر ترکیب اسیدهای چرب شیر و عملکرد بزهای شیرده سانن ۴۹
۳-۲-۱۵-محاسبات آماری:..... ۵۱
فصل چهار..... ۵۳
نتایج و بحث ۵۳
۴-۱- تأثیر ترکیبات فنولی بر پروتئین آب پنیر..... ۵۳
۴-۲- تعیین نسبت بهینه پودر پروتئین آب پنیر در امولسیون روغن ماهی در آب ۵۹
۴-۳- تأثیر اسید تانیک و کلرید کلسیم بر ویژگی‌های کیفی امولسیون روغن ماهی..... ۶۳
۴-۴- تأثیر pH بر امولسیون روغن ماهی ۶۸
۴-۵- بررسی ساختاری و ویژگی‌های کیفی ریزکپسول‌های روغن ماهی ۷۰
۴-۶- انبارداری، رهایش و اکسیداسیون روغن ماهی از ریزکپسول‌ها در دما و رطوبت معین..... ۷۳
۴-۷- تأثیر pH شکمبه‌ای و شیردان بر میزان باز شدن دیواره ریزکپسول‌ها در محیط آبی..... ۸۲

۳-۸- آزمایش تولید گاز و تأثیر ریزکپسول روغن ماهی بر روند تولید گاز ۸۵
۳-۹- تأثیر روغن ماهی ریزپوشانی شده بر تجزیه پذیری شکمبه‌ای ۸۸
۴-۸- تأثیر ریزکپسول روغن ماهی بر اسیدهای چرب شیر و عملکرد بزهای شیرده سانن ۹۱
فصل پنجم ۱۰۳
نتیجه گیری کلی و پیشنهادات ۱۰۳
۵-۱- نتیجه‌گیری ۱۰۳
۵-۲- پیشنهادات ۱۰۸
منابع ۱۱۱

فهرست شکل‌ها

عنوان شکل | صفحه

شکل ۲-۱. مکانیسم‌های مختلف ناپایداری امولسیون‌ها ۹
شکل ۲-۲. ساختمان ریزکپسول ۱۰
شکل ۲-۳. مراحل تهیه امولسیون و تولید ریزکپسول ۱۰
شکل ۲-۴. انواع ریزکپسول ۱۱
شکل ۲-۵. طبقه بندی فنول‌ها و ترکیبات وابسته ۱۷
شکل ۲-۶. مراحل واکنش فنول با بخش آمین ساختارهای پلی‌پپتیدی و تشکیل پلیمر پروتئینی ۱۸
شکل ۲-۷. مراحل کلیدی تبدیل لیپیدهای استری اسیدهای چرب غیراشباع به اسیدهای چرب اشباع ۲۵
شکل ۴-۱. تغییرات قطر متوسط ذرات محلول پروتئین آب پنیر حاوی غلظت‌های مختلف ترکیبات فنولی ۵۴
شکل ۴-۳. تغییرات مقادیر وزنی ذرات پروتئین آب پنیر بزرگ‌تر از ۲/۵ میکرون با افزایش غلظت ترکیبات فنولی ۵۶
شکل ۴-۳. منحنی‌های طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه ۵۹
شکل ۴-۴. تغییرات قطر متوسط قطرات در امولسیون روغن ماهی تهیه شده با نسبت‌های مختلف پودر آب پنیر . ۶۱
شکل ۴-۶. تأثیر سطوح مختلف اسید تانیک و کلرید کلسیم بر قطر متوسط قطرات در امولسیون روغن ماهی ۶۵
شکل ۴-۷. تصاویر میکروسکوپ نوری امولسیون‌های روغن ماهی تحت تأثیر سطوح مختلف اسید تانیک و کلرید کلسیم ۶۶
شکل ۴-۹. تأثیر pH امولسیون بر میانگین قطر ذرات امولسیون ۶۸
شکل ۴-۱۰. تصاویر میکروسکوپ نوری امولسیون‌های روغن ماهی حاوی اسید تانیک نحت تأثیر pH امولسیون ۶۹
شکل ۴-۱۱. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی ریزکپسول‌های روغن ماهی ۷۳
شکل ۴-۱۲. میزان اکسیداسیون روغن ماهی خروجی از ریزکپسول در طول ۸ هفته انبارداری با رطوبت‌های محیطی مختلف و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد ۷۴
شکل ۴-۱۳. تعیین میزان اکسیداسیون روغن ماهی خروجی از ریزکپسول در طول ۸ هفته انبارداری با رطوبت‌های محیطی مختلف و دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد ۷۵
شکل ۴-۱۵. تعیین میزان اکسیداسیون روغن ماهی هسته ریزکپسول در شرایط انبارداری با رطوبت‌های مختلف و دمای ۵۰ درجه سانتیگراد ۷۷
شکل ۴-۱۶. تعیین میزان اکسیداسیون کل روغن ماهی ریزپوشانی شده در شرایط انبارداری با رطوبت‌های مختلف و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد ۷۹
شکل ۴-۱۷. تعیین میزان اکسیداسیون کل روغن ماهی ریزپوشانی شده در شرایط انبارداری با رطوبت‌های مختلف و دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد ۸۰
شکل ۴-۱۸. درصد تغییرات مقدار اسید چرب کونژوگه با توجه به میزان پیشرفت اکسیداسیون روغن ماهی خروجی از ریزکپسول و کل روغن ماهی ریزپوشانی شده در طول ۸ هفته انبارداری با رطوبت‌های محیطی مختلف در دمای نگهداری ۲۵ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد ۸۱
شکل ۴-۱۹. تأثیر pH شکمبه بر نرخ خروج روغن ماهی از ریزکپسول‌های مختلف روغن ماهی در زمان‌های مختلف انکوباسیون آزمایشگاهی در محیط آبی ۸۲

شکل ۴-۲۰. تأثیر pH شیردان بر نرخ خروج روغن ماهی از ریزکپسول‌های مختلف روغن ماهی در زمان‌های مختلف انکوباسیون آزمایشگاهی در محیط آبی..... ۸۳
شکل ۴-۲۱. تأثیر pH شکمبه و شیردان بر آزاد سازی روغن ماهی از ریزکپسول‌های مختلف روغن ماهی در مدت زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون آزمایشگاهی در محیط آبی..... ۸۴
شکل ۴-۲۲. روند تولید گاز در تیمارهای مختلف ریزکپسول روغن ماهی در مقایسه با تیمارهای حاوی روغن ماهی محافظت نشده و تیمارهای فاقد روغن ماهی در جیره بر پایه علوفه ۸۶
شکل ۴-۲۳. تأثیر روند تولید گاز در تیمارهای مختلف ریزکپسول روغن ماهی در مقایسه با تیمارهای حاوی روغن ماهی محافظت نشده و تیمارهای فاقد روغن ماهی بر پایه جیره کامل..... ۸۷
شکل ۴-۲۴. همبستگی بین گاز تولیدی در آزمایش تولید گاز و تجزیه پذیری ماده خشک به دست آمده از آزمایش Batch culture..... ۹۰

فهرست جدول‌ها

عنوان جدول	صفحه
جدول ۲-۱. انواع پودر پروتئین آب پنیر و برخی ترکیبات شیمیایی آن‌ها	۱۲
جدول ۲-۲. ترکیب برخی از کنسانتره های پودر آب پنیر تجاری متداول بر اساس درصد پروتئین	۱۳
جدول ۲-۳. پروتئین‌های تشکیل دهنده شیر گاو و آب پنیر حاصل از آن	۱۴
جدول ۲-۴. ترکیب اسیدهای آمینه موجود در پروتئین آب پنیر، کازئین، شیر، سویا و آلبومین تخم‌مرغ	۱۵
جدول ۳-۱ ترکیبات مورد استفاده در تهیه محلول آب پنیر و امولسیون‌های روغن ماهی	۳۴
جدول ۳-۲. ترکیب جیره غذایی تیمارهای آزمایشی مورد استفاده	۵۰
جدول ۴-۱. تأثیر سطوح مختلف اسید تانیک بر قطر متوسط ذرات (D_{32}) و توزیع اندازه ذرات پروتئین آب پنیر	۵۴
جدول ۴-۲. تأثیر سطوح مختلف اسید گالیک بر قطر هارمونیک و حسابی و پراکنش اندازه ذرات پروتئین آب پنیر	۵۵
جدول ۴-۳. تأثیر تغییرات نسبت پودر آب پنیر بر میانگین قطر قطرات و پراکنش اندازه قطرات امولسیون روغن ماهی	۶۰
جدول ۴-۴. تأثیر سطوح مختلف اسید تانیک و کلرید کلسیم بر قطر متوسط ذرات و پراکنش اندازه آن‌ها امولسیون روغن ماهی	۶۳
جدول ۴-۵. روغن سطحی، روغن کل، راندمان ریزپوشانی و روغن خروجی از ریزکپسول در محیط آبی	۷۲
جدول ۴-۶. کل گاز تولیدی، نرخ تولید گاز و مقادیر محاسباتی تجزیه پذیری ماده آلی، اسیدهای چرب فرار و انرژی خالص در تیمارهای آزمایشی بر پایه علوفه	۸۵
جدول ۴-۸. تجزیه پذیری ماده خشک جیره بر پایه علوفه، pH شکمبه‌ای و روغن ماهی قابل استخراج در تیمارهای آزمایشی در شرایط ۲۴ ساعت انکوباسیون آزمایشگاهی به روش Batch culture	۸۹
جدول ۴-۹. ترکیب اسیدهای چرب روغن ماهی و کنجاله کانولا	۹۲
جدول ۴-۱۰. ماده خشک مصرفی، pH شکمبه و تولید شیر بزهای تغذیه شده با جیره‌های غذایی آزمایشی	۹۳
جدول ۴-۱۱. درصد اسیدهای چرب شیر بزهای شیری تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی	۹۶
جدول ۴-۱۲. درصد اسیدهای چرب مایع شکمبه بزهای شیری تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی	۹۷
جدول ۴-۱۳. درصد اسیدهای چرب پلاسمای خون بزهای شیری تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی	۹۹
جدول ۴-۱۴. فراسنجه‌های پلاسمای خون بزهای شیری تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی	۱۰۱
آب پنیر و برخی ترکیبات شیمیایی آن‌ها	۱۲

فهرست علامت ها و اختصارها

معادل فارسی	معادل انگلیسی	علامت
ارتعاشات خمشی	deformation	-
ارتعاشات کششی	stretching	-
اسید دوکوزاپنتاانوئیک	Docosapentaenoic acid	DPA
اسید لینولنیک کونژوگه	Conjugated linoleic acid	CLA
ایکوزاپنتاانوئیک	Eicosapentaenoic acid	EPA
ایمونوگلوبولین A	Immunoglobulin A	IgA
ایمونوگلوبولین G	Immunoglobulin G	IgG
ایمونوگلوبولین M	Immunoglobulin M	IgM
آزمایشگاهی	in vitro	in vitro
به هم پیوستن	Flocculation	-
پتانسیل هیدروژن	Potential hydrogen	pH
تووین ۸۰	Tween 80	Tween 80
جدایه پروتئین آب پنیر	Whey protein isolate	WPI
درهم آمیختن	Coalescence	-
دوکوزاهگزاانوئیک	Docosahexaenoic acid	DHA
روغن پس دادن	Oiling off	-
سنتز درون بدنی	de novo	de novo
طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه	Fourier Transform Infra Red Spectroscopy	FTIR
قطر سطح- حجم	Sauter	D_{32}
کنسانتره پودر آب پنیر	Whey protein concentrate	WPC
لیپوپروتئین با چگالی بالا	High density lipoprotein	HDL
لیپوپروتئین با چگالی پایین	low density lipoprotein	LDL
مقادیر پیوند دوگانه کونژوگه	Conjugated value	CD value
موازنه هیدروفیل/لیپوفیل	Hydrophilic-lipophilic balance	HLB
میکروسکوپ الکترونی روبشی	Scanning electron microscope	SEM
هموژن کننده دو مرحله‌ای فشار بالا	Two stage high pressure Homogenizer	-

فصل اول

مقدمه

۱-۱-اهمیت و ضرورت تحقیق

در سال‌های اخیر توجه زیادی به استفاده از روغن‌های حاوی اسیدهای چرب غیر اشباع ضروری در تغذیه دام و طیور جهت غنی سازی تولیدات آنها (مانند شیر و گوشت) معطوف شده است. ورود این اسیدهای چرب به تولیدات دامی و بدن انسان با کاهش معنی‌دار بیماری‌های قلبی و عروقی همراه است (لاک و بومن، ۲۰۰۴). از مزایای افزایش انتقال اسیدهای چرب ضروری به خون گاوهای شیری می‌توان به تأثیر مثبت آنها بر تولید مثل از طریق سنتز مطلوب هورمون‌ها و پروستوگلاندین‌ها اشاره کرد (ماتوس و همکاران، ۲۰۰۰). اسیدهای چرب غیراشباع خوراک عمدتاً در شکمبه نشخوارکنندگان بیوهیدروژنه شده و ترکیب اسیدهای چرب ورودی به شکمبه و خروجی از آن تفاوت قابل ملاحظه‌ای دارد (پالمکویست و همکارن، ۲۰۰۵). از این رو به حداقل رساندن فرآیند بیوهیدروژناسیون شکمبه‌ای اسیدهای چرب غیراشباع ضروری یکی از موارد مهم و مورد توجه تولید کنندگان مکمل‌های خوراکی جهت افزایش فراهمی این اسیدهای چرب در

روده است. بنابراین تحقیق بر روی متابولیسم چربی‌ها در نشخوارکنندگان از دو مقوله مدنظر قرار گرفته است. ۱) کنترل اثرات ضدمیکروبی اسیدهای چرب تا به این وسیله اسیدهای چرب بیشتری به جیره اضافه شود ۲) تنظیم بیوهیدروژناسیون میکروبی به گونه‌ای که بتوان جذب اسیدهای چرب انتخابی را به منظور بهبود کیفیت شیر یا گوشت تولیدی افزایش داد (جنکینز، ۱۹۹۳).

از روش‌های ارائه شده جهت محافظت اسیدهای چرب غیراشباع در شرایط شکمبه می‌توان به استفاده از پوشش‌های پروتئینی عمل‌آوری شده با فرمآلدهید (نواکس و همکاران، ۱۹۹۶؛ اسکات و همکاران، ۱۹۷۱) و یا استفاده از ساختارهای پروتئینی حرارت داده شده با قابلیت انحلال پایین به صورت پوشش پلیمر ژله‌ای اشاره کرد (کارول و همکاران، ۲۰۰۶).

محققان استرالیایی (اسکات و همکاران، ۱۹۷۱) در روشی که جهت محافظت شکمبه‌ای اسیدهای چرب غیراشباع ابداع کردند، روغن به عنوان هسته با پوششی از پروتئین عمل آوری شده با فرمالدهید، جهت ایجاد پیوندهای عرضی در ساختار پروتئین، احاطه شد. این روش محافظتی اسیدهای چرب غیر اشباع به منظور تغییر در ترکیب اسیدهای چرب شیر گاو شیری (گالاتی و همکاران، ۱۹۹۹؛ نواکس و همکاران، ۱۹۹۶) و دام‌های کوچک (گالاتی و همکاران، ۱۹۹۷، کیتاسا و همکاران، ۲۰۰۱) با موفقیت استفاده شد. ریزکپسوله کردن نیز روشی موثر برای محافظت اسیدهای چرب غیراشباع از اکسیداسیون و احتمالاً بیوهیدروژناسیون شکمبه‌ای است و می‌تواند جایگزینی برای فرمالدهید باشد که مصرف آن در سیستم تولیدات دامی بسیاری از کشورها ممنوع شده است (جنکینز، ۱۹۹۳). کنسانتره پودر آب پنیر (۳۵٪ پروتئین) به عنوان ساختار پروتئینی تشکیل دهنده دیواره ریزکپسول‌ها کاربرد دارد (سرفرت و همکاران، ۲۰۰۹؛ یانگ و همکاران، ۱۹۹۳). فنول‌های استخراج شده از گیاهان مانند اسید تانیک در شرایط اکسیداسیون (محیط قلیایی و مجاورت با اکسیژن) قابلیت ایجاد پیوند کووالانسی با گروه آمینی پپتیدهای موجود در کنسانتره پودر آب پنیر را دارد و می‌تواند منجر به تشکیل ساختار پروتئینی یکپارچه با مقاومت مکانیکی بالا شود که در نهایت

باعث کاهش باز شدن دیواره ریزکپسول‌ها در آب می‌گردد(رودریگز و همکاران، ۱۹۷۵). از طرفی واکنش اسید تانیک با پودر آب پنیر و تشکیل ساختارهای مولکولی بزرگ و یکپارچه باعث کاهش قابلیت حل شدن این ساختار در محیط آبی مانند محیط شکمبه‌ای می‌شود. نتیجه این عوامل، افزایش مقاومت ساختار پروتئینی و در نهایت ریزکپسول‌ها به شکسته شدن در شرایط شکمبه و کاهش تأثیر آنزیم‌های باکتریایی بر اسیدهای چرب غیراشباع به وسیله از دسترس خارج کردن این اسیدهای چرب می‌باشد (رودریگز و همکاران، ۱۹۷۵). ساختار یکپارچه تشکیل شده از پروتئین آب پنیر و اسید تانیک در شرایط اسیدی شیردان پایدار نیست و پروتئین‌های موجود در دیواره کپسول‌ها برای هضم آنزیمی در روده در دسترس قرار می‌گیرند که در نتیجه این امر دیوارهٔ ریزکپسول‌ها باز شده و باعث آزاد شدن اسیدهای چرب درون کپسول‌ها در روده می‌شود (مسمان و همکاران، ۱۹۹۶؛ تاباکو و همکاران، ۲۰۰۶).

هدف از این مطالعه در مرحله اول بررسی شرایط بهینه ساخت ریزکپسول روغن ماهی با دیواره مقاوم سازی شده به هضم در شرایط شکمبه و بررسی شرایط انبارداری ریزکپسول مورد مطالعه بود. در مرحله دوم تأثیر pH شکمبه و شیردان بر میزان خروج روغن از ریزکپسول‌ها، مقاومت انواع ریزکپسول‌های روغن ماهی در برابر شکنندگی در شرایط شکمبه‌ای و تأثیر ریزکپسول‌ها بر تولید گاز و قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک تیمارها بر پایه علوفه و یا جیرهٔ کامل در مقایسه با تیمارهای حاوی روغن ماهی محافظت نشده در شرایط آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفت. در نهایت تاثیر ریزکپسول تولید شده در آزمایشات دامی بر روی تولید و ترکیبات شیر، متابولیت‌های خونی و ترکیب اسیدهای چرب شیر بررسی شد.

فصل دوم

بررسی منابع

۲-۱- امولسیون

فرایند ریزپوشانی با تهیه امولسیون آغاز می‌شود. امولسیون‌ها از دو مایع مخلوط نشدنی تشکیل شده‌اند، به گونه‌ای که یک مایع به صورت قطرات کروی شکل بسیار ریز در دیگری پراکنده شده است. فازی که در دیگری پخش می‌شود را فاز درونی یا غیر پیوسته و فاز بعدی که فضای اصلی را تشکیل می‌دهد، فاز بیرونی یا فاز پیوسته می‌گویند. این دو فاز مخلوط نشدنی را معمولاً آب و روغن (چربی) تشکیل می‌دهند. ساختار امولسیونی ممکن است به دو شکل ساده روغن در آب و یا آب در روغن و یا به صورت چندگانه روغن در آب در روغن و یا آب در روغن در آب باشد (فریبرگ و لریسون، ۱۹۹۷).

۲-۱-۱- اجزای تشکیل دهنده امولسیون‌ها

امولسیون‌ها به طور کلی از سه بخش اصلی آب، روغن و پایدارکننده ها (امولسیفایر) تشکیل شده‌اند. با این حال این بسته به ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، تغذیه‌ای و عملکردی خاصی که ممکن است برای یک امولسیون در نظر گرفته شود به جز سه بخش اصلی ترکیبات دیگری از جمله آنتی اکسیدان‌ها، طعم دهنده‌ها، رنگ‌ها، نگه‌دارنده‌ها، نمک‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی را می‌توان در ساختمان آن‌ها دید(فریبرگ و لریسون، ۱۹۹۷).

۲-۱-۱-۱- فاز آبی

در امولسیون روغن در آب بخش اصلی امولسیون که اجزای دیگر در داخل آن به صورت محلول یا معلق در می‌آیند فاز آبی می‌باشد. با استفاده از مواد حل شونده در فاز آبی نظیر نمک‌ها، اسیدها و قلیاها می‌توان ویژگی‌های کیفی امولسیون و پایداری آن را تحت تأثیر قرار داد. فاز آبی در نهایت دیواره ریزکپسول را تشکیل می‌دهد. در این آزمایش فاز آبی محلول پودر آب پنیر انتخاب شد(فریبرگ و لریسون، ۱۹۹۷).

۲-۱-۱-۲- روغن‌ها و چربی‌ها

منشاء روغن‌ها و چربی‌های مورد استفاده در تهیه امولسیون‌ها متفاوت است و ممکن است بافت‌های گیاهی، دانه‌ها، منابع حیوانی و دریایی (ماهی) باشد. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی فاز روغنی تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر خواص تغذیه‌ای، ارگانولپتیک، فیزیکوشیمیایی، بافت، رئولوژی و مالش پذیری امولسیون دارد(فریبرگ و لریسون، ۱۹۹۷). یکی از ویژگی‌هایی که در انتخاب فاز روغنی باید مورد توجه قرار گیرد، ارزش غذایی روغن استفاده شده در آن است. امروزه گرایش به استفاده از روغن‌های با کلسترول پایین، اسید

چرب اشباع کمتر و نسبت اسید چرب امگا ۳ به امگا ۶ بیشتر وجود دارد که در این رابطه روغن ماهی می‌تواند مورد توجه قرار گیرد.

۲-۱-۱-۳- امولسیفایر

امولسیفایرها ترکیبات فعال در سطح هستند که با جذب در سطح مشترک روغن- آب؛ مانع از تجمع، به هم پیوستن و درهم آمیختن قطرات روغن موجود در امولسیون شده و در نتیجه موجب افزایش پایداری آن می‌شوند (دیکنسون، ۲۰۰۹). به عبارت دیگر، امولسیفایرها دارای خواص دوگانه ، چربی دوست (لیپوفیلیک) و آبدوست (هیدروفیلیک) می‌باشند. کشش سطحی بین دو فازکه در حالت عادی غیر قابل اختلاط هستند بوسیله امولسیفایر کاسته می‌شود، بنابراین دو مایع قادر خواهند بود که یک امولسیون تشکیل بدهند. یک امولیسفایر شامل بخش‌های محلول در آب و بخش‌های محلول در روغن است. وقتی یک امولسیفایر به مخلوط آب و روغن اضافه می‌شود امولسیفایر بر روی سطح تماس بین این دو قرار می‌گیرد به نحوی که بخش هیدروفیل آن به سمت آب و بخش لیپوفیل به سمت روغن متمایل می‌گردد. عملکرد امولسیفایرهای مختلف ارتباط نزدیک به ساختمان شیمیایی آنها دارد. امولسیفایر خوراکی را می‌توان براساس ۴ ویژگی زیر دسته بندی کرد:

۱- منشا امولسیفایر(طبیعی یا مصنوعی)

۲- حلالیت امولسیفایر

۳- حضور گروههای عاملی: موازنه هیدروفیل/لیپوفیل (HLB)

۴- پتانسیل یونیزاسیون (یونی، غیریونی): امولسیفایرهای غیریونی بدلیل پیوندهای کووالانسی در آب تفکیک نمی‌شوند. امولسیفایرهای آمفوتریک دارای هر دو گروه کاتیونی و آنیونی هستند و خواص کشش سطحی آن‌ها وابسته به pH می‌باشد.

۲-۱-۲- عوامل مؤثر بر رئولوژی امولسیون

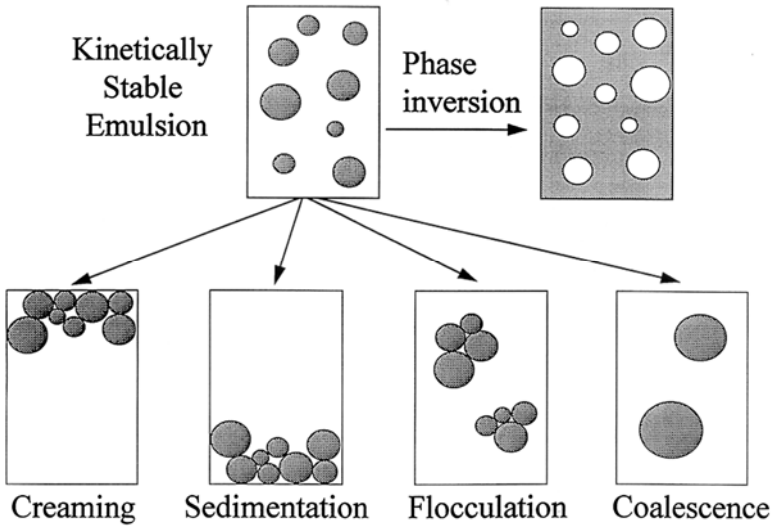
گرانروی امولسیون ، با افزایش غلظت قطرات فاز پراکنده افزایش می‌یابد، زیرا در این شرایط مقاومت زیادی در برابر حرکت و جریان لایه‌های مایع به وجود می‌آید. در غلظت‌های پایین قطرات، افزایش گرانروی با زیاد شدن جمعیت گویچه‌ها به صورت غیر خطی است و امولسیون ویژگی‌هایی مشابه ژل را پیدا می‌کند. به طور کلی می‌توان با تغییر جزء حجمی فاز پراکنده یا غلظت قطرات، رئولوژی امولسیون‌های غذایی را کنترل نمود. در عمل جهت تغییر ویژگی‌های رئولوژی امولسیون از روش‌های جایگزین مانند افزودن ترکیبات تغلیظ کننده یا ژل دهنده استفاده می‌شود (مک‌کلمنت،۲۰۰۴ و ۲۰۰۵ و مک گراث، ۲۰۰۳)

از دیدگاه نظری گرانروی امولسیون به طور مستقیم متناسب با گرانروی فاز پیوسته است؛ در نتیجه هرگونه تغییر در رئولوژی فاز پیوسته اثر مشابهی بر رئولوژی کل امولسیون دارد (فریبرگ و لریسون، ۱۹۹۷). چنان که گفته شد،افزایش غلظت فاز پراکنده، موجب افزایش گرانروی امولسیون روغن در آب می‌شود (لورنزو و همکاران، ۲۰۰۸). با این حال رئولوژی فاز پراکنده اثر ناچیزی بر خواص رئولوژیکی امولسیون‌های غذایی مایع می‌گذارد، زیرا قطرات با غشای ویسکوالاستیک پوشیده شده که رفتار آن‌ها را مشابه ذرات کروی سخت می‌سازد. البته در امولسیون‌های روغن در آب غلیظ مانند مایونز، رئولوژی قطرات نقش مهمی را ایفا می‌کند. در این سامانه‌ها قطرات ممکن است در اثر تنش تغییر شکل داده و بر ویژگی‌های رئولوژیکی کل امولسیون و میزان مقاومت آن به جریان تأثیر داشته باشد (مک‌کلمنت، ۲۰۰۵).

۲-۱-۳- پایداری امولسیون

در مباحث مربوط به امولسیون‌ها پایداری یا ثبات امولسیون، به عدم تغییر ویژگی‌ها و شاخص‌های کیفی امولسیون در طول زمان گفته می‌شود. مکانیسم‌های فیزیکوشیمیایی متعددی وجود دارد که در تغییر ویژگی‌های امولسیون موثرند. متداول‌ترین مکانیسم‌هایی که در امولسیون‌ها رخ می‌دهد و منجر به ناپایداری

آن‌ها می‌شوند شامل خامه‌ای شدن (رویه بستن) و ته‌نشینی (رسوب) است؛ به طوری که خامه‌ای شدن حرکت رو به بالا و ته‌نشینی جابجایی رو به پایین قطرات در اثر اختلاف چگالی با مایع اطراف خود می‌باشد. به هم پیوستن و درهم آمیختن نیز از مکانیسم‌های دیگر ناپایداری امولسیون‌ها هستند و هر دو نوعی از تجمع قطرات در کنار هم به شمار می‌روند با این تفاوت که در به هم پیوستن شکل و ماهیت قطرات حفظ می‌شود اما در درهم آمیختن، قطرات با یکدیگر آمیخته شده و به صورت یک قطره بزرگ‌تر در می‌آیند. ادامه این عمل ممکن است به جداسازی کامل فاز روغن از آب منجر شود که در اصطلاح روغن انداختن یا روغن پس دادن گفته می‌شود.



شکل ۲-۱. مکانیسم‌های مختلف ناپایداری امولسیون‌ها (مک‌کلمنت، ۲۰۰۵)

۲-۲- ریزکپسول‌ها

ریزکپسول واژه‌ای است که برای ذرات با اندازه ۵۰۰۰ - ۰/۲ میکرومتر به کار می‌رود. انواع بزرگ‌تر از ۵۰۰۰ میکرومتر تحت عنوان ماکرو و انواع کوچک‌تر از ۰/۲ میکرومتر تحت عنوان نانوکپسول طبقه‌بندی می‌شوند (فریبرگ و لریسون، ۱۹۹۷). به طور کلی فرآورده حاصل از ریزپوشانی "ریزکپسول" نامیده می‌شود که شکل کروی و یا نامنظم دارد (شکل ۲-۲). هر ریزکپسول شامل دو بخش اصلی هسته و دیواره