

Fabian DAJNOWIEC, Malwina BIEGAJ, Paweł BANASZCZYK, Aleksander KUBIAK, Lidia ZANDER

e-mail: fabian.dajnowiec@uwm.edu.pl

Katedra Inżynierii i Aparatury Procesowej, Wydział Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn

Otrzymywanie mikrokapsulek alginianowych za pomocą ultradźwięków

Wstęp

Kapsułkowanie należy do intensywnie rozwijających się technik znajdujących zastosowanie w biotechnologii [Stefanek i Ciach, 2014], przemyśle spożywczym i farmaceutycznym [Lee i in., 2013]. Kapsułki znajdują zastosowanie min.: jako dodatki funkcjonalne do żywności. Nadanie właściwości prozdrowotnych lub podwyższenie wartości odżywczej produktu wymaga stosowania dodatków, które czasem mogą niekorzystnie wpływać na właściwości sensoryczne. Proces kapsułkowania umożliwia wzbogacenie produktów bez wpływu na ich cechy sensoryczne. Bariera powlekająca materiał rdzenia mikrokapsulek chroni aktywne substancje przed wpływem czynników zewnętrznych, a także uniemożliwia niekontrolowane uwalnianie się ich do otoczenia.

Do najczęściej stosowanych technik mikrokapsułkowania substancji do zastosowań w wieloskładnikowych produktach spożywczych należy suszenie rozpryskowe układów dyspersyjnych oraz zamykanie w hydrożelowych matrycach alginianowych [Gibbs i in., 1999; Nedovic i in., 2011; Lee i in., 2013;]. Kapsułki alginianowe otrzymuje się w wyniku wkraplania materiału matrycy wraz z zawieszonym w nim materiałem rdzenia do roztworu sieciującego. Roztworami sieciującymi są wodne roztwory soli metali dwuwartościowych, najczęściej CaCl_2 . Jednak wówczas powstają stosunkowo duże cząstki o wymiarach rzędu milimetrów [Chan, 2011]. Przez zastosowanie różnych metod atomizacji, zwłaszcza elektrohydrodynamicznej [Klokk i Melvik, 2002] lub ultradźwiękowej [Bałdyga, 2013; Barba i in., 2009] możliwe jest uzyskiwanie cząstek o znacznie mniejszych wymiarach, co pozwala maskować obecność dodatków w produkcie.

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki eksperymentów mających na celu uzyskanie mikrocząstek alginianu wapniowego na drodze sieciowania emulsji typu O/W. Jako składniki rdzenia kapsulek zastosowano biologicznie aktywne oleje pochodzące z amarantusa i rokitnika, będące źródłem wielu substancji biologicznie aktywnych [Obiedzińska i in., 2012].

Badania doświadczalne

Materiały i aparatura

Biooleje wykorzystywane w doświadczeniach emulgowano w wodnym roztworze zawierającym 31,2 % mas. alginianu sodowego (Sigma Aldrich), 31,2 % mas. alkoholu poliwinylowego (PPH Stanlab, Lublin) i 18,8 % mas. koncentratu białek serwatkowych WPC 80 (Milkiland EU Sp. z o.o) w suchej masie, stanowiącej 2,67% mas. układu. Udział oleju równy był udziałowi preparatu białkowego. W doświadczeniach stosowano laboratoryjny generator ultradźwięków typu VCX134PB (SONICS) o mocy 130 W, za pomocą którego dyspergowano uprzednio zmieszane składniki. Proces prowadzono przez 240 s przy częstotliwości 40 kHz i amplitudzie 100%. Fazą rozproszoną były biooleje: z owoców rokitnika (Alter Medica, Żywiec) i nasion amarantusa (PPHU Szarlat Sp. c.).

Metodyka

Otrzymane emulsje rozpylano następnie na powierzchnię utrzymywanej w ruchu roztworu chlorku wapniowego o stężeniu 5% mas., powodującego sieciowanie alginianu w wyniku wymiany jonów Na^+ na Ca^{++} . W ten sposób otrzymywano zawiesinę mikrocząstek żelowych w roztworze CaCl_2 .

Doświadczenia realizowano wg całkowitego planu czynnikowego typu 2^3 z trzema powtórzeniami w punkcie centralnym. Jako czynniki wejściowe rozpatrywano amplitudę drgań głowicy atomizera (X_1), strumień objętości emulsji dopływającej do atomizera (X_2) oraz czę-

stość obrotów mieszadła (X_3). Naturalne wartości poszczególnych zmiennych niezależnych odpowiadające kodowanym poziomom „-1” i „+1” i punktu centralnego „0” podano w tab. 1.

Tab.1. Zmienne niezależne w doświadczeniu czynnikowym

Zmienna	Jednostka	Poziom zmian		
		-1	0	1
Amplituda drgań atomizera (X_1)	%	80	90	100
Natężenie dopływu emulsji do atomizera (X_2)	$\text{cm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$	1,167	1,333	1,500
Częstość obrotów mieszadła (X_3)	s^{-1}	5,833	8,333	10,833

Strukturę emulsji poddawanej żelowaniu oceniano na podstawie analizy rozkładu wielkości kropeł mierzonych instrumentalnie met. LDA (Laser Diffraction Analysis) za pomocą aparatu Mastersizer 2000 (Malvern) i pomiarów lepkości, wykonywanych za pomocą reometru Rheo-Stress RSI (Haake) z układem cylindrów Z34 DIN (34,0/36,88 mm). Metodę LDA zastosowano również do pomiarów wielkości otrzymywanych mikrokapsulek alginianowych. Wszystkie eksperymenty i pomiary prowadzono w temperaturze pokojowej ($20,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$). Otrzymywane dyspersje charakteryzowano oceniając średnicę Sautera d_{32} i szerokość rozkładu określaną jako rozpiętość (*span*) Δ definiowaną równaniem:

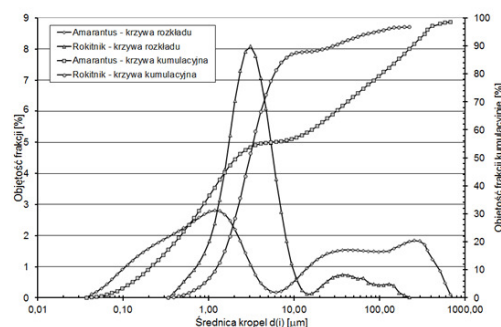
$$\Delta = \frac{d_{0,9} - d_{0,1}}{d_{0,5}} \quad (1)$$

gdzie: $d_{0,1}$, $d_{0,5}$, $d_{0,9}$ – średnice cząstek wytyczające odpowiednio 10, 50 i 90% udziału kumulacyjnego objętości fazy rozproszonej.

Plan doświadczenia wygenerowano i analizę wyników przeprowadzono za pomocą programu Statistica StatSoft V. 10 (2011) z wykorzystaniem modułu Statystyki przemysłowej (DOE).

Wyniki i ich analiza

Otrzymywane emulsje wykazywały niutonowski charakter płynięcia i posiadały lepkość w granicach $14,6 \div 18,1$ mPa·s, przy czym wpływ rodzaju użytego oleju na zmienność lepkości okazał się nieistotny. Obserwowano jednak zróżnicowanie struktury emulsji – rys. 1.

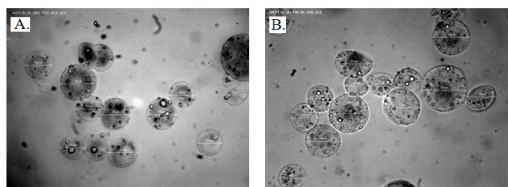


Rys. 1. Rozkłady wielkości kropeł oleju w emulsjach przed żelowaniem

W emulsjach dyspergowanych energią ultradźwięków stwierdzano wysoki udział małych kropeł oleju nawet o średnicach rzędu 1 μm i mniejszych, ale otrzymywane układy były wyraźnie polidispersyjne i zawierały też krople o średnicach przekraczających 100 μm – rys. 1. Wskazuje to na potrzebę optymalizacji tego procesu w kierunku eliminacji kropeł o średnicach powyżej 10÷20 μm .

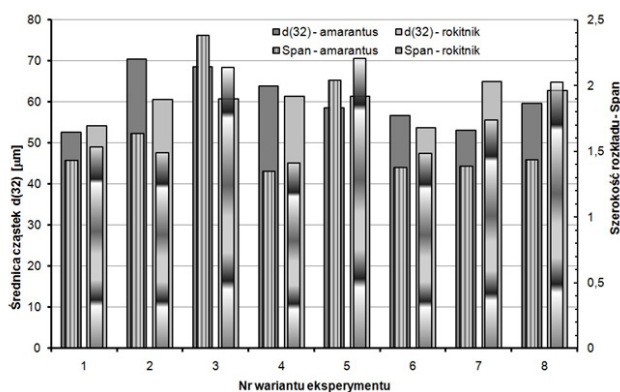
Rozpylanie emulsji alginianu sodowego z bioolejami za pomocą ultradźwięków prowadziło do powstawania częściowo przezroczystych mikrocząstek (mikrokapsulek) o kształcie zbliżonym do kuliste-

go (Rys. 2). Na rys. 2 wewnątrz cząstek dostrzegalne są krople zamkniętego oleju. Wynika stąd, że mikrokapsułki otrzymywane zastosowaną techniką dyspergowania mogą być nośnikami również innych substancji hydrofobowych.



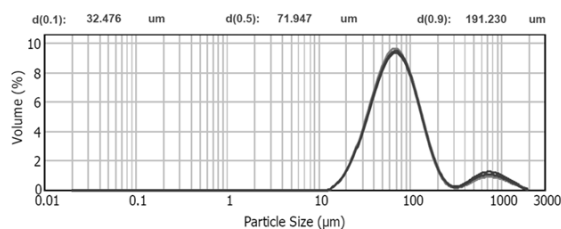
Rys. 2. Struktura mikrokapsulek żelowych z zamkniętymi kroplami oleju: A. z nasion amarantusa, B. z owoców rokitnika. Mikroskop optyczny, światło przechodzące, obiektyw 40x

Przeciętne średnice mikrozcząstek (d_{32}) uzyskiwanych w poszczególnych wariantach eksperymentu mieściły się w przedziale od 52,6 do 70,4 μm (Rys. 3). W większości eksperymentów rozkłady wielkości mikrokapsulek były bimodalne (Rys. 4) z dominującą frakcją 50÷75 μm i słabo zaakcentowaną frakcją cząstek o średnicy do 1000 μm . Znajduje to odzwierciedlenie w wartościach oceny szerokości rozkładu (*span*) – rys. 3.



Rys. 3. Charakterystyka rozkładu wielkości cząstek mikrokapsulek alginianowych - średnica *Sautera* $d(32)$ i *span* w poszczególnych wariantach eksperymentu

Uzyskane kapsułki miały mniejsze rozmiary niż te, które otrzymali *Watanabe i in.* [2003] oraz *Klokk i Melvik* [2002] przy zastosowaniu atomizacji w polu elektrostatycznym. Otrzymywali oni kapsułki alginianowe o rozmiarach pomiędzy 100 a 600 μm , czyli porównywalne z nielicznymi cząstkami tworzącymi drugą frakcję w przeprowadzonych doświadczeniach.



Rys. 4. Przykład bimodalnego rozkładu wielkości mikrozcząstek alginianowych z olejem rokitnikowym – z protokołu *Malvern 2000*, eksperyment nr 5

Ze względu na brak istotnej różnicy między średnimi wartościami z powtórzeń w centralnym punkcie doświadczenia a oszacowaniami wolnego wyrazu B_0 równań regresji przyjęto następującą postać równania:

$$\hat{y}_j = B_0 + B_1 X_1 + B_2 X_2 + B_3 X_3 + B_{12} X_1 X_2 + B_{13} X_1 X_3 + B_{23} X_2 X_3 \quad (1)$$

w którym zmienne niezależne X_i przyjmują wartości z przedziału $-1 < X_i < 1$ zgodnie z tab. 1, a zmienne zależne stanowią: średnica d_{32} i szerokość rozkładu Δ . Wartości liczbowe współczynników regresji B_i zestawiono w tab. 2.

Wynika stąd, że minimalizacji wielkości cząstek sprzyja duża amplituda drgań głowicy dyspergatora (X_1) oraz wysoka częstość obrotów mieszadła (X_3). Zwiększanie zasilania (X_2) uznano za niekorzyst-

ne, gdyż pociągało za sobą wzrost średnicy d_{32} cząstek. Wpływ analizowanych zmiennych na szerokość rozkładu był niejednoznaczny, prawdopodobnie z powodu bimodalności niektórych rozkładów. Interakcje analizowanych zmiennych okazały się statystycznie istotne ($p = 0,05$).

Tab. 2. Parametry równania regresji między amplitudą drgań atomizera, szybkością podawania emulsji i intensywnością mieszania a rozkładem wielkości mikrokapsulek

Efekt	Współczynnik	Olej			
		amarantusowy		rokitnikowy	
		d_{32} [μm]	Δ [-]	d_{32} [μm]	Δ [-]
Stała	B_0	60,45	1,63	62,29	1,75
X_1	B_1	-4,45	-0,56	-5,22	-0,15
X_2	B_2	3,87	0,24	4,89	0,08
X_3	B_3	-1,05	0,03	-3,09	0,11
$X_1 X_2$	B_{12}	-0,74	-0,08	-0,01	0,04
$X_1 X_3$	B_{13}	1,17	-0,17	0,32	0,04
$X_2 X_3$	B_{23}	0,85	0,01	1,45	-0,06
	R^2	0,926	0,501	0,865	0,441

Podsumowanie i wnioski

Przeprowadzone doświadczenia wykazały możliwość uzyskiwania dobrej dyspersji bioolejów w układach emulsyjnych przez zastosowanie ultradźwięków.

Wytwarzanie mikrokapsulek żelu alginianowego wypełnionych hydrofobowymi składnikami z zastosowaniem atomizacji ultradźwiękowej pozwala na uzyskiwanie regularnych, kulistych cząstek o średnicy rzędu kilkudziesięciu mikrometrów.

Szczegółowa analiza wyników doświadczeń wskazuje na potrzebę optymalizacji zarówno warunków dyspergowania układów emulsyjnych z zastosowaniem ultradźwięków, jak i procesów atomizacji emulsji oraz żelowania cząstek w kąpieli sieciującej.

LITERATURA

- Bałdyga J., 2013. Zastosowanie ultradźwięków w procesach dezintegracji. *Inż. Ap. Chem.*, **52**, nr 3, 144-146
- Barba A. A., d'Amore M., Cascone S., Lamberti G., Titomanlio G., 2009. Intensification of biopolymeric microparticles production by ultrasonic assisted atomization. *Chem. Eng. Proc.: Proc. Intens.*, **48**, 1477-1483. DOI: 10.1016/j.ccep.2009.08.004
- Chan E.-S., 2011. Preparation of Ca-alginate beads containing high oil content: Influence of process variables on encapsulation efficiency and bead properties. *Carbohydrate Polymers*, **84**, nr 4, 1267-1275. DOI: 10.1016/j.carbpol.2011.01.015
- Gibbs B.F., Kermasha S., Alli I., Mulligan C.N., 1999. *International J. Food Sci. Nutr.*, **50**, nr 3, 213-224. DOI: 10.1080/096374899101256
- Klokk T.I., Melvik J.E., 2002. Controlling the size of alginate gel beads by use of high electrostatic potential. *J. Microencapsul.*, **19**, 4, 415-42. DOI: 10.1080/02652040210144234
- Lee B.-B., Ravindra P., Chan E.-S., 2013. Size and shape of calcium alginate beads produced by extrusion dripping. *Chem. Eng. Technol.*, **36**, nr 10 1627-1642. DOI: 10.1002/ceat.201300230
- Nedovic V., Kalusevic A., Manojlovic V., Levic S., Bugarski B., 2011. An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, **1**, 1806-1815. DOI: 10.1016/j.profoo.2011.09.266
- Obiedzińska A., Waszkiewicz-Robak B., 2012. Oleje tłoczone na zimno jako żywność funkcjonalna. *ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, **1** (80), 27-44
- Stefanek A., Ciach T. 2014. Biomimetyczne matryce do przestrzennej hodowli komórek. *Inż. Ap. Chem.*, **53**, 4, 294-295
- Watanabe H., Matsuyama T., Yamamoto H. 2003. Experimental study on electrostatic atomization of highly viscous liquids. *J. Electrostatics*, **57**, 183-197. DOI: 10.1016/S0304-3886(02)00139-0

Badania były finansowane przez Narodowe Centrum Nauki jako projekt nr N N312 214539