



Gorgan University of
Agricultural Sciences
and Natural Resources



Iranian Association of Food Scientists
and Technologists

Optimization of Thyme Essential Oil Microcapsule Production Process: Comparison of Response Surface Method and Artificial Neural Network

Maryam Ebrahimi¹ | Hajar Abbasi^{2*} | Mohsen Norouzi Mobarakeh³

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

²Department of Food Science and Technology, College Agriculture, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran, Email: abbasihajar@yahoo.com

³Department of Environment, College Agriculture, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 15.06.2020
Revised: 24.07.2020
Accepted: 06.10.2020

Keywords:
Artificial neural network
Response surface
methodology
Microencapsulation
Thymus vulgaris essential
oil

ABSTRACT

Background and objective: *Thymus vulgaris* is one of the most well-known medicinal plants which its essential oil contains various active ingredients such as thymol and carvacrol with antioxidant, antibacterial, and antifungal activities. This essential oil is very sensitive and loses its properties against different factors. Microencapsulation process is performed for protecting volatile and sensitive compounds to chemical reactions. Modeling of this process can be effective in assessing and predicting conditions affecting qualitative properties of the product. The main purposes of this study is performance comparison between response surface methodology and artificial neural network methods for the microencapsulation optimization of *Thymus vulgaris* essential oil.

Materials and methods: In this study, oil in water emulsions consisting of 5% (w/w) thyme essential oil in an aqueous suspension of wall materials (10, 33.13, 20, 26.66 and 30%), with different protein (sodium caseinate) to polysaccharide (modified starch and maltodextrin) ratios (0, 66.6, 20, 33.33 and 40%) were prepared by sonication at various ultrasonic time (30, 45, 75, 105 and 120 seconds). Freeze-dried microcapsules were produced from prepared emulsions. Finally, the effect of aforementioned parameters on thyme essential oil encapsulation efficiency, total phenolic content, and antioxidant activity were investigated.

Results: The results of process modeling showed that in both methods, qualitative properties of microcapsules were increased with increasing wall concentration, protein-to-polysaccharide ratio, and ultrasonic time. The mutual effect of the protein: polysaccharide ratio at the middle level of the variables also caused improvements in total phenolic compounds maintenance and antioxidant capacity of *Thymus vulgaris* essential oil. According to the results, the optimum points of neural network and response surface methodology were wall concentration of 28%, 16% protein to polysaccharide ratio, 111 seconds of ultrasonic time and 29% of wall concentration, 18% of protein to polysaccharide ratio and 87 seconds of ultrasonic time, respectively. Among the optimized samples, the optimum sample obtained from the artificial neural network model showed both higher total phenolic content and microencapsulation efficiency ($P < 0.05$).

Conclusion: The results of this study showed that protein to polysaccharide ratio had the greatest effect on the microencapsulation process. Also, artificial neural network with optimal topology (progressive networks 4 layers, 2 hidden layers and 10 neurons in each hidden layer) was more effective than response surface methodology in predicting the qualitative characteristics of microencapsulation of *Thymus vulgaris* essential oil due to its unique ability in processing information and modeling complex systems.

Cite this article: Ebrahimi, M., Abbasi, H., Norouzi Mobarakeh, M. 2022. Optimization of Thyme Essential Oil Microcapsule Production Process: Comparison of Response Surface Method and Artificial Neural Network. *Journal of Food Processing and Preservation*, 13 (3), 91-114.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/EJFPP.2022.18096.1621

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

بهینه‌یابی فرآیند تولید ریزپوشینه اسانس آویشن شیرازی: مقایسه روش سطح پاسخ و شبکه عصبی مصنوعی

مریم ابراهیمی^۱ | هاجر عباسی^{۲*} | محسن نوروزی مبارکه^۳

۱. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.
۲. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران. رایانامه: abbasihajar@yahoo.com
۳. استادیار گروه محیط زیست، دانشکده کشاورزی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی - پژوهشی	سابقه و هدف: آویشن شیرازی، یکی از شناخته‌شده‌ترین گیاهان دارویی می باشد. اسانس آن دارای مواد مؤثره‌ی مختلفی خصوصاً تیمول و کارواکرول می‌باشد که از ویژگی ضد اکسایشی، ضدباکتریایی و ضد قارچی برخوردارند. این اسانس در برابر عوامل مختلف بسیار حساس بوده و به سرعت اکسیده شده و ویژگی‌های خود را از دست می‌دهد، بنابراین ریزپوشانی این اسانس با هدف حفاظت از آن در برابر عوامل محیطی و واکنش‌های شیمیایی صورت می‌گیرد. مدل‌سازی فرآیند می‌تواند در ارزیابی و پیش‌بینی تأثیر شرایط مؤثر بر ویژگی‌های کیفی محصول مناسب کارآمد باشد. هدف از پژوهش حاضر مقایسه عملکرد دو روش سطح پاسخ و شبکه عصبی مصنوعی در بهینه‌یابی شرایط تولید ریزپوشینه اسانس آویشن شیرازی می‌باشد.
واژه‌های کلیدی: شبکه عصبی مصنوعی روش سطح پاسخ ریزپوشانی اسانس آویشن شیرازی	مواد و روش‌ها: در این پژوهش امولسیون روغن در آب، حاوی ۵ درصد (وزنی/وزنی) اسانس آویشن شیرازی در سوسپانسیون آبی حاوی مواد دیواره در سطوح مختلف (۱۰، ۱۳/۳۳، ۲۰، ۲۶/۶۶ و ۳۰ درصد) با نسبت پروتئین (کازئینات سدیم) به پلی‌ساکارید (نشاسته اصلاح شده و مالتودکسترین: ۰، ۶/۶۶، ۲۰، ۳۳/۳۳ و ۴۰ درصد)، با کمک امواج فراصوت در مدت زمان‌های مختلف (۳۰، ۴۵، ۷۵، ۱۰۵ و ۱۲۰ ثانیه) تهیه شد. از امولسیون‌های تهیه شده با استفاده از خشک‌کن انجمادی ریزپوشینه تهیه شد و تأثیر فاکتورهای فوق بر تغییرات ویژگی‌های کیفی از جمله راندمان ریزپوشانی بر حسب میزان اسانس ریزپوشانی شده، میزان ترکیبات فنولی و ضد اکسایشی حفظ شده، مورد بررسی قرار گرفت.
	یافته‌ها: نتایج مدل‌سازی فرآیند در هر دو روش مؤید آن است که افزایش غلظت مواد دیواره، نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید و مدت زمان اعمال امواج فراصوت موجب افزایش راندمان ریزپوشانی اسانس، محتوی ترکیبات فنولی و فعالیت ضد اکسایشی محصول می‌گردد. اثر متقابل نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید و زمان فراصوت نیز در سطوح متوسط متغیرها موجب بهبود حفظ ترکیبات فنولی کل و ظرفیت ضد اکسایشی ریزپوشینه اسانس آویشن شیرازی گردید. تیمار حاوی ۲۸ درصد غلظت مواد دیواره، ۱۶ درصد نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید، ۱۱۱ ثانیه مدت زمان فراصوت و تیمار ۲۹ درصد غلظت مواد دیواره، ۱۸ درصد نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید، ۸۷ ثانیه مدت زمان فراصوت، به ترتیب به عنوان نقاط بهینه شبکه عصبی مصنوعی و سطح پاسخ پیشنهاد گردید. مقایسه نتایج تجربی نمونه‌های بهینه، برتری

نمونه حاصل از شبکه‌ی عصبی مصنوعی از لحاظ محتوای ترکیبات فنولی کل و راندمان ریزپوشانی را نشان داد ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: نتایج به دست آمده از این تحقیق بیانگر اثربخشی متغیرهای مستقل در فرآیند ریزپوشانی اسانس با نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید به‌عنوان موثرترین متغیر مستقل بود. هم‌چنین شبکه عصبی مصنوعی با توپولوژی بهینه (شبکه پیش‌رونده ۴ لایه با ۲ لایه پنهان و ۱۰ نورون در هر لایه پنهان) در مقایسه با روش سطح پاسخ به‌دلیل توانایی بی‌نظیر در پردازش اطلاعات و مدل‌سازی سیستم‌های پیچیده، در پیش‌بینی ویژگی‌های کیفی اسانس آویشن شیرازی ریزپوشانی شده بسیار کارآمد ارزیابی شد.

استناد: ابراهیمی، م.، عباسی، ه.، نوروزی مبارکه، م. (۱۴۰۰). بهینه‌یابی فرآیند تولید ریزپوشینه اسانس آویشن شیرازی: مقایسه روش سطح پاسخ و شبکه عصبی مصنوعی. *فرآوری و نگهداری مواد غذایی*، ۱۳(۳)، ۹۱-۱۱۴.

DOI: 10.22069/EJFPP.2022.18096.1621



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

گیاهان دارویی نقش بسیار مهمی در زندگی انسان داشته و تولید و مصرف آن‌ها در ایران از سابقه طولانی برخوردار است. کشور ایران به دلیل تنوع آب و هوایی، دارای غنی‌ترین منابع گیاهی از نظر مقدار و نوع در سطح جهان می‌باشد (۱۰). اسانس‌های روغنی، روغن‌های اتری یا فرار نامیده می‌شوند که محصولات طبیعی برگرفته از گیاهان بوده و بر اساس ترکیبات موجود، ویژگی‌های بیولوژیکی متفاوتی را دارا می‌باشند (۸، ۱۲).

آویشن یکی از گیاهان مهم دارویی است که از گذشته دور مورد استفاده قرار گرفته است (۱۰). این گیاه دارویی متعلق به تیره نعناعیان است (۳۴). گیاهان این جنس عمدتاً در پایه چوبی، معطر، همیشه سبز، با دوام و بوته‌ای می‌باشند که معمولاً در خاک‌های آهکی و چمن‌زارها یافت می‌شوند (۱۰). آویشن یک گیاه دارویی با اهمیت اقتصادی در اروپا، آسیا، آفریقای شمالی و آمریکای شمالی محسوب می‌شود. ۱۴ گونه متفاوت آویشن تاکنون در ایران شناسایی شده است که در نواحی مختلف کوهستانی می‌روید (۱۶). آویشن محتوی ۰/۸ تا ۲/۶ درصد (معمولاً ۱ درصد) اسانس است که قسمت اعظم آن را فنول‌ها (۸۰ درصد)، هیدروکربن‌های مونوترپنی و الکل‌ها تشکیل می‌دهند. مهم‌ترین ترکیبات موجود در اسانس آویشن برگ پهن شیرازی تیمول و کارواکرول است که ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی و ضدقارچی ویژه‌ای دارد (۲۶).

پایداری ترکیبات حساس (نظیر مواد مولد عطر و طعم) و اسانس‌ها در شرایط مختلف محیطی، در حین فرآوری، بسته‌بندی، نگهداری و حمل و نقل بسیار پایین بوده و بخش عمده‌ای از ترکیبات مؤثر و سودمند آن‌ها از دست خواهد رفت (۱۸). روش ریزپوشانی به منظور جلوگیری از تجزیه و همچنین

حفاظت ترکیبات فراسودمند، فعال‌زیستی و میکروارگانسیم‌ها در برابر شرایط نامساعد محیطی مانند نور، دما، رطوبت و اکسیژن پیشنهاد و استفاده می‌شود (۳۸). این امر به واسطه حفاظت مواد هسته توسط یک پوشش، از عوامل نامساعد محیطی انجام می‌شود. در نتیجه، ویژگی‌های ماده ریزپوشانی شده در حین نگهداری حفظ شده و مدت ماندگاری آن افزایش می‌یابد (۳۷). نوع و ترکیب ماده دیواره یکی از پارامترهای تأثیرگذار بر ریزپوشانی بوده، که راندمان فرآیند و پایداری میکروکپسول‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در ریزپوشانی ترکیبات غذایی، بیوپلیمرهای مختلفی مانند صمغ‌های طبیعی (صمغ عربی، آلژینات، کاراگینان و...)، انواع مالتودکسترین با دکستروز اکی والان‌های مختلف، انواع پروتئین (پروتئین‌های شیر، آب‌پنیر، ژلاتین و...)، موم‌ها و مخلوط‌های آن‌ها استفاده می‌شود که سطح مصرف هر ترکیب و مقدار غلظت ماده دیواره در امولسیون از عوامل مؤثر بر کیفیت پوشش‌دهی است (۱۸). در این راستا پژوهشگران با تهیه نانوامولسیون اسانس نعناع فلفلی در دیواره مالتودکسترین با دکستروز اکی‌والان برابر با ۱۶ و استفاده از خشک‌کن پاششی، این اسانس را ریزپوشانی کردند. نتایج تحقیق آن‌ها نشان داد که راندمان ریزپوشانی در غلظت ۱۰ درصد ماده جامد نانوامولسیون نسبت به ۳۰ درصد بالاتر ارزیابی گردید (۱). در تحقیقی دیگر، ریزپوشانی روغن جوانه‌گندم با هدف تعیین اثرات نسبت هسته به ماده پوششی، نسبت مواد دیواره و زمان اعمال امواج فراصوت بر توزیع اندازه ذرات امولسیون، کارایی درون‌پوشانی و مورفولوژی سطح کپسول‌ها انجام گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش نسبت کنسانتره پروتئین آب‌پنیر در مواد دیواره، بالاترین کارایی انکپسولاسیون و کوچکترین اندازه ذرات حاصل می‌شود. میکروکپسول‌های آماده شده با مخلوط مالتودکسترین

و پروتئین آب پنیرکنسانتره در نسبت ۳:۱ بهتترین کارایی انکپسولاسیون را داشتند (۴۰). همچنین برخی محققان به منظور ریزپوشانی اسانس روغنی پونه کوهی، سنبل هندی و مرزنگوش از ترکیب پروتئین تغلیظ شده آب پنیر و پروتئین شیر خشک بدون چربی استفاده و نشان دادند ریزپوشانی باعث افزایش پایداری اکسایشی اسانس ها گردید (۹). همچنین راندمان ریزپوشانی از ۵۴/۳ درصد (اسانس روغنی مرزنگوش در دیواره پروتئین تغلیظ شده آب پنیر) تا ۸۰/۲ درصد (اسانس روغنی پونه کوهی در دیواره پروتئین شیر بدون چربی) متغیر بود (۹). پس از ماده دیواره، انتخاب روش خشک کردن عامل مهم دیگری در کیفیت ریزپوشینه‌های تولیدی می‌باشد. خشک کردن انجمادی یکی از سودمندترین و مناسب‌ترین روش‌ها برای ریزپوشانی ترکیبات حساس به حرارت معرفی شده است (۷، ۲۰).

با توسعه و پیشرفت سریع فناوری‌های رایانه‌ای و به وجود آمدن نرم‌افزارهای مرتبط، از روش‌های مدل‌سازی مختلف برای حل بسیاری از مسائل مربوط به سیستم‌ها و پیش‌بینی فرایندها بهره برده می‌شود. امروزه استفاده از روش‌های مختلف مدل‌سازی از جمله شبکه عصبی مصنوعی و روش سطح پاسخ برای شبیه‌سازی و مدل‌سازی فرایندهای مختلف در علوم و صنایع غذایی در حال توسعه و پیشرفت می‌باشد. روش‌شناسی سطح پاسخ، شیوه‌ای است که به برآورد رابطه میان یک یا تعدادی متغیر پاسخ با تعدادی متغیر مستقل از طریق مجموعه‌ای از آزمایش‌های طراحی شده و روش‌های تحلیل رگرسیونی می‌پردازد (می‌ریز و مونتگومری، ۲۰۱۸). در این روش مدل‌سازی از شیوه‌های آماری و ریاضیات کاربردی برای طراحی مدل‌های تجربی استفاده می‌شود. هدف طرح‌های سطح پاسخ،

بهینه‌یابی پاسخ (متغیر خروجی) است که متأثر از چندین متغیر مستقل (متغیرهای ورودی) می‌باشد. شبکه عصبی مصنوعی، یکی از روش‌های محاسباتی است که از طریق فرآیند یادگیری و با شناخت روابط ذاتی بین داده‌ها، نگاشتی بین داده‌های ورودی و خروجی ارائه می‌دهد (۶). مدل‌های شبکه عصبی برخلاف مدل‌های ریاضی، بدون استخراج رابطه بین پارامترها، قادر به تشخیص رابطه بین آن‌ها می‌باشد و این موضوع سبب شده است مدل‌های شبکه عصبی ابزار قدرتمندی در مدل‌سازی محسوب گردند (۲). عملکرد متفاوت شبکه عصبی مصنوعی به واسطه شبیه‌سازی مغز انسان و به‌کارگیری توابع غیرخطی مانند سیگموئیدی، هایپربولیک و... در آن، این روش مدل‌سازی را از سایر انواع متمایز ساخته است. پژوهش‌های متعددی پیرامون کاربرد شبکه‌ی عصبی مصنوعی در مدل‌سازی فرایندهای مختلف غذایی از جمله خشک‌کردن محصولات مختلف مانند برش‌های سیب‌زمینی (۲۲)، گوجه‌فرنگی (۳۱) و سیب (۲۸) صورت گرفته است. علی اکبریان و همکاران (۲۰۱۸) با هدف تعیین شرایط بهینه ریزپوشانی عصاره تفاله زیتون با استفاده از مالتودکسترین (به‌عنوان مواد حامل) با استفاده از روش سطح پاسخ و شبکه‌ی عصبی مصنوعی نشان دادند ریزپوشینه‌های تولیدی با خشک‌کن پاششی می‌توانند فعالیت ضد اکسایشی قابل توجه و پایداری خوب طی نگهداری غذاهای فراسودمند یا داروها نشان دهند (۵). در پژوهشی دیگر مقایسه عملکرد روش سطح پاسخ و شبکه‌ی عصبی مصنوعی در بهینه‌سازی عملکرد استخراج و فعالیت ضد اکسایشی عصاره برگ / زورنونیا با استفاده از میکروویو انجام شد. محققان عملکرد استخراج و قابلیت‌های ضد اکسایشی محصول را به‌عنوان توابعی از چهار پارامتر مستقل زمان تابش، قدرت میکروویو، غلظت اتانول و نسبت خوراک و حلال با استفاده از

پیکریل هیدرازیل^۱ (DPPH) نیز از نمایندگی شرکت مرک (آلمان) و عصاره متانولی از شرکت اطلس شیمی (ایران) خریداری گردید.

استخراج اسانس آویشن شیرازی با کلونجر: اسانس گیاه آویشن شیرازی به روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر به مدت ۳-۴ ساعت تهیه شد. بدین منظور ۷۰ گرم گیاه خشک در بالن ۲۰۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و با افزودن ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر عمل اسانس‌گیری انجام شد. اسانس به دست آمده با سولفات سدیم بدون آب، آب‌گیری و درون ظروف تیره رنگ و غیر قابل نفوذ و دور از نور در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۲۹).

شناسایی ترکیبات اسانس آویشن شیرازی با کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنج جرمی: برای اندازه‌گیری مواد مؤثره گیاهی در این پژوهش از دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنج جرمی (اجیلنت، آمریکا) شامل ردیاب جرمی اجیلنت ۵۹۷۵ با منبع یونیزاسیون الکترونی متصل به دستگاه (ستون HP-5MS با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر) استفاده شد. شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده با بررسی طیف‌های جرمی بدست آمده و مقایسه آن‌ها با طیف‌های جرمی استاندارد صورت گرفت (۳۹).

تهیه امولسیون اسانس آویشن در محلول کازئینات سدیم - نشاسته اصلاح شده ذرت مومی و مالتودکسترین؛

آماده‌سازی محلول کازئینات سدیم- نشاسته اصلاح شده ذرت مومی و مالتودکسترین: محلول کازئینات سدیم، نشاسته اصلاح شده و مالتودکسترین (۱:۱)، وزنی/ وزنی) با نسبت‌های مختلف مطابق جدول (۱)

دو روش سطح پاسخ و شبکه عصبی مصنوعی مدل‌سازی و بهینه‌یابی کردند. این محققان گزارش نمودند که مدل شبکه عصبی مصنوعی نسبت به مدل سطح پاسخ دارای پتانسیل پیش‌بینی بالاتری است (۴). در این پژوهش به منظور بررسی تأثیر مواد دیواره و ویژگی‌های امولسیون تولیدی بر مهم‌ترین ویژگی‌های کیفی ریزپوشینه حاوی اسانس آویشن، نسبت‌های مختلف کازئینات سدیم به‌عنوان پایه پروتئین و ترکیب نشاسته اصلاح شده و مالتودکسترین به‌عنوان پایه پلی‌ساکاریدی استفاده شد. سطح انرژی وارده بر امولسیون توسط زمان‌های مختلف فراصوت اعمال شده به آن تنظیم گردید. در راستای ارزیابی نحوه تأثیر متغیرهای مستقل در این پژوهش دو روش مدل‌سازی سطح پاسخ و شبکه عصبی به کار گرفته شد و نتایج مدل‌سازی و پیش‌بینی این دو مدل مقایسه گردید.

مواد و روش‌ها

مواد خام مصرفی: برگ‌های آویشن شیرازی (*Zataria Multiflora*) از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی اصفهان خریداری گردید و جهت اسانس‌گیری به دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) انتقال داده شد. همچنین محلول کازئینات سدیم (۹۰ درصد پروتئین و ۰/۰۱ درصد کلسیم) از شرکت کازئینات (ایران)، نشاسته اصلاح شده ذرت مومی دارای اتصالات عرضی (۵ درصد رطوبت و حلالیت بیش از ۹۰ درصد در آب) از شرکت پارس خوشه‌پرداز شیراز (ایران) و مالتودکسترین (دکستروز اکی‌والان ۲۰-۱۵ درصد) از شرکت دکستروز (ایران) تهیه شد. سولفات سدیم بدون آب، توئین ۸۰، معرف فولین- سیوکالتو، کربنات سدیم، گالیک اسید، هگزان و ۲، ۲-دی فنیل-۱-

1 . 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

تبخیرکننده دوار (ایکو- RV D ۱۰، آلمان) تبخیر شد. سپس روغن جمع‌آوری و تا رسیدن به وزن ثابت درون آن قرار داده شد. جهت استخراج اسانس آزاد سطحی، ۱۵ میلی‌لیتر هگزان به مقدار مشخصی از پودر افزوده و به مدت ۲ دقیقه در دمای محیط بدون هر گونه هم‌زدنی قرار داده شد تا روغن آن استخراج گردد. محلول از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شد و باقی‌مانده روی کاغذ صافی یک مرتبه با هگزان شست‌وشو داده شد. در نهایت، حلال آن تبخیر و روغن باقی‌مانده در ظرف پس از رسیدن به وزن ثابت توزین گردید. راندمان ریزپوشانی با استفاده از رابطه ۱ بر حسب درصد محاسبه شد (۱۹) که در این فرمول MEE راندمان ریزپوشانی، TE روغن کل و SE روغن سطحی است.

$$MEE = \frac{TE - SE}{TE} \times 100 \quad \text{رابطه ۱.}$$

اندازه‌گیری فنول کل: محتوی فنول کل موجود در اسانس ریزپوشانی شده از طریق رنگ‌سنجی به روش فولین سیوکالتیو اندازه‌گیری شد. برای این منظور، ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره متانولی (۰/۱ گرم اسانس در ۲۰ میلی‌لیتر متانول) هر نمونه با ۵ میلی‌لیتر از معرف فولین-سیوکالتو (۱۰ برابر رقیق شده با آب مقطر) و ۴ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۱ مولار مخلوط گردید. جذب نوری محلول‌ها پس از نگهداری به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (یونیکو- S2100، آمریکا) در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. مقدار فنول کل موجود در نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید و بر اساس معادله $Y = 54.22 X - 2.55$ ($R^2 = 0.984$) محاسبه گردید (۳۵).

اندازه‌گیری درصد بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH: درصد مهار رادیکال‌های آزاد به‌عنوان معیاری

در آب دیونیزه (pH=7) تهیه شد. عملیات هم‌زدن به مدت ۱ ساعت، در دمای اتاق و به کمک همزن مغناطیسی (آلفا-۵۰۰D، ایران) انجام گرفت. سپس محلول‌های تهیه شده برای جذب حداکثر آب به مدت ۲۴ ساعت در دمای یخچال نگهداری شدند (۱۵).

آماده‌سازی امولسیون حاوی اسانس آویشن شیرازی و محلول کازئینات-نشاسته اصلاح شده و مالتودکسترین: اسانس آویشن شیرازی به نسبت ثابت ۵ درصد همراه با توئین ۸۰ به‌عنوان امولسیفایر در غلظت ۰/۵ درصد، به محلول‌ها اضافه گردید. عملیات هم‌زدن و هم‌گن‌سازی به کمک همزن مغناطیسی (آلفا-۵۰۰D، ایران) به مدت ۱۵ دقیقه انجام گرفت. کاهش ابعاد ذرات امولسیون و پایداری آن با کمک دستگاه فراصوت (UP-200H، آلمان) و اعمال امواج دارای فرکانس ۲۰ کیلوهرتز به‌طور مداوم و در طی زمان ۱۲۰-۳۰ ثانیه انجام شد. دمای محلول در طول این مدت از طریق سیرکولاسیون آب در جداره مخزن در ۲۰ درجه سانتی‌گراد حفظ گردید (۱۵).

خشک کردن انجمادی امولسیون‌ها: امولسیون‌های تهیه شده ابتدا به مدت ۱۹ ساعت در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شد و پس از آن در خشک‌کن انجمادی (دنا-۵۰۰۵، ایران) در دمای ۴۰- درجه سانتی‌گراد و فشار ۰/۷ میلی‌بار به مدت ۲۴ ساعت خشک گردیدند. پودرهای حاصل تا پایان آزمون‌ها، در کیسه‌های پلاستیکی کاملاً درب بسته و در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (۲۵).

راندمان ریزپوشانی اسانس: ۵ گرم پودر با مقدار کمی آب مقطر در دمای محیط مخلوط و اسانس طی سه مرحله با حلال هگزان (۵۰ میلی‌لیتر) و با استفاده از شیکر (لاب ترون-01222، ایران) استخراج گردید. بعد از فیلتراسیون با کاغذ صافی، حلال توسط

وابسته در مدل رگرسیون با متغیرهای مستقل پلات سطح ۱ آن‌ها با نرم‌افزار ترسیم شد. به‌منظور ارزیابی صحت مدل‌های برازش داده شده، آزمون عدم برازش انجام و مقادیر ضریب تغییرات، مقادیر ضریب تبیین و ضریب تبیین تعدیل شده تعیین شد. تعیین کارایی بهترین فرمول ارائه شده توسط مدل نیز از طریق مقایسه نتایج آزمایشگاه با نتایج پیشگویی شده توسط مدل مورد بررسی قرار گرفت.

طراحی آزمایش و تجزیه و تحلیل داده‌ها

(مدل‌سازی شبکه عصبی مصنوعی): به‌منظور پیش‌بینی ویژگی‌های کیفی اسانس ریزپوشانی شده، از شبکه عصبی پیش‌رونده با تابع سیگموئیدی استفاده شد. لایه ورودی شبکه متغیرهای مستقل شامل غلظت دیواره، نسبت غلظت پروتئین به پلی‌ساکارید و زمان اعمال شده امواج فراصوت در تولید امولسیون و لایه خروجی پاسخ‌های مورد نظر شامل محتوی فنول کل و فعالیت ضداکسایشی اسانس ریزپوشانی شده و راندمان ریزپوشانی قرار گرفتند. برای توسعه مدل‌ها و فرآیند یادگیری، ابتدا داده‌ها به دو بخش، جهت آموزش و اعتبارسنجی شبکه (۸۰ درصد داده‌ها) و تست آن (۲۰ درصد داده‌ها) تقسیم‌بندی شدند. مرحله آموزش شبکه تا دستیابی به ۱۰۰۰۰۰۰ تکرار جهت بهبود همگرایی و دستیابی به کمترین خطا در مرحله اعتبارسنجی انجام گرفت. در این پژوهش، از نرم‌افزار تخصصی شبکه‌های عصبی (نرو پاور^۲) نسخه ۲/۵ جهت مدل‌سازی و پیش‌بینی داده‌های خروجی استفاده گردید. ویژگی‌های نمونه‌های حاصل از مدل‌سازی با شبکه‌ی عصبی مصنوعی و سطح پاسخ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با یکدیگر مقایسه شدند.

از فعالیت ضداکسایشی نمونه‌های استخراج شده با روش رادیکال آزاد DPPH تعیین گردید. بدین منظور، ۱ میلی‌لیتر از عصاره متانولی نمونه به ۳ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی‌مولار DPPH افزوده شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند و پس از آن میزان جذب نوری محلول‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (یونیکو-۲۱۰۰-S، آمریکا) در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط هر نمونه با استفاده از رابطه ۲ محاسبه گردید (۳۰) که در این فرمول Ac جذب شاهد (محلول متانولی ۰/۱ mM DPPH) و As جذب نمونه است. رابطه ۲.

درصد بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH

$$= \frac{Ac - As}{Ac} \times 100$$

طراحی آزمایش و تجزیه و تحلیل داده‌ها

(مدل‌سازی با روش سطح پاسخ): در این پژوهش، از طرح مرکب مرکزی با سه متغیر مستقل شامل غلظت ماده دیواره (۱۰، ۱۳/۳۳، ۲۰، ۲۶/۶۶ و ۳۰ درصد)، نسبت غلظت پروتئین به نشاسته (۰، ۶/۶۶، ۲۰، ۳۳/۳۳ و ۴۰ درصد) و مدت زمان اعمال امواج فراصوت (۳۰، ۴۵، ۷۵، ۱۰۵ و ۱۲۰ ثانیه) و $\alpha=1/5$ جهت مدل‌سازی تغییرات ویژگی‌های کیفی ریزپوشینه‌ها استفاده شد. برای طراحی آزمایش و آنالیز نتایج از نرم‌افزار Design-Expert (نسخه ۱۱/۰/۳/۰) استفاده گردید. ترکیب متغیرهای مستقل در تیمارهای مختلف در جدول ۱ نمایش داده شده است. برای نشان دادن رابطه هر یک از متغیرهای

جدول ۱- محدوده و مقادیر آزمایشی متغیرهای مستقل در طرح مرکب مرکزی جهت مدل‌سازی تغییرات ویژگی‌های کیفی ریزپوشینه‌ها

Table 1- The range and experimental values of independent variables in the central composite design to model the quality of microcapsules.

شماره تیمار	غلظت دیواره (درصد)	نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید	زمان اعمال فراصوت (ثانیه)
Treatment number	Wall concentration (%)	Ratio of protein to polysaccharide	Ultrasonic time (s)
1	13.33	6.66	105
2	20	20	75
3	20	20	30
4	20	20	75
5	20	40	75
6	26.66	6.66	45
7	13.33	33.3333	105
8	30	20	75
9	20	20	75
10	20	20	120
11	20	20	75
12	13.33	33.33	45
13	26.66	33.33	105
14	13.33	6.66	45
15	26.66	33.33	45
16	10	20	75
17	26.66	6.66	105
18	20	20	75
19	20	20	75
20	20	0	75

نتایج و بحث

شامل دو ترکیب کارواکرول و تیمول بود که مجموعاً ۶۹/۶۰۵ درصد از مجموع ترکیبات اسانس را به خود اختصاص داده است (جدول ۲). تیمول و کارواکرول در گروه ترکیبات فنولی دسته‌بندی می‌شوند و قدرت ضد اکسایشی بالایی دارند. ترکیبات شناسایی شده اسانس گیاه آویشن در این پژوهش با درصد‌های متفاوت در مطالعات دیگر گزارش شده است (۳۲).

ترکیبات موجود در اسانس: اسانس حاصل از گیاه آویشن شیرازی با رنگ کرم متمایل به زرد و بازده ۲/۵ درصد بر حسب وزن خشک از اندام هوایی گیاه استخراج شد. اجزای اسانس به‌وسیله گاز کروماتوگرافی شناسایی و نتایج آن در جدول ۲ بیان شده است. بیشترین اجزای تشکیل دهنده اسانس

جدول ۲- ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس روغنی آویشن شیرازی

Table 2- Chemical composition of thyme essential oil

زمان بازداری	ترکیبات	مقدار (درصد)
Retention time	Compounds	Value (%)
11.22	(1R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene	3.22
13.25	p-Cymene	4.56
13.73	1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	2.64
14.49	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-	5.37
16.48	gamma.-Terpinene	4.26
18.12	Phenol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-	18.32
18.28	Carvacrol	51.28
19.32	Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, (E)-(1R,9S)-(-)-	3.03
21.64	Preg-4-en-3-one, 17.alpha.-hydroxy-17.beta.-cyano-	1.71
36.07	Propionamide, 2,2-dimethyl-N-(5,6,7,9-tetrahydro-9-oxo-1,2,3,10-tetramethoxybenzo(a)heptalen-7-yl)-, (S)-	3.78

است (۳۷). مطابق با جدول ۳، مدل مناسب برای پیشگویی کارایی ریزپوشانی با متغیرهای مورد بررسی (غلظت مواد دیواره، نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید و مدت زمان اعمال فراصوت) مدل درجه دوم بود. نتایج جدول نشان داد که مدل‌ها معنی‌دار بودند و اثر تعدادی از منابع تغییرات بر کارایی ریزپوشانی معنی‌دار ارزیابی شد ($P < 0.05$).

مدل‌سازی تأثیر متغیرهای مستقل بر ویژگی‌های کیفی اسانس آویشن شیرازی ریزپوشانی شده با استفاده از روش سطح پاسخ-کارایی ریزپوشانی: کارایی ریزپوشانی یکی از شاخص‌های مهم در تعیین پایداری ترکیبات کپسوله‌شده می‌باشد، زیرا نشان دهنده میزان روغن سطحی بر سطح ذرات پودر و توانایی مواد دیواره در به دام انداختن ترکیبات فعال

جدول ۳- تجزیه واریانس متغیرهای مستقل بر فاکتورهای کیفی اسانس آویشن شیرازی ریزپوشانی شده

Table 3- Analysis of variance of independent variables on the qualitative factors of microencapsulated thyme essential oil

طرفیت ضداکسایشی Antioxidant capacity	ترکیبات فنولی کل Total phenolic compounds	کارایی ریزپوشانی Microencapsulation efficiency	متغیرهای مستقل Independent variables
F-value	F-value	F-value	منبع تغییرات Source of variables
< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	مدل Model
0.0092	< 0.0001	0.0007	غلظت دیواره (A) Wall concentration (A)
0.0017	< 0.0001	0.0001	نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید (B) Ratio of protein to polysaccharide (B)
< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	زمان فراصوت (C) Ultrasonic time (C)
0.0134	-	< 0.0001	AB
0.0040	0.0222	0.0040	BC
0.0231	< 0.0001	0.0277	A ²
< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	B ²
< 0.0001	< 0.0001	-	C ²
0.1466	0.3077	0.3468	عدم برازش Lack of fit
0.97	0.98	0.95	ضریب تبیین R- Squared
0.95	0.97	0.93	ضریب تبیین تعدیل شده Adj R- Squared
0.88	0.94	0.84	ضریب تبیین پیش‌بینی شده Pre R- Squared
2.60	2.69	1.14	ضریب تغییرات.C.V.

معنی‌دار
Significant

غیر معنی‌دار
Not significant

گرفت که افزایش غلظت مواد دیواره، نسبت پروتئین به پلی ساکارید و مدت زمان اعمال فراصوت موجب افزایش ظرفیت ضد اکسایشی اسانس ریزپوشینه گردید.

رابطه ۴.

$$+ (0.074B) + (0.066A) - 0.099 = \text{ظرفیت ضد اکسایشی} \\ - (0.02A^2) - (0.01BC) - (0.01AB) + (0.092C) - \\ - (0.01C^2) - (0.02B^2)$$

اثر متقابل غلظت مواد دیواره و نسبت پروتئین به پلی ساکارید تا سطوح متوسط هر دو متغیر موجب بهبود ظرفیت ضد اکسایشی اسانس آویشن شیرازی ریزپوشانی شده گردید (شکل ۱-ج). به علاوه، اثر متقابل غلظت مواد دیواره و زمان فراصوت تا سطوح متوسط دو متغیر باعث حفظ بهتر ظرفیت ضد اکسایشی اسانس آویشن شیرازی ریزپوشانی شده گردید. هر چند اثر متقابل این دو فاکتور ضعیف تر از اثر اصلی هر پارامتر ارزیابی شد (شکل ۱-د).

مدل سازی تأثیر متغیرهای مستقل بر ویژگی های کیفی اسانس آویشن شیرازی ریزپوشانی شده با استفاده از روش سطح پاسخ- ترکیبات فنولی کل:

مطابق با جدول ۳، مدل مناسب برای پیشگویی تغییرات فنول کل در اثر تغییرات متغیرهای مورد بررسی (غلظت مواد دیواره، نسبت پروتئین به پلی ساکارید و مدت زمان اعمال فراصوت) مدل درجه دوم بود. نتایج جدول نشان داد که مدل ها معنی دار بودند و اثر تعدادی از منابع تغییرات بر تغییرات فنول کل معنی دار ارزیابی شد ($P < 0.05$). مطابق با رابطه ۵ که در آن A غلظت مواد دیواره (درصد)، B نسبت پروتئین به پلی ساکارید (درصد) و C زمان اعمال فراصوت (ثانیه) می باشد، ارتباط میان متغیرهای مستقل و پارامترهای اندازه گیری نشان داده شده است. با توجه به ضریب مثبت اثرات مستقل متغیرها،

رابطه ۳ که در آن A غلظت مواد دیواره (درصد)، B نسبت پروتئین به پلی ساکارید (درصد) و C زمان اعمال فراصوت (ثانیه) می باشد، ارتباط میان متغیرهای مستقل و پارامتر اندازه گیری شده نشان داده شده است. با توجه به ضریب مثبت اثرات مستقل متغیرها، می توان نتیجه گرفت که افزایش غلظت مواد دیواره، نسبت پروتئین به پلی ساکارید و مدت زمان فراصوت موجب افزایش کارایی ریزپوشانی گردید.

رابطه ۳.

$$+ (0.093B) + (0.063A) + 0.175 = \text{کارایی ریزپوشانی} \\ - (0.017C) - (0.03AB) - (0.01AC) + (0.01A^2) - \\ - (0.01B^2)$$

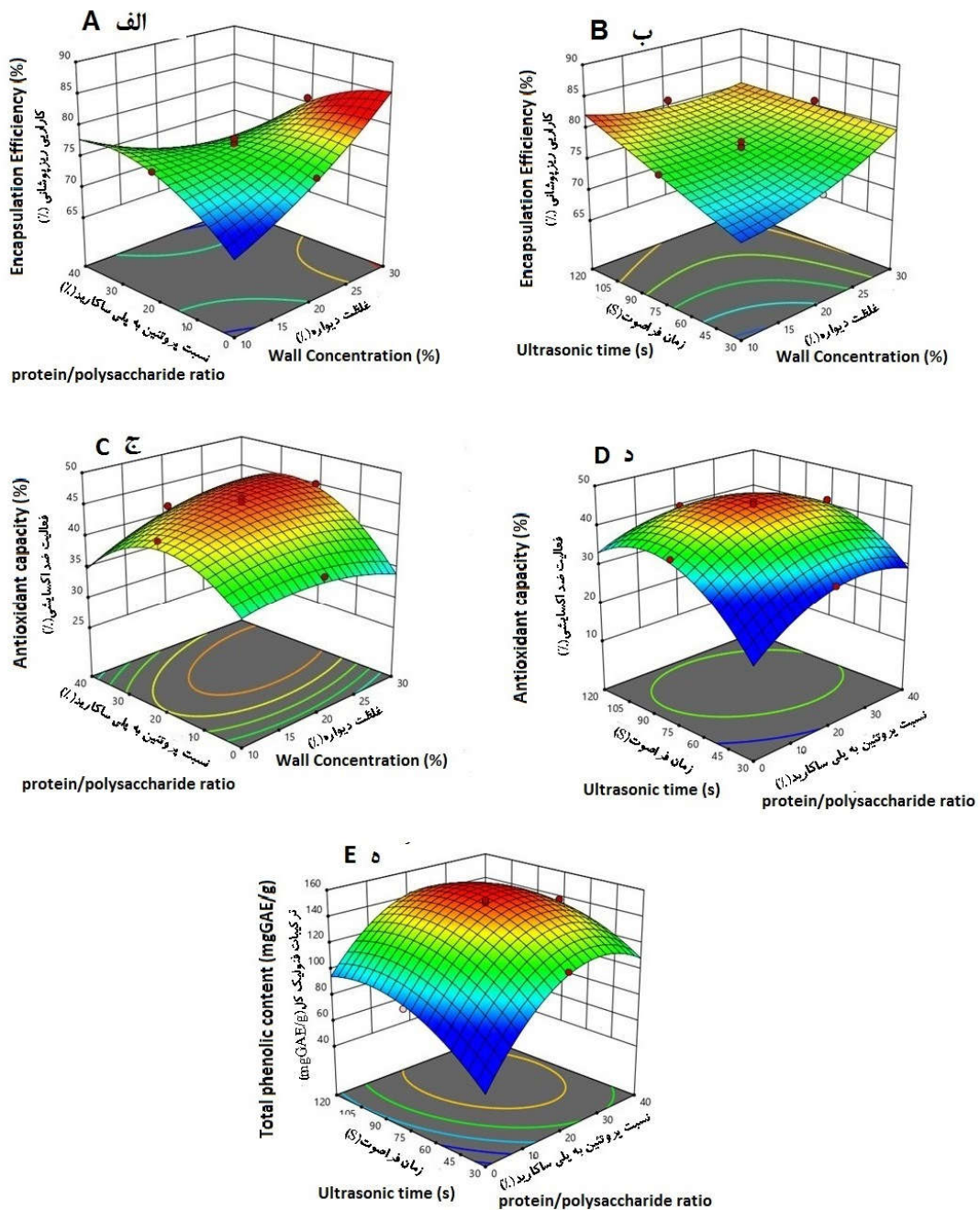
اثر متقابل غلظت مواد دیواره و نسبت پروتئین به پلی ساکارید تا سطوح متوسط دو متغیر منجر به افزایش کارایی ریزپوشانی شد و در سطوح بالاتر آن ها روند کاهشی مشاهده گردید (شکل ۱-الف). تأثیر متقابل دو متغیر غلظت دیواره و مدت زمان اعمال فراصوت نیز افزایش دهنده ولی کم تأثیرتر از اثرات اصلی متغیرهای مستقل بر بهبود کارایی ریزپوشانی ارزیابی شد (شکل ۱-ب).

مدل سازی تأثیر متغیرهای مستقل بر ویژگی های کیفی اسانس آویشن شیرازی ریزپوشانی شده با استفاده از روش سطح پاسخ- ظرفیت ضد اکسایشی:

مطابق با جدول ۳، مدل مناسب برای پیشگویی تغییرات ظرفیت ضد اکسایشی در اثر متغیرهای مورد بررسی (غلظت مواد دیواره، نسبت پروتئین به پلی ساکارید و مدت زمان اعمال فراصوت) مدل درجه دوم بود. نتایج جدول نشان داد که مدل ها معنی دار بودند و اثر تعدادی از منابع تغییرات بر تغییرات ظرفیت ضد اکسایشی معنی دار بود ($P < 0.05$). مطابق با رابطه ۴ که بیانگر ارتباط میان متغیرهای مستقل و پارامترهای اندازه گیری شده می باشد و با توجه به ضریب مثبت اثرات مستقل متغیرها، می توان نتیجه

فراصوت تا سطوح متوسط هر دو متغیر موجب بهبود حفظ ترکیبات فنولی اسانس آویشن شیرازی ریزپوشانی شده گردید (شکل ۱-ه).

می‌توان نتیجه گرفت که افزایش غلظت مواد دیواره، نسبت پروتئین به پلی ساکارید و مدت زمان فراصوت موجب افزایش محتوای فنولی کل گردید. اثر متقابل نسبت پروتئین به پلی ساکارید به مدت زمان اعمال



شکل ۱- سطح پاسخ اثرات متقابل متغیرهای مستقل بر تغییرات بازده ریزپوشانی (الف، ب)، فعالیت ضداکسایشی (ج، د) و ترکیبات فنولی کل (ه) اسانس آویشن شیرازی ریزپوشانی شده

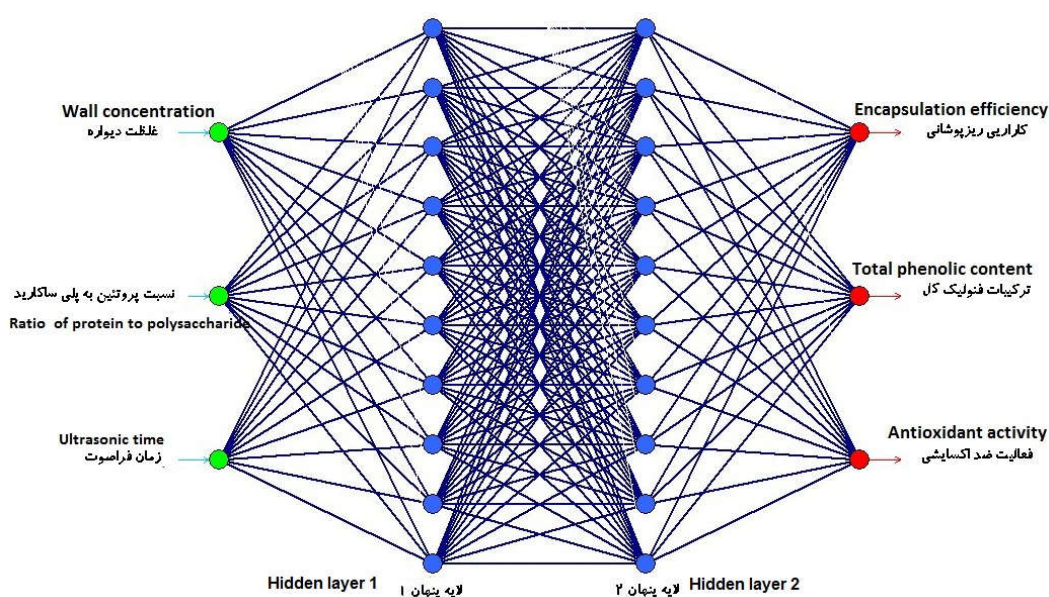
Figure 1- Response surface interaction effects of independent variables on encapsulation efficiency (A, B), antioxidant capacity (C, D), and total phenolic content (E) of microencapsulated thyme essential oil

عملکرد شبکه مورد بررسی قرار گرفت. پس از اختلاط تصادفی داده‌ها در ستون، ۸۰ درصد داده‌ها برای فاز آموزش و اعتبارسنجی و ۲۰ درصد برای فاز تست در نظر گرفته شد. شبکه مورد نظر در هر مرحله با تعداد نورون‌های متغیر آموزش داده شد و بهترین شبکه که دارای ۱۰ نورون در هر یک لایه‌های پنهان و کمترین خطا در مرحله اعتبارسنجی بود، برای فاز تست مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۲).

رابطه ۵.

$$= \text{محتوای فنولی کل} + (5/10B) + (7/4VA) - 83/07 + (0/09B^2) - (0/16A^2) - (0/01BC) - (1/92C) - (0/01C^2)$$

مدل‌سازی ویژگی‌های کیفی اسانس آویشن شیرازی ریزپوشانی شده با استفاده از شبکه عصبی مصنوعی: در ابتدا یک شبکه‌ی چهار لایه (با دو لایه پنهان) طراحی و تأثیر تعداد نورون‌های لایه پنهان بر

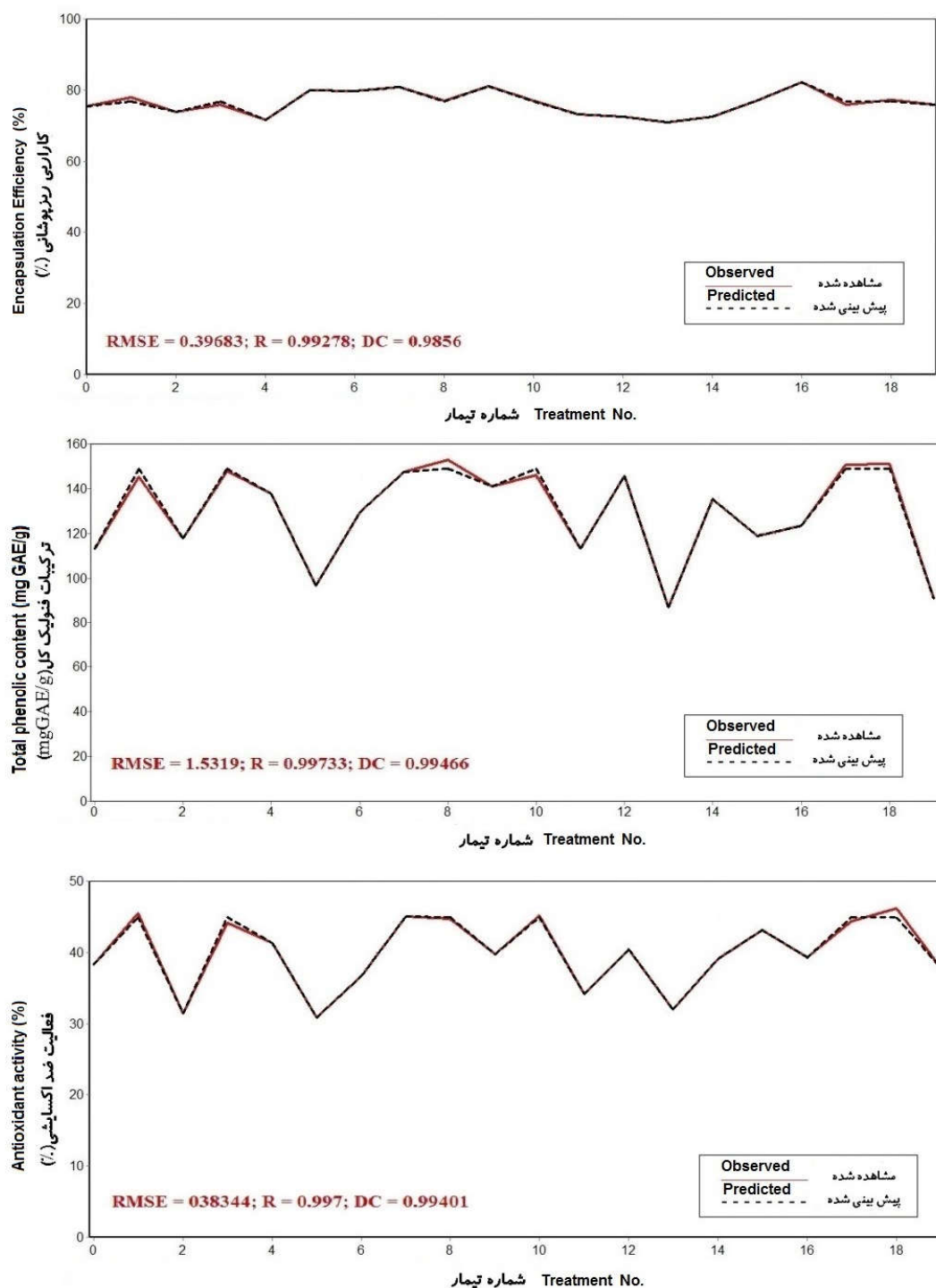


شکل ۲- نمایی از شبکه عصبی به منظور پیش‌بینی ویژگی‌های کیفی اسانس آویشن ریزپوشانی شده

Figure 2- schematical view of neural networks for the prediction of qualitative properties of microencapsulated thyme essential oil

پیش‌بینی شده متغیرهای وابسته پس از آموزش با شبکه عصبی مصنوعی نشان داده شده است.

پس از اتمام مراحل آموزش شبکه و ثابت شدن تمام فاکتورهای آن، پیش‌بینی داده‌های مرحله تست صورت گرفت. در شکل ۳ مقایسه‌ی نتایج واقعی و



شکل ۳- مقایسه نتایج واقعی و پیش‌بینی شده متغیرهای وابسته با استفاده از شبکه عصبی آموزش داده شده

Figure 3- A comparison between actual and predicted results of dependent variables using trained neural network

نتایج ارزیابی عملکرد شبکه‌ها در پیش‌بینی داده‌های مرحله تست در جدول ۴ آورده شده است.

جدول ۴- داده‌های تجربی و پیش‌بینی شده شبکه عصبی مصنوعی در فاز تست

Table 4- Experimented data and predicted output from artificial neural network for testing test

ضریب تعیین داده‌های تجربی و پیش‌بینی شده	درصد خطا percentage error				مقدار پیش‌بینی شده توسط شبکه عصبی مصنوعی				مقدار تجربی				آزمون Test				
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4		1			
Coefficient of determination among experimental and predicted data	0.85				1.78	3.08	2.23	3.54	79.45	75.79	70.55	69.39	78.06	73.53	72.16	71.95	کارایی ریزپوشانی (درصد)
	0.87				73.9	42.69	0.57	7.51	79.55	47.49	144.30	109.69	88.13	82.87	143.48	102.02	فول کل (میلی گرم گالیک اسید بر گرم) Total phenolic content (mg GAE /g)
	0.74				11.36	24.84	1.95	11.62	27.70	19.46	38.72	28.27	24.88	25.90	39.50	31.98	ظرفیت ضد اکسایشی (درصد) Antioxidant capacity (%)

تیمار ۱: ۱۰ درصد غلظت مواد دیواره، ۰ درصد نسبت پروتئین به پلی ساکارید، ۱۲۰ S زمان فراصوت

Treatment 1: 10% concentration of wall material, 0% protein / polysaccharide ratio, 120 S ultrasonic time

تیمار ۲: ۳۰ درصد غلظت مواد دیواره، ۴۰ درصد نسبت پروتئین به پلی ساکارید، ۱۲۰ S زمان فراصوت

Treatment 2: 30% concentration of wall material, 40% protein / polysaccharide ratio, 120 S ultrasonic time

تیمار ۳: ۱۰ درصد غلظت مواد دیواره، ۴۰ درصد نسبت پروتئین به پلی ساکارید، ۳۰ S زمان فراصوت

Treatment 3: 10% concentration of wall material, 40% protein / polysaccharide ratio, 30 S ultrasonic time

تیمار ۴: ۳۰ درصد غلظت مواد دیواره، ۰ درصد نسبت پروتئین به پلی ساکارید، ۳۰ S زمان فراصوت

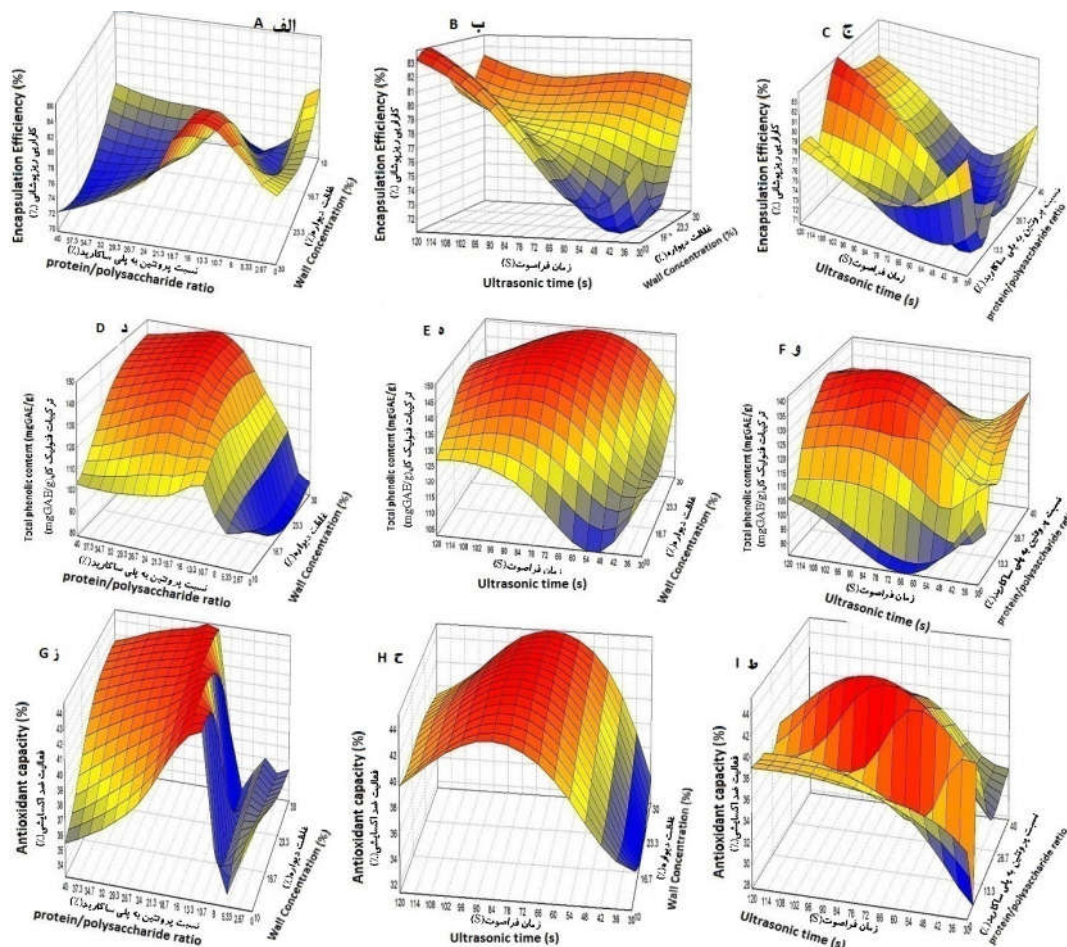
Treatment 4: 30% concentration of wall material, 0% protein / polysaccharide ratio, 30 S ultrasonic time

می‌تواند در بهبود ریزپوشانی این ترکیب مؤثر باشد. بیوپلیمرهایی مانند کازئینات سدیم به علت دارا بودن ویژگی‌های امولسیفایری مناسب و رفتار شبه‌پلاستیک و توانایی تشکیل فیلم در اطراف قطرات روغن، مانع از تجمع ذرات یا قطرات روغن شده و پایداری امولسیون و کارایی ریزپوشانی را افزایش می‌دهند (۲۱). به‌علاوه ویسکوزیته امولسیون یکی از عوامل مؤثر بر راندمان ریزپوشانی می‌باشد. افزایش ویسکوزیته موجب کاهش حرکت مواد فرار به سطح ریزپوشینه‌های در حال خشک شدن و به تبع آن کاهش احتمال از دست رفتن مواد فرار می‌گردد (۱۳). بازده و راندمان ریزپوشانی با کوچک‌تر شدن اندازه ذرات امولسیون، افزایش می‌یابد. امولسیون‌هایی که اندازه ذرات بزرگ‌تری دارند زمانی که تحت فرآیند خشک کردن قرار می‌گیرند، شکسته شده و مقداری از مواد هسته موجود در آن‌ها آزاد می‌شود و بدین ترتیب بازده ریزپوشانی کاهش می‌یابد. هرچند ذرات بزرگ‌تر سطح مخصوص کوچک‌تری در مقایسه با ذرات کوچک‌تر امولسیون دارند و طی خشک کردن کمتر در معرض هوای گرم قرار می‌گیرند، ولی به‌دلیل طولانی‌تر بودن زمان تشکیل پوسته در ذرات بزرگ‌تر نسبت به ذرات کوچک‌تر، میزان رها سازی و از دست رفتن ترکیبات فرار طی خشک کردن در ذرات بزرگ‌تر بیشتر است و بدین ترتیب، بازده ریزپوشانی آن‌ها کمتر می‌باشد (۱۷). از این‌رو، در این پژوهش افزایش راندمان ریزپوشانی اسانس آویشن شیرازی با افزایش زمان همگن سازی امولسیون (مدت زمان فراصوت) مشاهده گردید.

با انجام آزمون حساسیت بر مدل به‌دست آمده مشخص شد که از میان سه فاکتور ورودی، تغییرات نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید (۴۸/۴۴ درصد) بیشترین تأثیر را در پیش‌بینی ویژگی‌های کیفی اسانس آویشن شیرازی ریزپوشانی شده داشت و تغییرات غلظت دیواره (۲۸/۴۹ درصد) و مدت زمان فراصوت (۲۳/۰۷ ثانیه) تأثیر کمتری بر تغییرات فاکتورهای خروجی دارد.

بررسی اثرات متقابل متغیرهای مستقل بر ویژگی‌های کیفی اسانس آویشن ریزپوشانی شده با استفاده از مدل حاصل از شبکه عصبی مصنوعی - کارایی ریزپوشانی: نتایج شبکه مدل‌سازی شده نشان می‌دهد که با افزایش غلظت مواد دیواره، نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید و زمان اعمال فراصوت، کارایی ریزپوشانی افزایش می‌یابد (شکل ۴-الف، ۴-ب و ۴-ج). با افزایش غلظت مالتودکسترین، دمای انتقال شیشه‌ای کل مخلوط افزایش می‌یابد. به‌علاوه، با ایجاد یک فیلم نازک در اطراف ذرات تولید شده، امکان چسبیدن ذرات به دیواره خشک‌کن کاهش و در نتیجه کارایی ریزپوشانی در این شرایط افزایش می‌یابد (۲۳). بررسی تأثیر صمغ عربی و مالتودکسترین به‌عنوان مواد دیواره بر ریزپوشانی ترکیبات فنولی پوست پیاز نیز نشان داد که با افزایش سهم مالتودکسترین در مخلوط مالتودکسترین - صمغ عربی کارایی ریزپوشانی افزایش می‌یابد (۳).

افزایش نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید منتج به افزایش کارایی ریزپوشانی می‌گردد (شکل ۴-ج). این مشاهده می‌تواند به دلیل فعالیت سطحی بسیار کم مالتودکسترین و کارایی اندک آن در ریزپوشانی باشد. در این صورت اختلاط مالتودکسترین با مواد دیگری که فعالیت سطحی بالاتری دارند مانند پروتئین‌ها



شکل ۴- اثر متقابل متغیرهای مستقل بر تغییرات بازده ریزپوشانی (الف، ب، ج)، ترکیبات فنولی کل (د، ه، و) و فعالیت ضداکسایشی (ز، ح، ط) اسانس آویشن شیرازی ریزپوشانی شده مطابق مدل حاصل از شبکه عصبی

Figure 4- Interaction effect of independent variables on encapsulation efficiency (A, B, C), total phenolic content (D, E, F), and antioxidant capacity (G, H, I) of microencapsulated thyme essential oil according to ANN mode

می‌توان به تئوری انتشار انتخابی نسبت داد. بر این اساس، با کاهش غلظت آب در سطح قطره، ضریب انتشار ترکیبات فرار چندین برابر بیشتر از آب کاهش یافته و بدین ترتیب در طی فرآیند خشک کردن، آب با سرعت معینی به‌طور مداوم از میان پوسته تشکیل شده خارج شده و فنول‌ها و ترکیبات فرار در فاز روغنی به‌علت محبوس شدن در توده‌ای از مواد جامد (مواد دیواره) با سرعتی بسیار کمتر به خارج از پوشینه انتشار پیدا می‌کنند. دیواره پوشینه به‌عنوان یک غشاء نیمه تراوا سبب کاهش و یا حتی مانع از خروج فنول-ها و ترکیبات فرار از درون ریز پوشینه‌ها می‌شود (۳۳).

بررسی اثرات متقابل متغیرهای مستقل بر ویژگی‌های کیفی اسانس آویشن ریزپوشانی شده با استفاده از مدل حاصل از شبکه عصبی مصنوعی- فنول کل: افزایش غلظت مواد دیواره، نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید و زمان فراصوت باعث حفظ بهتر محتوی فنولی کل نمونه شد. همچنین، روند افزایشی محتوی فنولی کل در مقادیر بالاتر مواد دیواره، نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید و زمان فراصوت مشهود بود (شکل‌های ۴-د، ۴-ه و ۴-و).
حفظ و ابقای بهتر ترکیبات فنولی اسانس آویشن ریزپوشانی شده در اثر افزایش غلظت مواد دیواره را

مثبت میان ترکیبات فنولی و فعالیت ضد اکسایشی (۲۴)، افزایش ظرفیت ضد اکسایشی اسانس آویشن ریزپوشانی شده می‌تواند به دلیل تأثیر مثبت غلظت مواد دیواره، نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید و زمان فراصوت بر حفظ ترکیبات فنولی ریزپوشینه اسانس باشد. به علاوه از آنجایی که افزایش غلظت مواد دیواره و نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید موجب بهبود کارایی ریزپوشانی اسانس می‌گردد، انتظار می‌رود که افزایش کمیت این متغیرها باعث حفظ بهتر ترکیبات فنولی و ظرفیت ضد اکسایشی ریزپوشینه اسانس آویشن شیرازی شده باشد. کاهش سریع مدت زمان مورد نیاز برای تشکیل پوسته سطحی نفوذ ناپذیر در طول فرآیند خشک‌کردن امکان محافظت ترکیبات حساس به اکسیداسیون را فراهم می‌آورد (۳۶).

بهینه‌یابی و اعتبارسنجی مدل: با توجه به مدل و سطوح در نظر گرفته شده‌ی متغیرها و نمودارهای سطح پاسخ و شبکه عصبی مصنوعی، بهینه‌یابی بر اساس دستیابی به حداکثر محتوی فنول کل، ظرفیت ضد اکسایشی و کارایی ریزپوشانی صورت گرفت. تیمارهایی با ۲۸ درصد غلظت مواد دیواره، ۱۶ درصد نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید، ۱۱۱ ثانیه زمان فراصوت و همچنین ۲۹ درصد غلظت مواد دیواره، ۱۸ درصد نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید، ۸۷ ثانیه زمان فراصوت به ترتیب به عنوان مقادیر متغیرهای مستقل در نمونه منتخب از مدل شبکه عصبی مصنوعی و سطح پاسخ حاصل آمدند. نتایج ویژگی‌های کیفی اسانس ریزپوشانی شده و پیش‌بینی شده توسط مدل و درصد خطای برآورد شده از هر ویژگی در جدول ۵ نشان داده شده است. نتایج بیانگر آن است که شبکه‌های عصبی با توپولوژی بهینه به دلیل توانایی بی‌نظیر در پردازش اطلاعات و مدل‌سازی سیستم‌های پیچیده، در پیش‌بینی ویژگی‌های کیفی اسانس آویشن شیرازی ریزپوشانی شده بسیار کارآمد بوده است.

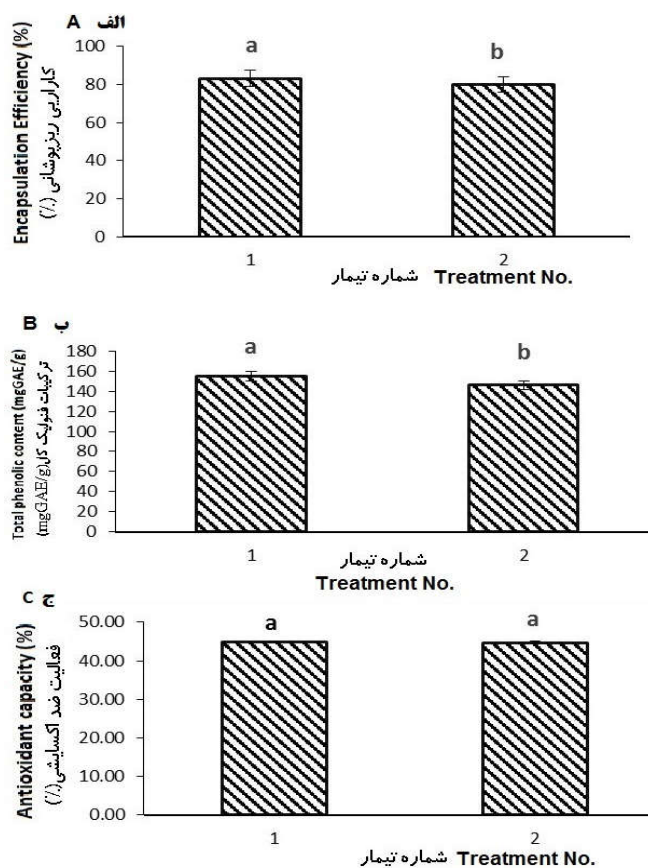
تأثیر مثبت افزایش نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید بر حفظ سطوح بالاتری از ترکیبات فنولی کل به نقش حفاظتی کازئینات سدیم بر ترکیبات فنولی اسانس آویشن شیرازی مرتبط است. پروتئین‌ها توانایی و قابلیت بسیار بالایی برای واکنش با سایر عوامل پوشش دهنده از جمله مالتودکسترین و نشاسته اصلاح شده دارند و با تشکیل ذرات کلوئیدی، ترکیبات فنولی را به دام انداخته و از آن‌ها در برابر اکسید شدن محافظت می‌کنند. هر چند عواملی همچون حلالیت، اندازه مولکولی، ساختار و ظرفیت مواد مورد استفاده در دیواره ریزپوشینه نقش به‌سزایی در امکان خروج ترکیبات هدف به داخل پوسته اطراف ریزپوشینه‌ها و جابه‌جایی آن‌ها به سطح دارد (۲۷). فاراگ و همکاران (۲۰۱۸) با ریزپوشانی ترکیبات فنولی استخراج شده از انگور با استفاده از حامل‌های مالتودکسترین و پروتئین آب پنیر به این نتیجه دست یافتند که اندازه ذرات ریزپوشینه‌های به دست آمده از پوشش پروتئین آب پنیر به‌عنوان ماده دیواره کمتر از سایر ترکیبات مورد استفاده به‌عنوان پوشش ریزپوشینه‌ها است (۱۴).

بررسی اثرات متقابل متغیرهای مستقل بر ویژگی‌های کیفی اسانس آویشن ریزپوشانی شده با استفاده از مدل حاصل از شبکه عصبی مصنوعی - ظرفیت ضد اکسایشی: نتایج این پژوهش نشان داد که افزایش غلظت مواد دیواره، نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید و زمان اعمال فراصوت موجب افزایش ظرفیت ضد اکسایشی اسانس آویشن ریزپوشانی شده گردید (شکل‌های ۴-ز، ۴-ح و ۴-ط). بررسی پژوهش سایر پژوهشگران نیز نشان داده است که با افزایش غلظت مواد دیواره پوشینه، مقدار اسانس بیشتری در ریزپوشینه‌ها باقی می‌ماند که به افزایش سرعت تشکیل و ضخامت مواد دیواره در اطراف ترکیبات هدف و در نتیجه کاهش اتلاف این ترکیبات مربوط است (۱۱). از طرفی، نظر به وجود همبستگی

جدول ۵- صحت پیش‌بینی مدل‌های سطح پاسخ و شبکه عصبی

Table 5- Prediction accuracy of response surface and neural network models

درصد خطا		مقدار تجربی		مقدار پیش‌بینی شده		آزمون Test
Percentage error		Experimental value		Predicted value		
شبکه صبی	سطح پاسخ	شبکه صبی	سطح پاسخ	شبکه صبی	سطح پاسخ	
Neural network	Response surface	Neural network	Response surface	Neural network	Response surface	
0.15	0.11	81.59	80.95	81.46	80.85	کارایی ریزپوشانی (درصد) Encapsulation efficiency (%)
0.27	0.61	150.2	145.89	149.79	146.78	فنول کل (میلی گرم گالیک اسید بر گرم) Total phenolic content (mg GAE /g)
0.64	0.91	45.01	44.26	44.72	44.66	ظرفیت ضد اکسایشی (درصد) Antioxidant capacity (%)



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر تیمار بر تغییرات راندمان ریزپوشانی (الف)، میزان فنول کل (ب) و ظرفیت ضد اکسایشی (ج) اسانس ریزپوشانی شده آویشن شیرازی

Figure 5- Mean comparison of the effect of treatment on the encapsulation efficiency (A), total phenolic content (B), and antioxidant capacity (C) of microencapsulated thyme essential oil

بهینه ۱: ۲۸ درصد غلظت مواد دیواره، ۱۶٪ نسبت پروتئین به پلی ساکارید، ۱۱۱ S زمان فراصوت (بهینه حاصل از شبکه مصنوعی)

بهینه ۲: ۲۹ درصد غلظت مواد دیواره، ۱۸ درصد نسبت پروتئین به پلی ساکارید، ۸۷ S زمان فراصوت (بهینه حاصل از سطح پاسخ)

Optimum 1: 28% wall material concentration, 16% protein / polysaccharide ratio, 111 S ultrasonic time (Neural network)

Optimum 2: 29% wall concentration, 18% protein / polysaccharide ratio, 87 S ultrasonic time (Response surface)

عصبی مصنوعی، متغیرهای وابسته مورد مطالعه به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر غلظت مواد دیواره، نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید و مدت زمان فراصوت قرار گرفتند؛ به گونه‌ای که افزایش غلظت مواد دیواره، نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید و مدت زمان فراصوت موجب بهبود ویژگی‌های کیفی اسانس گردید. اثر متقابل نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید و زمان فراصوت نیز در سطوح متوسط متغیرها موجب بهبود حفظ ترکیبات فنولی کل و ظرفیت ضد اکسایشی ریزپوشینه اسانس آویشن شد. ۲۸ درصد غلظت مواد دیواره، ۱۶ درصد نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید، ۱۱۱ ثانیه زمان فراصوت (بهینه حاصل از شبکه مصنوعی) و ۲۹ درصد غلظت مواد دیواره، ۱۸ درصد نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید، ۸۷ ثانیه زمان فراصوت (بهینه حاصل از روش سطح پاسخ) به‌عنوان نقاط بهینه معرفی شده جهت دستیابی به حالت بیشینه فنول کل، ظرفیت ضد اکسایشی و راندمان ریزپوشانی پیشنهاد گردید. عملکرد و بهینه‌یابی هر دو روش بسیار به یکدیگر نزدیک بود و در میان این دو نمونه، بهینه حاصل از مدل به‌دست آمده از شبکه عصبی مصنوعی، محتوی فنول کل و راندمان ریزپوشانی تطابق بالاتری را نسبت به نمونه دیگر نشان داد.

References

1. Adamiec, J. and Kalemba, D. 2006. Analysis of microencapsulation ability of essential oils during spray drying. *Drying Technology*. 24: 1127-1132.
2. Aghajani, N., Kashaninejad, M., Dehghani, A.A., and Daraei Garmakhany, A. 2012. Comparison between artificial neural networks and mathematical models for moisture ratio estimation in two varieties of green malt. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*. 4: 93-101.
3. Akdeniz, B., Sumnu, G., and Sahin, S. 2017. The effects of maltodextrin and gum arabic on encapsulation of onion

مقایسه ویژگی‌های کیفی نمونه‌های بهینه حاصل از شبکه‌های عصبی مصنوعی و سطح پاسخ: همان‌گونه که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، اثر تیمار بر میانگین کارایی ریزپوشانی و ترکیبات فنولی اسانس ریزپوشانی شده معنی‌دار بود ($P < 0/05$). به گونه‌ای که تطابق پاسخ‌های پیش‌بینی شده و تجربی در ارتباط با پارامترهای راندمان ریزپوشانی و محتوای ترکیبات فنولی نمونه بهینه حاصل از مدل به دست آمده از شبکه عصبی مصنوعی بالاتر از نمونه بهینه حاصل از روش سطح پاسخ ارزیابی گردید ($P < 0/05$). البته مقایسه نتایج فعالیت ضد اکسایشی این دو نمونه تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نمی‌دهد.

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر، دو روش مدل‌سازی سطح پاسخ و شبکه عصبی مصنوعی به‌منظور بررسی و مدل‌سازی تأثیر غلظت مواد دیواره، نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید و مدت زمان فراصوت بر مهم‌ترین ویژگی‌های کیفی (محتوی فنولی کل، ظرفیت ضد اکسایشی و راندمان ریزپوشانی) ریزپوشینه‌های اسانس آویشن شیرازی مورد مطالعه قرار گرفت. در مدل‌های حاصل از دو روش سطح پاسخ و شبکه

skin phenolic compounds. *Chemical Engineering Transactions*. 57: 1891-1896.

4. Alara, O.R., Abdurahman, N.H., Afolabi, H.K., and Olalere, O.A. 2018. Efficient extraction of antioxidants from *Vernonia cinerea* leaves: Comparing response surface methodology and artificial neural network. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*. 7: 3. 276-285
5. Aliakbarian, B., Sampaio, F.C., de Faria, J.T., Pitangui, C.G., Lovaglio, F., Casazza, A and Perego, P. 2018. Optimization of spray drying microencapsulation of olive pomace

- polyphenols using response surface methodology and artificial neural network. *LWT-Food Science and Technology*. 93: 220-228.
6. Al-Husseini, A., Sarabi Jamab, M., Qurani, B., Kadkhodai, R., and Van Gassolak, S. 2017. Investigation of the artificial neural networks efficacy in predicting the effect of polymer concentration and voltage of electroplating process on the physical properties of particles. *New Food Technologies*. 2: 31-43. (In Persian)
 7. Augustin, M.A. and Hemar, Y. 2009. Nano-and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chemical society reviews*. 38: 902-912.
 8. Bagamboula, C.F., Uyttendaele, M., and Debevere, J. 2004. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiology*. 21: 33-42
 9. Baranauskien, R., Bylatite, E., Zukauskaitė, J., and Venskutonis, RP. 2007. Flover Retention of Peppermint (*Menthapiperita* L.) essential oil spray-dried in modified starches during encapsulation and storage. *Food chemistry*. 55: 8.3027-3036.
 10. Basiri, Sh. 2012. Investigation of the effect of temperature and velocity of air flow in the dryer on the amount and quality of essential oil extracted from thyme. *Innovation in Food Science and Technology*. 4: 75-84. (In Persian)
 11. Calvo, P., Hernandez, T., Lozano, M., and Gonzalez-Gomez, D. 2010. Microencapsulation of extra-virgin olive oil by spray drying: Influence of wall material and olive quality. *European J. of Lipid Science and Technology*. 112: 852-858.
 12. Can Baser, K.H., and Bushbauer, G. 2010. *Handbook of essential oils, science, technology and applications*. 2th ed., CRC Press, United States, pp 1-1128.
 13. Carneiro, H.C., Tonon, R.V., Grosso, C.R., and Hubinger, M.D. 2013. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *J. of Food Engineering*. 115: 443-451.
 14. Farrag, A., El-Messery, T.M., El-Said, M.M., Soliman, T.N., and El-Din, H.M.F. 2018. Microencapsulation of grape phenolic compounds using whey proteins as a carrier vehicle. *J.of Biological Sciences*. 18: 373-380.
 15. Gallardo, G., Guida, L., Martínez, V., López, M.C., Bernhardt, D., Blasco, R., Pedroza-Islas, R., and Martinez, V. 2013. Microencapsulation of linseed oil by spray drying for functional food application. *Food Research International*. 52: 473-482.
 16. Ghahreman, A. 1988. *Colored flora of Iran*. Publications of Forests and Rangelands Research Institute, University of Tehran. 11: 1375. (In Persian)
 17. Ghahramani Far, A., Mohammadi Thani, A., Najaf Najafi, M., and Ghahremanifar, M. 2010. Effect of Emulsion Properties on Powder Properties of Micro-Coating Process. *Food Science and Technology*. 2: 45-54. (In Persian)
 18. Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., and Saurel, R. 2007. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Res Int*. 40: 1107-1121.
 19. Goula, A.M. and Adamopoulos, K.G. 2012. A new technique for spray-dried encapsulation of lycopene. *Drying Technology*. 30: 641-652.
 20. Heinzelmann, K., Franke, K., Jensen, B., and Haahr, A.M. 2000. Protection of fish oil from oxidation by microencapsulation using freeze drying techniques. *European J. of Lipid Science and Technology*. 102: 114-121.
 21. Hogan, S.A., Mcnamee, B.F., O’Riordan, E.D., and O’Sullivan, M. 2001. Emulsification and microencapsulation properties of sodium caseinate/carbohydrate blends. *International Dairy J*. 11: 137-144.
 22. Islam, M.R., Sablani, S.S., and Mujumdar, A.S. 2003. An artificial neural network model for prediction of

- drying rates. *Drying Technology*. 21: 1867-1884.
23. Jafari, S.M., He, Y., and Bhandari, B. 2007. Production of sub-micron emulsions by ultrasound and microfluidization techniques. *J. of Food Engineering*. 82: 478-488.
 24. Kamali, M., Khosrowyar, S., and Jalilund, M.R. 2014. Investigation of phenolic, flavonoid, anthocyanin compounds and antioxidant capacity of various aerial extracts of medicinal plant (*D. racocephalum kotschyi*). *J. of North Khorasan University of Medical Sciences*. 6: 627-634. (In Persian)
 25. Kaushik, V. and Roos, Y.H. 2007. Limonene encapsulation in freeze-drying of gum arabic-sucrose-gelatin systems. *LWT-Food Science and Technology*. 40: 1381-1391.
 26. Leung, A.Y. and Foster, S. 2003. *Encyclopedia of common natural ingredients (used in food, drugs, and cosmetics)*, A John Wiley & Sons. Inc., Hoboken, New Jersey. 210-2.
 27. Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., and Desobry, S. 2006. Flavour encapsulation and controlled release—a review. *International J. Of Food Science and Technology*. 41: 1-21
 28. Menlik, T., Özdemir, M.B., and Kirmaci, V. 2010. Determination of freeze-drying behaviors of apples by artificial neural network. *Expert Systems with Applications*. 37: 7669-7677.
 29. Mohal Khan, A., Khatun, S., Hossain, M., and Rahman, M. 2012. Characterization of the eucalyptus (*E. Globulus*) leaves oil. *Journal of the Bangladesh Chemical Society*. 25: 97-100.
 30. Morelli, L.L., and Prado, M.A. 2012. Extraction optimization for antioxidant phenolic compounds in red grape jam using ultrasound with a response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*. 19: 1144-1149.
 31. Movagharnjad, K., and Nikzad, M. 2007. Modeling of tomato drying using artificial neural network. *Computers and Electronics in Agriculture*. 59: 78-85.
 32. Nasiri, A., Mousavi Nasab, M., Sugar Sale, Sh., and Golmكاني, M.T. 2014. Evaluation of the effect of Shirazi thyme essential oil (*Zataria multiflora Boiss*) on inhibition of polyphenol oxidase enzyme and melanosis process in *Litopenaeus vannamei*. *Iranian Fisheries*. 3: 109-119. (In Persian)
 33. Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., and Bugarski, B. 2011. An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*. 1: 1806-1815.
 34. Nemati, Sh., Sefidkon, F., and Pourharavi, M. 2011. The effect of dryer conditions on the amount and compounds of thyme essential oil (*Thymus daenesis Celak*). *Iranian Medicinal and Aromatic Plants Research*. 1: 72-80. (In Persian)
 35. Pinelo, M., Rubilar, M., Jerez, M., Sineiro, J., and Núñez, M.J. 2005. Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 2111-2117.
 36. Rocha, G.A., Fávoro-Trindade, C.S., and Grosso, C.R.F. 2012. Microencapsulation of lycopene by spray drying: characterization, stability and application of microcapsules. *Food and Bioproducts Processing*. 90: 37-42.
 37. Shahide, F. and Han, X.Q. 1993. Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 33: 501-546.
 38. Tavares, G.M., Croguennec, T., Carvalho, A.F., and Bouhallab, S. 2014. Milk proteins as encapsulation devices and delivery vehicles: Applications and trends. *Trends in Food Science & Technology*. 37: 5-20
 39. Verma, R.S., Padalia, R.C., and Chauhan, A. 2012. Essential oil composition of *Coleus aromaticus* Benth from Uttarakhand. *J. of Essential oil-bearing Plants*. 15: 174-179
 40. Yazicioglu, B., Sahin, S., and Sumnu, G. 2015. Microencapsulation of wheat germ oil. *J. of Food Science & Technology*. 52: 6. 3590-3597.

