



## بهینه‌یابی شرایط تولید اولئوژل روغن مایع هسته انگور با استفاده از موم زنبور عسل و مونوگلیسیرید

سپیده قلمکاری<sup>۱</sup> و هاجر عباسی<sup>۲\*</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۵/۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۳/۱

<sup>۱</sup> دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

<sup>۲</sup> دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

\*مسئول مکاتبه: Email: H.abbasi@khuisf.ac.ir

### چکیده

**زمینه مطالعاتی:** اولئوژل‌ها سیستم‌های شبه جامدی هستند که بر اساس ژلاسیون محلول‌های آلی توسط ژل‌سازها تشکیل می‌شوند و امکان حذف اسیدهای چرب ترانس و کاهش اسیدهای چرب اشباع در روغن‌های ساختاردهی شده را فراهم می‌آورند. هدف از پژوهش حاضر، بررسی امکان تولید اولئوژل با خصوصیات مشابه با مارگارین تجاری از روغن مایع هسته انگور با کمک موم زنبور عسل به عنوان عامل ژل‌کننده و مونوگلیسیرید به عنوان امولسیفایر، و همچنین تعیین سطح بهینه متغیرهای مورد بررسی بود. روش کار: در این تحقیق از موم زنبور عسل (در سطوح ۰، ۶/۱۵، ۸/۶، ۱۰/۴۲ و ۱۲/۵٪) و مونوگلیسیرید (در سطوح ۰، ۶/۱۵، ۸/۶، ۱۰/۴۲ و ۱۲/۵٪) استفاده شد. مدلسازی عملکرد متغیرها بر ویژگی‌های کیفی محصول (مهاجرت روغن، دما و آنتالپی ذوب، استحکام و بیشینه نیروی لازم برای اکستروژن برگشتی) با استفاده از روش سطح پاسخ طرح مرکب مرکزی انجام گرفت. خصوصیات کیفی، رئولوژیکی و ریزساختار محصول منتخب ارزیابی و با نمونه شاهد (مارگارین تجاری) در قالب طرح کامل تصادفی مقایسه گردید. **نتایج:** نتایج نشان داد که افزایش غلظت موم و مونوگلیسیرید موجب کاهش مهاجرت روغن و افزایش نقطه ذوب اولئوژل، آنتالپی ذوب، استحکام و بیشینه نیروی لازم برای اکستروژن برگشتی اولئوژل گردید. شرایط بهینه تولید اولئوژل روغن هسته انگور با خصوصیات فیزیکی و بافتی مشابه یک نمونه مارگارین تجاری، ۲/۰۸۹٪ موم و ۶/۳۰۳٪ مونوگلیسیرید معرفی گردید. اولئوژل روغن هسته انگور و نمونه شاهد (مارگارین) از نظر ویژگی‌های فیزیکی تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ( $P > 0.05$ ). هر دو خصوصیت ویسکوالاستیک جامد و رفتار سودوپلاستیک نشان دادند. ساختار میکروسکوپی نشان‌دهنده تشکیل یک شبکه ژلی مستحکم دارای کریستال‌های کوچک و یکنواخت در اولئوژل بود. **نتیجه‌گیری نهایی:** استفاده از سطوح مناسب موم زنبور عسل و مونوگلیسیرید می‌تواند در تولید یک روغن ساختار یافته از روغن هسته انگور با ویژگی‌های فیزیکی و بافتی مناسب مورد استفاده قرار بگیرد.

**واژگان کلیدی:** اولئوژل، خصوصیات رئولوژیکی، روغن هسته انگور، مهاجرت روغن، موم زنبور عسل، مونوگلیسیرید

## مقدمه

روغن‌ها و چربی‌های خوراکی بخش عمده‌ای از ترکیبات غذایی مصرفی روزانه مردم را تشکیل می‌دهند که به عنوان منبع انرژی و تأمین کننده اسیدهای چرب ضروری و ویتامین‌های محلول در چربی (A، D، E، K)، از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. روغن‌های مایع پتانسیل خوبی برای کاربردهای مختلف در صنایع غذایی دارند، اما بدون به‌کارگیری روش‌های اصلاح بافت این امر امکان پذیر نیست. هیدروژناسیون و استریفیکاسیون از جمله روش‌های اصلاحی متداول است که در این روش‌ها علاوه بر ساختاردهی روغن‌های مایع، بهبود خصوصیات عملکردی، افزایش پایداری اکسیداتیو و بهبود طعم، واکنش‌های جانبی نظیر ایزومریزاسیون نیز اتفاق می‌افتد. لذا علاوه بر افزایش میزان اسیدهای چرب اشباع، اسیدهای چرب ترانس نیز تولید می‌گردد، و بدین ترتیب ارزش روغن روغن از مضر تغذیه ای کاهش و خطر ابتلا به بیماری‌های عروق کرونر در صورت مصرف آن افزایش می‌یابد (تاراگو- ترنی و همکاران ۲۰۰۶). ضرورت کاهش اسیدهای اشباع و چرب ترانس به منظور تولید محصولات سالم از یک سو، و عدم حذف کامل آنها در روغن‌های هیدروژنه از سوی دیگر، موجب شده تا ضرورت بررسی روش‌های جایگزین ساختاردهی روغن‌های مایع کاملاً حس گردد. تولید اولئوژل روشی نوین برای ساختاردهی روغن‌های خوراکی است و به عنوان جایگزین روش‌های معمول ساختاردهی روغن‌ها معرفی شده است (پلیوانگلو و همکاران ۲۰۱۸).

اولئوژل‌ها شبکه ژلی حاوی مولکول‌های ایجاد کننده ژل هستند که حلال‌های آلی یا روغن‌های مایع را از طریق واکنش‌های بین زنجیری مانند پیوندهای هیدروژنی و اندروالسی درون شبکه به دام می‌اندازند. ژل کننده‌ها از نظر مکانیسم عمل به سه دسته اصلی تشکیل شبکه از ذرات کریستالی، ایجاد شبکه فیبریلی خود جمع شونده و تشکیل شبکه ژلی پلیمری تقسیم می‌شوند. از

جمله ژل کننده‌ها از طریق تشکیل ذرات کریستالی می‌توان به انواع موم‌ها (موم زنبور عسل، موم کندلیلا، موم سبوس برنج، شلاک)، مونوآسیل گلیسریدها، سرامیدها، لسیتین، مخلوط اسیدهای چرب و الکل‌های چرب و سوربیتان تری استئارات اشاره نمود. اولئوژل‌ها کاربردهای مختلفی نظیر کم کردن تحرک و مهاجرت روغن، پایدار کننده امولسیون‌ها و کنترل کننده رهایش مواد مغذی و داروها را بر عهده دارند (ماتیس و مارانگونی ۲۰۱۸).

در تحقیقات اخیر مشخص شده است که نوع روغن و ارگانوژلاتور تأثیر به‌سزایی بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و مکانیکی اولئوژل‌ها دارند. در همین راستا مارویاما و همکاران (۲۰۱۴) بیان داشتند که افزودن موم به روغن به واسطه‌ی افزایش سرعت فرایند بلورینگی، وابستگی اولئوژل به تغییرات دمایی را کم می‌کند. در بسیاری از مطالعات پیشین، کاهش اندازه کریستال‌های اولئوژل روغن زیتون حاوی موم زنبور عسل و واکس آفتابگردان در مقایسه با مارگارین گزارش شده است (ایلماز و اگوتکو، ۲۰۱۴). روچا و همکاران (۲۰۱۳) با بررسی خصوصیات رئولوژیکی و حرارتی اولئوژل روغن سویا حاوی موم نیشکر و کاندلیلا به این نتیجه دست یافتند که هر دو اولئوژل تشکیل شده از موم نیشکر و کاندلیلا رفتار حرارتی مشابهی در طول فرایند کریستالیزاسیون از خود نشان می‌دهند، اما اولئوژل حاوی موم نیشکر به انرژی کمتری برای ژل شدن نیاز دارد. همچنین رفتار ذوب اولئوژل‌ها نشان داد که اولئوژل حاوی موم نیشکر به انرژی کمتری برای ذوب شدن نیاز دارد. هر دو اولئوژل از نظر رفتار رئولوژیکی مشابه یکدیگر بودند، ولی مقادیر ویسکوزیته ( $\eta$ )، مدول ذخیره و مدول افت ( $G'$  و  $G''$ ) اولئوژل تولیدی بر پایه موم کاندلیلا بالاتر ارزیابی شد. همچنین اولئوژل حاوی موم کاندلیلا مقاومت مکانیکی بالاتری به فشار و اکستروژن از خود نشان داد. تصاویر میکروسکوپی نشان داد که اولئوژل حاوی موم

بررسی امکان اصلاح ویژگی‌های فیزیکی و بافتی روغن مایع هسته انگور با استفاده از موم زنبور عسل و مونو گلیسیرید به عنوان ژلاتور پرداخته خواهد شد. در این راستا، ابتدا به مدلسازی تاثیر غلظت بر ویژگی‌های کیفی محصول پرداخته خواهد شد و در مرحله بعد، اورگانوژل منتخب از نظر ویژگی‌های کیفی با یک نمونه مارگارین تجاری مورد مقایسه قرار خواهد گرفت.

#### مواد و روش‌ها

روغن هسته انگور با نام تجاری نینا از فروشگاه محلی (اصفهان، ایران)، موم زنبور عسل از شرکت رودین (اردبیل، ایران) و مونو گلیسیرید از شرکت مرک آلمان تهیه شدند. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش، با خلوص بالا از شرکت مرک آلمان خریداری گردیدند.

#### آماده‌سازی اولئوژل روغن هسته انگور

به‌منظور تهیه ارگانوژل، مقادیر متفاوت موم زنبور عسل مطابق جدول ۱، در حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد تا ذوب شدن و شفافیت کامل نمونه‌ها همراه با هم زدن ملایم توسط همزن مغناطیسی حرارت داده شد. سپس روغن و مونوگلیسیرید به آن افزوده و کاملاً هم‌وزن گردید. جهت تشکیل کریستال، مخلوط حاصل بدون تکان دادن در دمای محیط (۲۰ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد تا خنک گردد. در نهایت نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط نگهداری شدند تا ژل پایدار تشکیل گردد (پوردوود و همکاران ۱۳۹۹؛ فیاض و همکاران ۲۰۱۷).

#### ارزیابی ویژگی‌های کیفی اولئوژل‌های تولید شده

##### مهاجرت روغن

برای اندازه‌گیری میزان مهاجرت روغن، ۱ میلی‌لیتر از نمونه ذوب شده درون لوله فالکون قرار گرفت و در سرعت  $161 \times g$  به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از آن، لوله‌ها وارونه و روغن آن طی مدت زمان ۵ دقیقه

کاندیلای شبکه ژلی ساختاریافته‌تری نسبت به اولئوژل حاوی موم نیشکر دارد. مارتینز و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که افزایش غلظت موم زنبور عسل باعث افزایش مدول ذخیره و مدول افت ( $G'$  و  $G''$ ) اولئوژل می‌شود و این امر با تشکیل شبکه قوی میان ساختار بلورین ژلاتور و فاز روغن مرتبط است. سرکوئیرا و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که با افزایش غلظت ژلاتور از ۵٪ به ۲۵٪، خواص مکانیکی و ساختار بلوری اولئوژل به‌طور قابل توجهی تغییر می‌کند. اولئوژل‌های تولید شده با تری گلیسیریدهای بلند زنجیر، استحکام بیشتری دارند و در غلظت‌های پایین ژلاتور، فرایند ژل شدن توسط آنها صورت می‌گیرد. درحالی‌که فرایند ژله‌ای شدن اولئوژل‌های تولیدی با تری گلیسیریدهای کوتاه زنجیر در غلظت‌های بالاتر ژلاتور انجام شد.

روغن هسته انگور، یکی از روغن‌هایی است که به‌دلیل میزان اسیدهای چرب اشباع پایین (۱۳-۱۰ درصد) و وجود توکوفرول‌ها و فیتواسترول‌ها ارزش تغذیه‌ای بالایی دارد. این روغن حاوی ۷۳-۶۱ درصد لینولئیک اسید، ۱۵ درصد اولئیک اسید، ۱۸-۱۰ درصد اسیدهای چرب اشباع پالمیتیک و استئاریک و حدود ۰/۶ درصد آلفا لینولنیک اسید می‌باشد. روغن هسته انگور منبع قابل توجهی از پروآنتوسیانیدین‌هاست که از گروه آنتی‌اکسیدان‌های ریپوفلاونوئیدی هستند و مصرف آنها، کاهش ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی و سرطان را موجب می‌شود. مصرف این روغن باعث کاهش سطح LDL و افزایش HDL خون می‌شود. روغن هسته انگور دارای مصارف غذایی و آرایشی و بهداشتی گسترده‌ای است (خاکباز حشمتی و همکاران ۱۳۹۸؛ لوکو-رودریگز و همکاران ۲۰۰۵). از آنجایی که ارگانوژل‌های تولید شده از روغن‌های مایع، برتری چشمگیری از نظر خواص فیزیکی نظیر پایداری حرارتی (افزایش نقطه ذوب)، تشکیل شبکه کریستالی و ایجاد بافت در محصولات غذایی چرب نسبت به حالت مایع روغن دارند (هوقس و همکاران ۲۰۰۹)، در پژوهش حاضر به

انسجام و استحکام نمونه ارزیابی شد (آفاکوآ و همکاران ۲۰۰۷).

### ارزیابی حرارتی

ویژگی‌های حرارتی نمونه‌های تهیه شده از جمله درجه حرارت و آنتالپی ذوب، در بازه دمایی ۲۰ تا ۸۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت افزایش حرارت ۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه توسط گرماسنج روبشی تفاضلی<sup>۳</sup> (DSC) اندازه‌گیری شدند (آذری‌پور و همکاران، ۲۰۱۹ و الوپی و همکاران ۲۰۱۷).

### طیف سنج مادون قرمز تبدیل فوریه

برای بررسی واکنش‌های بین مولکولی نمونه‌ها، از طیف سنج مادون قرمز تبدیل فوریه با دامنه جذبی  $\text{cm}^{-1}$  ۳۵۰-۴۰۰۰ استفاده گردید. اسپکتروفتومتر ( Nicolet-10 FTIR) مجهز به محفظه نمونه (Smart iTX ATR) برای این منظور استفاده شد. ارزیابی نمونه‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت (لوپی و همکاران ۲۰۱۷).

مقایسه ویژگی‌های فیزیکی، حرارتی و رئولوژیکی نمونه بهینه و شاهد

پس از مدل‌سازی و بررسی تأثیر متغیرهای مستقل بر تغییرات متغیرهای وابسته، نمونه‌های بهینه و شاهد از حیث ویژگی‌های فیزیکی از جمله مهاجرت روغن، نقطه ذوب، استحکام و بیشینه نیروی لازم برای اکستروژن برگشتی مطابق روش‌های ارائه شده در بندهای قبلی مورد بررسی قرار گرفتند. به‌منظور ارزیابی دقیق‌تر، خصوصیات رئولوژیکی پایا و نوسانی و ریزساختار آنها نیز مورد مطالعه و مقایسه قرار گرفت.

### تعیین ویژگی‌های رئولوژیکی

آزمون‌های رئولوژیک پایا و نوسانی با استفاده از دستگاه رئومتر مجهز به صفحات موازی انجام گرفت. در این راستا از رئومتري صفحه‌ای با قطر ۴۰ میلی‌متر که فاصله پروب با نمونه ۱ میلی‌متر از یکدیگر در نظر گرفته شد، استفاده گردید. محدوده نرخ برش مورد

خارج گردید. درصد مهاجرت روغن با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد (فیاض و همکاران ۲۰۱۷).

$$\text{رابطه ۱} \quad \text{درصد مهاجرت روغن} = \frac{\text{وزن روغن خارج شده}}{\text{وزن روغن کل}}$$

### جدول ۱- سطوح متغیرهای مستقل در تیمارهای مختلف تهیه اولئوژل

Table 1- Independent variables used for oleogel production

No. of Treatment	Independent variables	
	Beeswax	Monoglyceride
1	6.25	6.25
2	0	6.25
3	12.5	6.25
4	6.25	0
5	10.42	10.42
6	6.25	6.25
7	6.25	6.25
8	2.08	2.08
9	2.08	10.42
10	10.42	2.08
11	6.25	12.5
12	6.25	6.25
13	6.25	6.25

### بافت سنجی

ارزیابی بافت محصول بر مبنای آزمون سوراخ کردن<sup>۱</sup> و با استفاده از پروب استوانه‌ای به قطر ۱/۴ سانتی‌متر صورت گرفت. سرعت حرکت پروب ۲۵ میلی‌متر بر دقیقه، عمق نفوذ ۵ میلی‌متر و آزمون با استفاده از لودسل ۶ کیلوگرم انجام گرفت. حداکثر نیروی لازم برای نفوذ پروب به عنوان شاخص سفتی محصول بر حسب نیوتن گزارش گردید (الوپی و همکاران ۲۰۱۷).

در این راستا آزمون اکستروژن برگشتی<sup>۲</sup> با استفاده از یک دیسک ۳۵ میلی‌متری انجام گرفت. مقدار معینی از نمونه‌ها در محفظه دستگاه (به قطر ۴۵ میلی‌متر) قرار داده شدند و صفحه اکستروژن در مرکز این محفظه قرار گرفت. این صفحه با سرعت ۶۰ میلی‌متر در دقیقه تا عمق ۸۰٪ ارتفاع اولیه در داخل نمونه به حرکت درآمد و نیروی لازم برای این عمل به‌عنوان شاخصی از

<sup>3</sup>- Differential Scanning Calorimeter

<sup>1</sup>- Puncture test

<sup>2</sup>- Back Extrusion

## رابطه ۲

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

پس از تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم افزار، مدلی که دارای انحراف استاندارد (S.D.) و مجموع مربعات باقی مانده برآورد شده (PRESS) کم و ضریب همبستگی ( $R^2$ ) نزدیک به ۱ باشد، به عنوان یک مدل مناسب معرفی می‌گردد.

تجزیه آماری و مقایسه نتایج دو نمونه شاهد و بهینه، در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم افزار SAS ver: 9.0 صورت گرفت. به منظور مقایسه میانگین‌ها و بررسی معنی‌دار بودن اختلاف بین آنها، حداقل اختلاف معنی‌دار<sup>۱</sup> (LSD) در سطح اطمینان<sup>۲</sup> ۹۵ درصد ارزیابی گردید.

## نتایج و بحث

برای به‌دست آوردن مدل تجربی برای پیش‌بینی متغیرهای پاسخ (مهاجرت روغن، دمای ذوب، آنتالپی ذوب، استحکام، بیشینه نیروی لازم برای اکستروژن) ابتدا رابطه‌های چند جمله‌ای خطی، دو فاکتوری (تعاملی)، درجه دو و درجه سه بر داده‌های بدست آمده برآزش داده شدند و سپس این مدل‌ها مورد آنالیز آماری قرار گرفتند. از نظر آماری مدلی مناسب است که آزمون عدم برآزش آن معنی‌دار نبوده و دارای بالاترین ضریب تبیین و ضریب تبیین اصلاح شده باشد. نتایج نشان داد مدل مناسب برای پیش‌گویی تغییرات مهاجرت روغن، دمای ذوب، آنتالپی ذوب، استحکام، بیشینه نیروی لازم برای اکستروژن کردن اولئوژل روغن هسته انگور در اثر تغییر کمیت متغیرهای مورد بررسی (غلظت موم زنبور عسل، غلظت مونو گلیسیرید)، مدلی درجه دو با ضریب تبیین حدود 0.90 می‌باشد. نتایج تجزیه واریانس متغیرهای پاسخ در جدول ۲ آورده شده است.

مطالعه در آزمون پایا  $s^{-1}$  ۱-۰/۱ در نظر گرفته شد. در آزمون‌های نوسانی، روبش کرنش در محدوده کرنش ۰/۱۰۰-۱ درصد و فرکانس ثابت ۱ هرتز و روبش فرکانس در محدوده فرکانس ۱۰-۰/۱ هرتز و با اعمال کرنش ثابت ۰/۱٪ در محدوده خطی ویسکوالاستیک صورت گرفت (رضوانی و همکاران ۲۰۲۰؛ میرعرب رضی و همکاران ۱۳۹۸؛ لویی و همکاران ۲۰۱۳).

## بررسی ریزساختار

بررسی ریزساختار کریستال‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری پلاریزه (Leica DM 2000، ساخت کشور سوئیس)، در دمای اتاق با بزرگ‌نمایی  $200\times$  مطابق روش والویی و همکاران (۲۰۱۷) انجام گرفت.

## تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این پژوهش جهت برآورد تأثیر متغیرهای مستقل شامل غلظت موم زنبور عسل (A) و غلظت مونو گلیسیرید (B) بر ویژگی‌های کیفی اولئوژل‌های تولید شده (مهاجرت روغن، دمای ذوب، آنتالپی ذوب، استحکام و بیشینه نیروی لازم برای اکستروژن برگشتی)، از نرم افزار دیزاین اکسپرت (ver: 6.0.2 Design Expert) و روش سطح پاسخ (RSM) در قالب طرح مرکب مرکزی با ۵ نقطه مرکزی استفاده شد. جست‌وجوی شرایط عملیاتی بهینه برای دستیابی به بهترین پاسخ‌ها با استفاده از تکنیک بهینه‌سازی عددی انجام گرفت. در روش RSM برای هر متغیر وابسته مدلی تعریف می‌شود که آثار اصلی و متقابل متغیرها را بر هر فاکتور بیان می‌کند. در مدل چند متغیره نمایش داده شده در رابطه ۲، پاسخ پیش‌بینی شده  $Y$ ، ضریب ثابت  $\beta_0$ ، اثرات خطی  $\beta_a$ ،  $\beta_b$ ،  $\beta_c$ ، اثرات مربعی  $\beta_{aa}$ ،  $\beta_{bb}$ ،  $\beta_{cc}$  و اثرات متقابل  $\beta_{ab}$ ،  $\beta_{ac}$ ،  $\beta_{bc}$  می‌باشند (یاوری و همکاران ۲۰۲۲).

2- Confidence level

1- Least Significant Difference

جدول ۲- تجزیه واریانس غلظت موم زنبور و غلظت مونو گلیسرید بر ویژگی‌های فیزیکی و بافتی اولئوژل روغن هسته انگور

Table 2- Analysis of variance of beeswax and monoglyceride concentration on physical and textural characteristics of grape seed oil oleogel

Sources	Responses									
	Oil migration (%)		Melting temperature (°C)		Melting enthalpy (°C)		Firmness (N)		Back extrusion (N)	
	Df	Sum squares	Df	Sum squares	df	Sum squares	Df	Sum squares	df	Sum squares
Model	3	56.68***	5	290.07***	4	55.90***	3	1.98×10 <sup>-5</sup> ***	5	5.71×10 <sup>-6</sup> ***
A- Beeswax	1	43.29**	1	154.65***	1	19.01***	1	16750.71***	1	5.62×10 <sup>-5</sup> ***
B- Monoglyceride	1	4.08*	1	7.88***	1	26.28***	1	1.309×10 <sup>-5</sup> ***	1	4.30×10 <sup>-6</sup> ***
AB	-	-	1	62.61***	-	-	-	-	1	1.38×10 <sup>-5</sup> ***
A <sup>2</sup>	1	9.31**	1	56.84***	1	3.28***	-	-	1	37733.04***
B <sup>2</sup>	-	-	1	30.80***	1	8.94***	1	43156.77***	1	7.04×10 <sup>-5</sup> ***
Residual	9	6.88	7	1.74	8	0.014	9	5675.45	7	9896.48
Lack of fit	5	5.58 <sup>ns</sup>	3	0.87 <sup>ns</sup>	4	0.011 <sup>ns</sup>	5	5000.36 <sup>ns</sup>	3	5169.46 <sup>ns</sup>
Pure error	4	1.29	4	0.87	4	2.92×10 <sup>-3</sup>	4	675.09	4	4727.03
Cor total	12	63.56	12	291.81	12	55.91	12	1.96×10 <sup>-5</sup>	12	5.72×10 <sup>-6</sup> ***

-: Non significant effect of variable on response, \*Significant at 95%; \*\* Significant at 99%, \*\*\* Significant at 99.9%, ns= Not significant, Cor total=Corrected Total Sum of Squares.

## مهاجرت روغن

نتایج حاصل از جدول ۲ نشان می‌دهد که تغییرات متغیرهای مستقل در سطوح معنی‌داری متفاوت بر مهاجرت روغن محصول معنی‌دار است ( $P < 0.001$ ) و ( $P < 0.05$ ). مطابق نتایج جدول ۳، می‌توان گفت که با افزایش غلظت موم زنبور عسل، میزان مهاجرت روغن کاهش می‌یابد. زمانی که غلظت مناسب موم در روغن حل و سپس سرد می‌شود، توزیع و پراکندگی یکنواخت و تثبیت میکروکریستال‌ها در فاز پیوسته را موجب می‌گردد. این امر ناشی از خاصیت ژل‌کنندگی و توانایی بالقوه موم در به دام انداختن روغن درون شبکه سه بعدی می‌باشد (هوقس و همکاران ۲۰۰۹). به علاوه، موم به دلیل داشتن خاصیت امولسیون‌کنندگی و پایدارکنندگی از طریق افزایش ویسکوزیته موجب کاهش تحرک قطرات روغن شده و با تسریع فرایند کریستالیزاسیون روغن هسته انگور به کاهش میزان مهاجرت روغن اولئوژل روغن هسته انگور کمک می‌کند (باسو و همکاران ۲۰۱۰). کاهش مهاجرت روغن در غلظت مناسب مونو گلیسرید به خاصیت امولسیفایری و پایدارکنندگی مونو گلیسرید و به دنبال آن کاهش تحرک قطرات روغن، و همچنین ایجاد یک ماتریکس

کریستالی در فاز روغن که موجب افزایش گرانبوی و سختی اولئوژل می‌شود، مرتبط است (سینتانگ و همکاران ۲۰۱۷). اسحاقی و همکاران نشان دادند که استفاده از مونو گلیسرید (۱٪) به همراه لیستین، اثر قابل توجهی در جلوگیری از خروج روغن از بافت کره پسته دارد (اسحاقی و همکاران ۱۳۹۱).

## ویژگی‌های حرارتی

نتایج حاصل از جدول ۲ نشان می‌دهد که مدل درجه دوم به‌دست آمده از تغییرات دما و آنتالپی ذوب در تیمارهای مختلف معنی‌دار ارزیابی شد ( $P < 0.001$ ). بر اساس نتایج به‌دست آمده از جدول ۳ مشاهده می‌شود که با افزایش غلظت موم زنبور عسل و مونو گلیسرید دمای ذوب اولئوژل افزایش می‌یابد. افزایش آنتالپی ذوب در غلظت‌های بالاتر متغیرها نیز مشاهده می‌شود. تأثیر متقابل غلظت موم زنبور عسل و مونو گلیسرید بر تغییرات دمای ذوب محصول افزاینده ولی ضعیف‌تر از اثرات اصلی متغیرهاست ( $P < 0.001$ ) (شکل ۱- a). افزایش آنتالپی ذوب اولئوژل بدین معناست که انرژی لازم برای ذوب آن افزایش یافته است که این امر نشان دهنده مقاومت بالای اولئوژل به تغییرات دمایی می‌باشد. موم به دلیل داشتن اسیدهای چرب بلند زنجیر با نقطه

گلیسرید به افزایش میزان مواد جامد موجود در اولئوژل نسبت داده می‌شود (مارتینز و همکاران ۲۰۱۶). برخی محققان نیز گزارش کردند که افزایش درصد موم زنبور عسل از ۲٪ تا ۸٪ موجب افزایش دمای کریستالیزاسیون، دمای ذوب و آنتالپی ذوب اولئوژل می‌شود. آنها تأکید کردند که ساختار و ترکیب شیمیایی موم زنبور عسل و برهم‌کنش میان موم و فاز روغنی تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر فرایند ذوب و کریستالیزاسیون اولئوژل دارد (مارتینز و همکاران، ۲۰۱۶). صابری و همکاران (۲۰۱۲) بیان نمودند که ترکیبات مونو و دی گلیسریدی به دلیل دارا بودن گروه‌های هیدروکسیل آزاد تأثیر قابل توجهی بر افزایش نقطه ذوب مولکول دارند. نتایج مشابهی از تأثیر غلظت مونو گلیسرید بر تغییرات نقطه ذوب اولئوژل روغن مایع هسته انگور در این پژوهش مشاهده گردید.

ذوب بالا و خاصیت هیگروسکوپی، از طریق افزایش دمای انتقال شیشه‌ای و نقطه ذوب و همچنین افزایش ویسکوزیته باعث افزایش مقاومت حرارتی اولئوژل روغن می‌گردد (علی اکبری و همکاران ۱۳۹۷). تأثیر مثبت موم بر ویژگی‌های حرارتی اولئوژل (نقطه ذوب و آنتالپی ذوب) به واسطه‌ی تغییر سازوکار فرایند بلورینگی (کریستالیزاسیون)، به‌ویژه مرحله هسته‌زایی روغن می‌باشد. در حقیقت، افزودن موم به روغن سبب افزایش سرعت فرایند کریستالیزاسیون شده و وابستگی اولئوژل به تغییرات دمایی را کاهش می‌دهد (مارویاما و همکاران ۲۰۱۴). ایجاد کریستال‌های سوزنی شکل و کوچک در حضور غلظت مناسب موم‌ها دلیل اصلی افزایش سفتی، نقطه ذوب و آنتالپی ذوب اولئوژل‌ها گزارش شده است (روچا و همکاران ۲۰۱۳). همچنین افزایش آنتالپی ذوب در غلظت‌های بالاتر موم و مونو

جدول ۳- ضرایب برآورد شده مدل‌های برازش یافته بر صفات مورد مطالعه

Table 3-Coefficients of developed models on studied attributes

Coefficients	Responses				
	Oil migration (%)	Melting temperature (°C)	Melting enthalpy (°C)	Firmness (N)	Back extrusion (N)
$\beta_0$	+7.86***	+41.92***	+0.71***	-12.64***	+225.91***
$\beta_1$	-1.29***	+0.45***	-0.093***	+10.65***	-53.70***
$\beta_2$	-0.17*	+0.14***	-0.32***	-21.32***	-106.002***
$\beta_{12}$	-	-0.20***	-	-	+10.69***
$\beta_{11}$	+0.06**	+0.15***	+0.036***	-	+3.88***
$\beta_{22}$	-	+0.11***	+0.059***	+4.08***	+16.78***
R <sup>2</sup>	0.89	0.99	0.99	0.97	0.99
Lack of Fit	0.1265 <sup>ns</sup>	0.3811 <sup>ns</sup>	0.1106 <sup>ns</sup>	0.0547 <sup>ns</sup>	0.3520 <sup>ns</sup>

\*Significant at 95%; \*\* Significant at 99%, \*\*\* Significant at 99.9%, ns= Not significant.

0: y-intercept, 1: Beeswax concentration, 2: Monoglyceride

همانطور که در شکل ۱- b مشخص است، اثر متقابل متغیرها در محدوده غلظت‌های بالاتر هر دو متغیر منجر به افزایش بیشینه نیروی لازم برای اکستروژن برگشتی اولئوژل‌ها شده است. کاهش نفوذپذیری و افزایش سختی و استحکام اولئوژل همراه با افزایش غلظت ژلاتور ناشی از تجمع پیوندهای هیدروژنی در روغن در حضور ژلاتور می‌باشد. به نظر می‌رسد که مونوگلیسرید در غلظت‌های بالا از طریق کاهش ویسکوزیته و به سبب آن افزایش قابلیت تحرک ترکیبات

### ویژگی‌های بافتی

بر طبق جدول ضرایب مدل، افزایش استحکام سطحی اولئوژل‌ها با افزایش غلظت موم زنبور عسل و همچنین استفاده از غلظت‌های بالای مونو گلیسرید مشاهده می‌شود. به علاوه، بیشترین نیروی لازم برای انجام اکستروژن برگشتی که معیاری از استحکام و قوام بافت داخلی اولئوژل‌هاست، در غلظت‌های بالاتر موم زنبور عسل و مونو گلیسرید مشاهده می‌شود (جدول ۳).

مطالعه‌ای دیگر نیز مشاهده شد که افزایش غلظت اتیل سلولز از ۱۰ تا ۲۰ درصد و استفاده از پلی گلیسرول پلی ریسینولات به عنوان سورفاکتانت در تولید اولئوژل روغن کلزا منجر به تشکیل شبکه ژلی مستحکم‌تر و یکنواخت‌تر می‌شود (شریعتی و همکاران ۱۳۹۷). افزایش درصد موم آفتابگردان از ۳ تا ۷ درصد نیز موجبات افزایش استحکام ارگانوژل روغن گیاهی و تولید محصولی قابل رقابت با مارگارین تجاری را فراهم نمود (هوانگ و همکاران ۲۰۱۴).

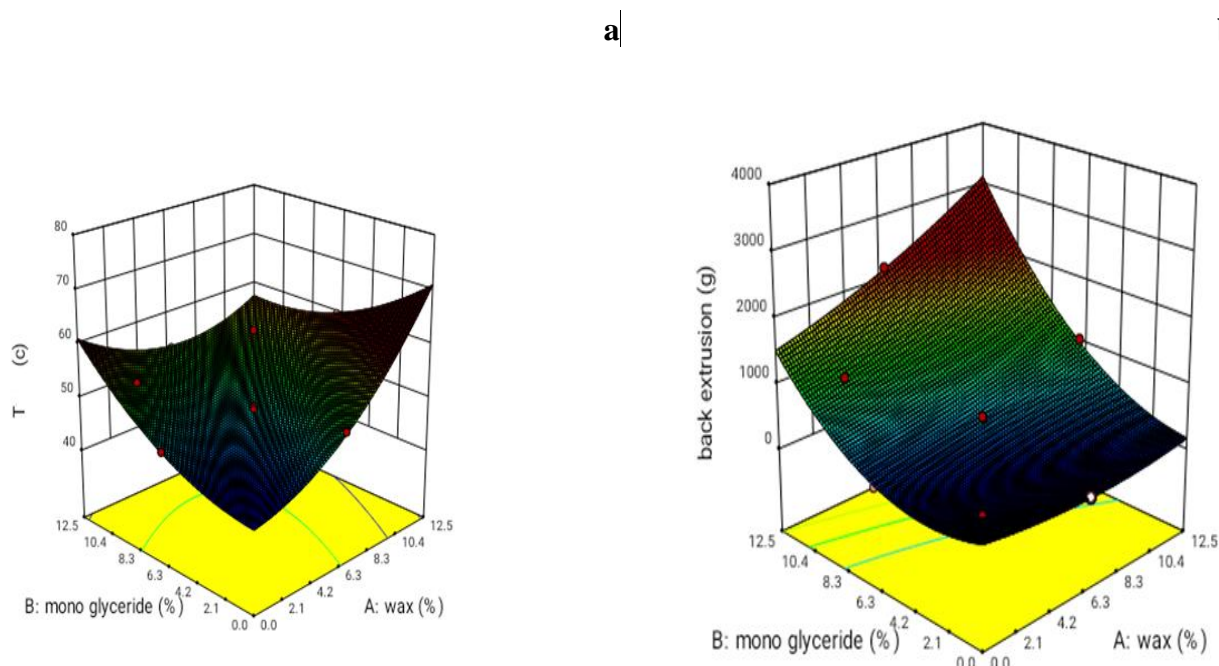
#### بهبهینه‌یابی و اعتبار سنجی مدل

بهبهینه‌یابی براساس مهم‌ترین پارامترهای فیزیکی و بافتی اولئوژل که مدلسازی آنها انجام گرفته بود (مهاجرت روغن، دمای ذوب، استحکام، بیشینه نیروی لازم برای اکستروژن برگشتی) و در نظر گرفتن ویژگی‌های کیفی یک نمونه مارگارین تجاری به عنوان شاهد صورت پذیرفت. به منظور اعتبارسنجی مدل‌های حاصل، نمونه بهینه شامل ۲/۱۰۹٪ موم زنبور عسل و ۶/۵۰۷٪ مونیو گلیسیرید تولید گردید، و درصد خطای ارزیابی هر یک از متغیرهای وابسته در شرایط آزمایشگاهی محاسبه شد. نتایج ویژگی‌های فیزیکی و بافتی نمونه اولئوژل تهیه شده و پیش‌بینی شده توسط مدل و درصد خطای برآورد هر ویژگی در جدول ۴ آورده شده است که بیانگر صحت عملکرد مدل‌های حاصل است. طیف سنجی FTIR به منظور بررسی گروه‌های عاملی اولئوژل نیز مورد بررسی قرار گرفت که در شکل ۲ نشان داده شده است.

ژل‌کننده، موجبات تشکیل شبکه کریستالی مستحکم‌تری را فراهم می‌کنند (کالیگاریس و همکاران ۲۰۱۳). به علاوه، افزایش سختی و استحکام اولئوژل در غلظت‌های بالای مونوگلیسیرید را می‌توان به قابلیت این امولسیفایر در ایجاد یک ماتریکس کریستالی در فاز روغنی که باعث کاهش سیالیت روغن می‌شود، و همچنین به برهم‌کنش میان پلیمر (موم) / امولسیفایر (مونو گلیسیرید) نسبت داد (گراول و همکاران ۲۰۱۲؛ هوانگ و همکاران ۲۰۱۳). با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق نیز می‌توان نتیجه گرفت که افزایش نقطه ذوب اولئوژل توأم با افزایش غلظت موم و مونو گلیسیرید می‌تواند یکی دیگر از دلایل افزایش سختی و استحکام اولئوژل باشد. بر طبق نتایج حاصل از اندازه‌گیری بیشینه نیروی لازم برای اکستروژن برگشتی می‌توان گفت که افزایش قدرت ژل تولیدی در غلظت‌های بالای موم و مونوگلیسیرید احتمالاً به دلیل تقویت زنجیره‌های داخلی پلیمر ناشی از تعداد بیشتر پیوندهای هیدروژنی می‌باشد (یی و همکاران ۲۰۱۷).

نتایج مطالعات پیشین در رابطه با بررسی تأثیر نوع ژلاتور (سوربیتان مونواستئارات، سوربیتان تری استئارات، گلیسیریل مونواستئارات و گلیسیریل تری استئارات) بر خواص مکانیکی اولئوژل‌های تولید شده از تری گلیسیریدهای بلند و کوتاه زنجیر نشان داده است که ژلاتورهای دارای سر هیدروفیلیک مانند سوربیتان اثر قابل توجهی بر خواص مکانیکی اولئوژل دارند. مونواستئارات نیز در تشکیل شبکه ژلی بسیار قوی و مؤثر عمل می‌کند (سرکوئیرا و همکاران ۲۰۱۷). در





شکل ۱- اثر متقابل غلظت موم زنبور عسل و مونو گلیسرید بر تغییرات دمای ذوب (a)، و بیشینه نیروی لازم برای اکستروژن برگشتی (b)

Figure 1- Effect of beeswax and monoglyceride concentrations on melting temperature (a), and required maximum force for back extrusion (b)

جدول ۴- اعتبارسنجی مدل‌های حاصل شده با استفاده از روش سطح پاسخ در پیش‌بینی ویژگی‌های فیزیکی و بافتی اولئوژل روغن هسته انگور

Table 4- Validation of developed models using the response surface method in predicting the physical and textural properties of grape seed oil oleogel

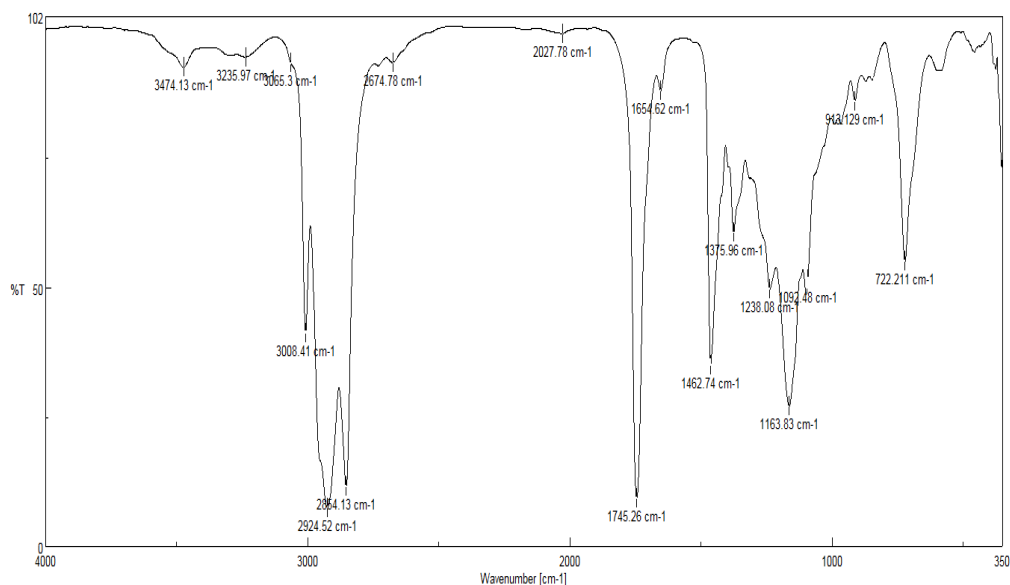
Tests	Predicted value	Experimental value	Error percentage
Oil migration (%)	11.29	10.61	6.04
Melting temperature (°C)	46.32	46.30	0.04
Firmness (N)	0.43	0.45	4.44
Maximum force for back extrusion (N)	3.84	4.87	21.14

همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، پیک‌هایی از طول موج  $350$  تا  $4000$ ، ظاهر شدند که نشان از وجود گروه‌های عاملی و عنصرهای متصل به ترکیبات شیمیایی نمونه است. خمشی ارتعاشی/نوسانی  $\text{CH}_2$ ، خمشی  $\text{CH}$ ، کششی  $\text{C=O}$ ، خمشی متقارن  $\text{CH}_3$ ، خمشی  $\text{C=C}$ ،  $\text{Cis}$ ،  $\text{CH}_2$  و  $\text{CH}_3$  به ترتیب در محدوده موج‌های  $1163$  تا  $1375$ ،  $1462$  تا  $1651$  و  $1722$  تا  $2924$ ،  $2854$  و  $1745$  به ترتیب، مربوط به ارتعاشات کششی متقارن و نامتقارن  $\text{CH}_2$  و کششی  $\text{C=O}$  می‌باشد. در اولئوژل روغن هسته انگور بیشترین شدت پیک مشاهده شده به کششی  $\text{C=O}$  و کششی متقارن و نامتقارن  $\text{CH}_2$  در محدوده‌های  $1745$ ،  $2924$  و  $2854$ ، و ضعیف‌ترین طیف مشاهده شده به خمشی  $\text{CH}$  و  $\text{Cis C=C}$  در محدوده موج‌های  $913$  و

$3008$   $\text{cm}^{-1}$  ظاهر شدند. پیک‌های تیز در محدوده موج‌های  $2924$ ،  $2854$  و  $1745$  به ترتیب، مربوط به ارتعاشات کششی متقارن و نامتقارن  $\text{CH}_2$  و کششی  $\text{C=O}$  می‌باشد. در اولئوژل روغن هسته انگور بیشترین شدت پیک مشاهده شده به کششی  $\text{C=O}$  و کششی متقارن و نامتقارن  $\text{CH}_2$  در محدوده‌های  $1745$ ،  $2924$  و  $2854$ ، و ضعیف‌ترین طیف مشاهده شده به خمشی  $\text{CH}$  و  $\text{Cis C=C}$  در محدوده موج‌های  $913$  و

روغن کانولا با کمک پلیمرهای ژلاتین و زانتان مشاهده کردند که نوارهای جذبی مربوط به ارتعاشات کششی گروه‌های زنجیره آلکیلی  $((CH_2)_n)$ ، استر، C-N، N-H و کربونیل به ترتیب در نوارهای جذبی ۱۷۲۱، ۱۱۱۶، ۱۴۵۸، ۱۵۴۱ و ۱۷۴۶ آشکار شدند. همچنین آنها گزارش نمودند که در تشکیل اولئوژل پیوندهای واندروالس نقش کلیدی دارند.

۱۶۵۴، اختصاص دارد (شکل ۲). بر اساس یافته‌های حاصل به نظر می‌رسد که پیوندهای فیزیکی می‌توانند دلیلی بر تشکیل شبکه اولئوژل و به دام انداختن روغن باشند، در نتیجه پیوندهای هیدروژنی و واندروالسی نقش اصلی را در تشکیل شبکه ژلی اولئوژل حاوی موم و مونو گلیسیرید بر عهده داشتند. عبداللهی و همکاران (۱۳۹۸) با بررسی خصوصیات اولئوژل تولیدی از



شکل ۲- نمودار طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه اولئوژل روغن هسته انگور

Figure 2- FTIR spectra of grape seed oil oleogel

تولید شده با کمک موم زنبور عسل و مونوگلیسیرید تفاوت معنی‌داری با روغن جامد (مارگارین) از نظر ویژگی‌های فیزیکی (درصد مهاجرت روغن، دمای ذوب، استحکام و بیشینه نیروی لازم برای اکستروژن برگشتی) ندارد (جدول ۵).

مقایسه ویژگی‌های فیزیکی، رئولوژیکی و ریزساختار نمونه بهینه و نمونه شاهد (مارگارین) نتایج بررسی برخی ویژگی‌های فیزیکی نمونه بهینه و شاهد نشان می‌دهد که اولئوژل روغن مایع هسته انگور

جدول ۵- مقایسه ویژگی‌های فیزیکی نمونه بهینه و شاهد

Table 5- Comparison of physical characteristics of optimal and control samples

Samples	Physical characteristics			
	Oil migration (%)	Melting temperature (°C)	Firmness (N)	Maximum force for back extrusion (N)
Optimal	10.61±0.71 <sup>a</sup>	46.30±5.66 <sup>a</sup>	0.45±0.13 <sup>a</sup>	4.87±0.39 <sup>a</sup>
Control	10.15±0.07 <sup>a</sup>	54.10±7.07 <sup>a</sup>	0.40±0.01 <sup>a</sup>	5.65±0.17 <sup>a</sup>

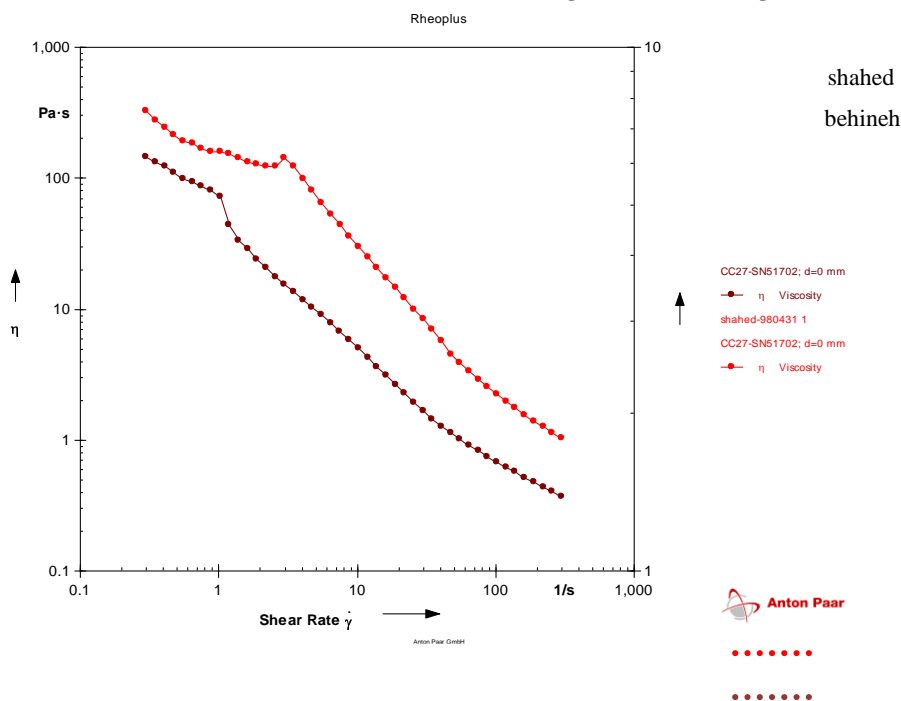
Different superscript letters indicate significant difference ( $P < 0.05$ )

Optimal sample: 2.089% beeswax and 6.303% monoglyceride, Control: Margarine

### ویژگی‌های رئولوژیکی ویسکوزیته ظاهری

بررسی ویسکوزیته ظاهری اولئوژل روغن هسته انگور و نمونه شاهد نشان داد که با افزایش نرخ برش، ویسکوزیته ظاهری هر دو نمونه کاهش می‌یابد. به عبارتی نمونه‌ها در مجاورت اعمال تنش رفتار رقیق شونده با برش (سودوپلاستیک) را نشان می‌دهند. علت بروز این رفتار، هم‌راستا شدن مولکول‌ها در راستای محور حرکت و کاهش اصطکاک داخلی آنها با افزایش سرعت برشی است (آمینگو و همکاران ۲۰۰۹). وجود مونوگلیسرید با دارا بودن خواص امولسیفایری و پایدارکنندگی در اولئوژل و افزایش گرانشی فاز روغنی به موجب عملکرد ترکیبات مومی، افزایش سختی ژل و

دور شدن آن از حالت نیوتنی به شبه پلاستیکی را موجب می‌شود (لوکومسو آلتی و آک ۲۰۰۵). در شکل ۳، تغییرات ویسکوزیته ظاهری اولئوژل روغن هسته انگور و مارگارین در سرعت‌های برشی مختلف نمایش داده شده است. با توجه به شکل، با اعمال سرعت برشی بالاتر، ویسکوزیته ظاهری اولئوژل و مارگارین کاهش پیدا کرده است. تغییرات ویسکوزیته ظاهری اولئوژل و مارگارین در سرعت‌های برشی مختلف از روند نسبتاً مشابهی پیروی می‌کنند، هرچند مارگارین تجاری در مقایسه با اولئوژل روغن هسته انگور مقادیر ویسکوزیته بالاتری را در سرعت‌های برشی مختلف نشان می‌دهد که مؤثر از حضور اسیدهای چرب اشباع در ایجاد بافت و ساختار محصول است.



شکل ۳- نمودار تغییرات ویسکوزیته ظاهری- سرعت برشی اولئوژل و مارگارین  
Figure 3- Viscosity-shear rate changes of oleogel and margarine

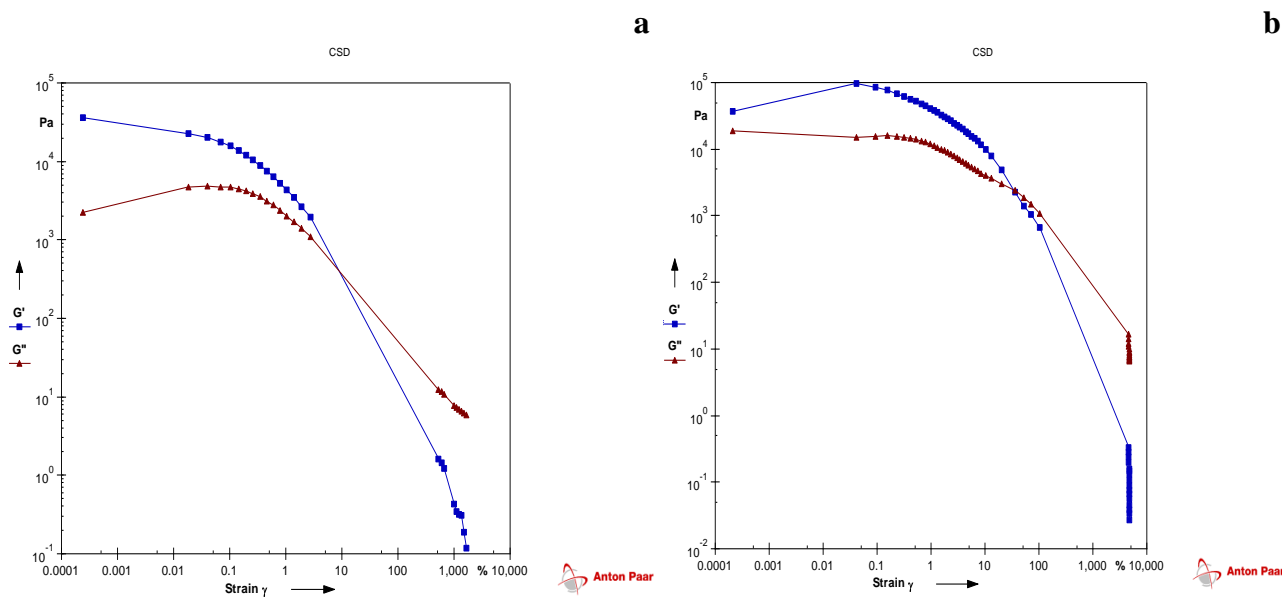
### رویش کرنش

آزمون رویش کرنش در اندازه‌گیری خواص ویسکوالاستیک مواد غذایی از اهمیت زیادی برخوردار است. برای تعیین محدوده ویسکوالاستیک خطی، در

مقادیر فرکانس معین، منحنی  $G'$  (مدول الاستیک) و  $G''$  (مدول ویسکوز) بر حسب افزایش دامنه کرنش رسم شده است (شکل ۴). همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود در نمونه اولئوژل و مارگارین مقادیر مدول الاستیک از

محدوده تنش اعمال شده برای تمامی اولئوژل‌ها، مقادیر  $G'$  بزرگتر از  $G''$  به دست آمد که نشان دهنده رفتار الاستیک اولئوژل‌ها می‌باشد. به علاوه، در تمامی اولئوژل‌ها با افزایش تنش ابتدا مقدار  $G'$  ثابت ماند ولی در تنش‌های بالاتر روند کاهشی آن مشاهده شد که بیانگر شکسته شدن ساختار اولئوژل در تنش‌های بالاتر می‌باشد. همچنین آنها اذعان داشتند که ناحیه ویسکوالاستیک خطی برای اولئوژل‌های حاوی لیستین، توئین-۸۰ و پروتئین آب پنیر کوچکتر از ناحیه ویسکوالاستیک خطی اولئوژل حاوی صمغ لوکاست بود و این اولئوژل‌ها به تنش اعمال شده حساس‌تر بودند که این امر می‌تواند به دلیل برهم‌کنش قطرات در فصل مشترک روغن-آب و ناپایداری بیشتر امولسیون باشد. نتایج پالا و همکاران (۲۰۱۴) نیز نشان داد که مقادیر  $G'$  و  $G''$  اولئوژل روغن آفتابگردان با افزایش سطوح مونو گلیسریدها افزایش یافت و از نظر خصوصیات ویسکوالاستیک تا حدودی مشابه با شورتینگ‌های تجاری گردید.

مدول ویسکوز بیشتر می‌باشد که این مطلب حاکی از آن است که هر دو نمونه دارای خواص شبه جامد هستند. همچنین با افزایش کرنش، مقادیر  $G'$  و  $G''$  نمونه‌ها هر دو نمونه وارد فاز غیرخطی ویسکوالاستیک می‌شوند. نقطه تلاقی  $G'$  و  $G''$ ، نقطه‌ای است که نمونه از فاز خطی ویسکوالاستیک خارج شده و کرنش در این نقطه نشان دهنده حداکثر کرنشی است که نمونه می‌تواند تحمل کند و همچنان در فاز ویسکوالاستیک خطی باشد. مقادیر  $G'$  و  $G''$  در این نقطه بیانگر میزان قوت خصوصیات ویسکوالاستیک نمونه است (مارتینز و همکاران ۲۰۱۶). مطابق نتایج این پژوهش، کرنش تلاقی و مقادیر مدول ویسکوز و الاستیک اولئوژل در مقایسه با مارگارین کمتر ارزیابی شد. مطالعات متعدد نشان داده است که نوع عامل ژل کننده تأثیر زیادی بر خواص ویسکوالاستیک اولئوژل می‌گذارد. در همین رابطه اسپرت و همکاران (۲۰۲۲) گزارش نمودند که رفتار ویسکوالاستیک اولئوژل برپایه صمغ زانتان حاوی عوامل ساختاردهنده مختلف از جمله لیستین سویا، صمغ لوکاست، توئین-۸۰ و پروتئین آب پنیر در محدوده تنش اعمال شده متفاوت است. در



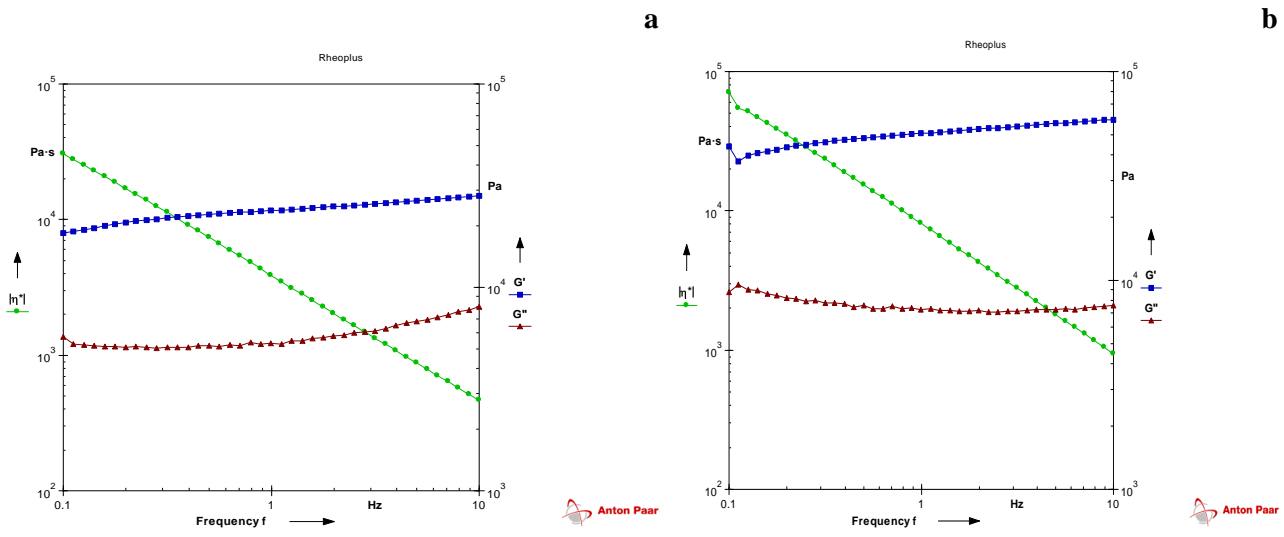
شکل ۴- مدول ویسکوز ( $G''$ ) و الاستیک ( $G'$ ) اولئوژل روغن هسته انگور (a) و نمونه شاهد (b)

Figure 4- Viscous ( $G''$ ) and elastic ( $G'$ ) modulus of grape seed oil oleogel (a) and margarine (b)

### رویش فرکانس

آزمون رویش فرکانس یکی از متداول‌ترین آزمون‌های نوسانی است که برای بررسی رفتار ویسکو الاستیک مواد به کار می‌رود. طبق نتایج ارائه شده در شکل ۵، در هر دو نمونه اولئوژل و مارگارین، مدول الاستیک بیش از مدول ویسکوز است و ساختار ویسکو الاستیک جامد در نمونه‌ها ملاحظه می‌گردد. وجود موم با ایجاد شبکه کریستالی در روغن و بهبود این ساختار در حضور مونوگلیسریدها موجب تبدیل ساختار کاملاً مایع روغن هسته انگور به بافتی نیمه جامد و ویسکو الاستیک شده است. با اعمال فرکانس‌های بالاتر، مدول‌های الاستیک و کمپلکس افزایش و ویسکوزیته کمپلکس کاهش می‌یابد. با

توجه به مشاهدات به دست آمده از شکل ۵، مدول الاستیک، مدول کمپلکس و ویسکوزیته کمپلکس اولئوژل نسبت به مارگارین کمتر است. بنابراین اگرچه از نظر خصوصیات فیزیکی تفاوت چندانی میان این دو نمونه مشاهده نمی‌شود، مارگارین خواص ویسکو الاستیک قوی‌تری در مقایسه با اولئوژل روغن هسته انگور دارد. علت این مشاهده، حضور مقادیر بالای اسیدهای چرب اشباع و همچنین ساختار کریستالی مارگارین جامد است. در واقع بالا بودن مدول‌های الاستیک و ویسکوز در مارگارین مؤید آن است که تجمعات کریستال‌های چربی در این روغن مانع از حرکت انتقالیو از این رو، بروز رفتار ویسکو الاستیک شبه جامد در مارگارین می‌شود (چئونگ و همکاران ۲۰۰۹).



شکل ۵- نمودار تغییرات مدول‌های الاستیک و ویسکوز و ویسکوزیته کمپلکس اولئوژل روغن هسته انگور (a) و نمونه شاهد (b)

Figure 5- Elastic modulus, viscous modulus and complex viscosity of grape seed oil oleogel (a) and margarine (b)

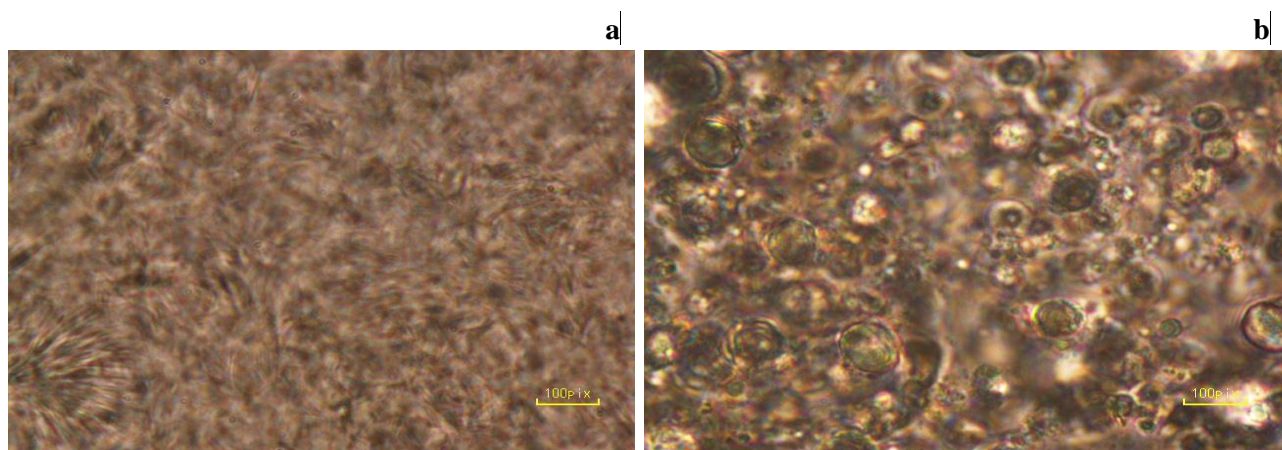
### ساختار میکروسکوپی

همانطور که در شکل ۶ ملاحظه می‌شود اولئوژل روغن مایع هسته انگور دارای شبکه کریستالی با اندازه ذرات کوچک‌تر و توزیع یکنواخت‌تر نسبت به نمونه شاهد (مارگارین) است. تشکیل شبکه‌ای با کریستال‌های

کوچک‌تر در اولئوژل روغن مایع هسته انگور در مقایسه با نمونه شاهد، بیانگر واکنش‌های قوی بین مولکولی است که می‌تواند موجب افزایش سختی و نقطه ذوب محصول شود (روچا و همکاران ۲۰۱۳). در واقع، حضور موم در اولئوژل با تشکیل تعداد هسته‌های اولیه

ساختار شبکه ژلی ایفا می‌کند (زتلی و همکاران ۲۰۱۴). در مطالعات انجام شده در گذشته نیز، اندازه کریستال‌ها در اولئوژل روغن زیتون تولید شده با استفاده از موم زنبور عسل و واکس آفتابگردان در مقایسه با مارگارین کمتر گزارش شده است (ایلماز و اگوتکو ۲۰۱۴).

زیاد موجب کاهش رشد هسته‌ها و اندازه کوچک‌تر کریستال‌ها می‌شود، و مونو گلیسیرید نیز با کاهش قطر ذرات و توزیع یکنواخت آنها و همچنین کاهش چسبندگی ذرات، شبکه‌ی ژلی یکنواخت و همگنی را ایجاد می‌کند. به‌طور کلی، تعادل میان برهم‌کنش‌های پلیمر (موم)- روغن، و پلیمر (موم)- امولسیفایر نقش اساسی در



شکل ۶- تصاویر میکروسکوپ نوری پلاریزه اولئوژل روغن هسته انگور (a) و نمونه شاهد (b)  
Figure 6- Polarized light microphotographs of grape seed oil oleogel (a) and control sample (b)

در غلظت‌های بالاتر موم و مونو گلیسیرید مشاهده شد. با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان بیان نمود که مقادیر ۲/۰۸۹٪ موم زنبور عسل و ۶/۳۰۳٪ مونوگلیسیرید سطوح مناسبی برای تولید اولئوژل روغن مایع هسته انگور با ویژگی‌های فیزیکی و بافتی مشابه با مارگارین می‌باشد. ارزیابی و مقایسه خصوصیات رئولوژیکی نمونه بهینه و شاهد نشان داد که ویسکوزیته ظاهری اولئوژل و مارگارین با افزایش سرعت برشی کاهش یافت که همین امر نشان دهنده رفتار سودوپلاستیک نمونه‌ها می‌باشد. بالاتر بودن مدول‌های الاستیک و ویسکوز مارگارین نسبت به اولئوژل تولیدی نیز بیانگر قوی‌تر بودن خواص ویسکوالاستیک مارگارین نسبت در مقایسه با اولئوژل روغن هسته انگور است. بررسی ساختار میکروسکوپی نمونه‌ها حاکی از ایجاد شبکه کریستالی سوزنی دارای کریستال‌های کوچک‌تر و با توزیع یکنواخت‌تر در

### نتیجه‌گیری

ضرورت حذف روغن‌های هیدروژنه و جایگزینی چربی‌های سالم‌تر با حداقل میزان اسیدهای چرب اشباع و ترانس، محققان و شرکت‌های تولید کننده را در چالشی برای شناسایی و جایگزینی روش‌های مناسب تولید روغن‌ها و چربی‌های سالم‌تر با پایداری بالاتر قرار داده است. لذا در این تحقیق، امکان تولید اولئوژل روغن مایع هسته انگور با کمک موم زنبور عسل و مونوگلیسیرید که دارای خواص فیزیکی و بافتی مشابه با مارگارین تجاری باشد، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به‌دست آمده حاکی از تأثیر معنی‌دار غلظت موم زنبور عسل و مونو گلیسیرید بر ویژگی‌های فیزیکی و بافتی اولئوژل بود. به‌طوریکه با افزایش غلظت موم زنبور عسل و مونوگلیسیرید میزان مهاجرت روغن کاهش و نقطه ذوب و سختی اولئوژل افزایش یافت. همچنین افزایش نیروی لازم برای اکستروژن برگشتی

اولئوژل در مقایسه با مارگارین بود. در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که اولئوژل تولیدی با استفاده از سطوح مناسب موم زنبور عسل و مونوگلیسرید،

### منابع مورد استفاده

- اسحاقی م ر، سیدین اردبیلی س م، کلباسی اشتری الف و گرامی ع، ۱۳۹۱. بررسی ویژگی‌های رئولوژیکی، حسی و خروج روغن از بافت کره‌ی کنجد. نشریه آب و خاک علوم کشاورزی، ۲۹، ۷۰۸-۷۱۷.
- پورداوود ز، عباسی ه، ۱۳۹۹. بهینه‌سازی تولید ارگانوژل روغن کتجد و تاثیر آن بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و کیفی سوهان. نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، ۹(۲)، ۱-۱۶.
- خاکباز حشمتی م، باستانی ع، پزشکی الف و جعفرزاده مقدم م، ۱۳۹۸. ارزیابی پروفایل اسید چرب، ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و آنتی‌اکسیدانی ترکیب روغن‌های هسته انگور و کنجد. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۹، ۲۱۰-۱۹۵.
- شریعتی ف، آزادمراد میرچی ص و شیرانی راد الف، ۱۳۹۷. تولید اولئوژل از روغن کلزا با استفاده از مخلوط اتیل سلولز و پلی‌گلیسرول پلی‌رسینولات. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۸۱، ۷۷-۸۵.
- عبداللهی م، گلی س الف، سلطانی‌زاده ن، ۱۳۹۸. بررسی خصوصیات اولئوژل تولیدی به روش غیر حرارتی با استفاده از زیست‌پلیمرهای ژلاتین و زانتان و غنی‌سازی آن با ویتامین D. علوم و صنایع غذایی، ۸۹، ۲۶۱-۲۴۹.
- علی اکبری ف، آصفی ن و یگانه زاد س، ۱۳۹۷. تأثیر ژلاتین و نشاسته ذرت بر مقاومت حرارتی، بافتی و ویژگی‌های حسی شکلات شیری. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۲، ۱۰۶-۹۹.
- میرعرب رضی س، معتمدزادگان ع، شهیدی س الف و رشیدی نژاد ع، ۱۳۹۸. تأثیر آلومین تخم مرغ بر ویژگی‌های فیزیکی، رئولوژیکی و ریز ساختاری امولسیون روغن در آب تولیدی توسط اولتراسوند. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۹، ۸۲-۷۱.
- Afoakwa EO, Paterson A and Fowler M, 2007. Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate: a review. *Trends in Food Science & Technology* 18: 290-298.
- Aminigo ER, Metzger L and Lehtola PS, 2009. Biochemical composition and storage stability of a yogurt-like product from African yam bean (*Sphenostylis stenocarpa*). *International Journal of Food Science and Technology* 44(7): 560-566.
- Azaripour A, Abbasi H. 2019. Effect of type and amount of modified corn starches on qualitative properties of low-protein biscuits for phenylketonuria. *Food Science and Nutrition* 8, 281-290.
- Basso RC, Ribeiro APB, Masuchi MH, Gioielli LA, Goncalves LAG, dos Santos AO, Cardoso LP and Grimaldi R, 2010. Tripalmitin and monoacylglycerols as modifiers in the crystallisation of palm oil. *Food Chemistry* 122: 1185-1192.
- Calligaris S, Mirolo G, Da Pieve S, Arrighetti G and Nicoli MC, 2014. Effect of Oil Type on Formation, Structure and Thermal Properties of  $\gamma$ -oryzanol and  $\beta$ -sitosterol-Based Organogels. *Journal of Food Biophysics* 9: 69-75.
- Cerqueira MA, Fasolin LH, Picone CSF, Pastrana LM, Cunha RL and Vicente AA, 2017. Structural and mechanical properties of organogels: Role of oil and gelator molecular structure. *Journal of Food Research International* 96: 161-170.
- Cheong LZ, Tan CP, Long K, Suria Affandi Yusoff M and La OM, 2009. Physicochemical, Textural and Viscoelastic Properties of Palm Diacylglycerol Bakery Margarine During Storage. *The Journal of the American Oil Chemists' Society* 86(9): 723-731.
- Esper M, Hernandez MJ, Sanz T and Salvador A, 2022. Rheological properties of emulsion templated oleogels based on xanthan gum and different structuring agents. *Current Research in Food Science* 5: 564-570.



- Fayaz G, Goli SAH, Kadivar M, Valoppi F, Barba L, Balducci C, Conte L, Calligaris S and Nicoli MC, 2017. Pomegranate seed oil organogels structured by propolis wax, beeswax and their mixture. *European Journal of Lipid Science and Technology* 119(10).
- Gravelle AJ, Barbut SH and Marangoni AG, 2012. Ethylcellulose oleogels: Manufacturing considerations and effects of oil oxidation. *Food Research International* 48(6): 578–583.
- Hughes NE, Marangoni AG, Wright AJ, Rogers MA and Rushd JWE, 2009. Potential food applications of edible oil organogels. *Journal of Trends in Food Science & Technology* 20: 470-480.
- Hwang HS, Singh M, Bakota EL, Winkler-Moser JK, Kim S and Liu SX, 2013. Margarine from Organogels of Plant Wax and Soybean Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 90(11): 1705–1712.
- Hwang HS, Singh M, Winkler-Moser JK, Bakota EL and Liu SX, 2014. Preparation of Margarines from Organogels of Sunflower Wax and Vegetable Oils. *Journal of Food Science* 79: 1926-1932.
- Lokumcu Altay F and Mehmet Mak, 2005. Effects of temperature, shear rate and constituents on rheological properties of tahin (sesame paste). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85: 105–111.
- Lupi FR, Gabriele D, Greco V, Baldino N, Seta L and de Cindio B, 2013. A rheological characterisation of an olive oil/fatty alcohols organogel. *Journal of Food Research International* 51: 510-517.
- Lupi FS, Shakeel A, Greco V, Baldino N, Calabro V and Gabriele D, 2017. Organogelation of extra virgin olive oil with fatty alcohols, glyceryl stearate and their mixture. *Journal of Food Science and Technology* 77(8): 422-429.
- Luque-Rodriguez JM, Luque de Catro MD and Perez-Juan P, 2005. Extraction of fatty acids from grape seed by superheated hexane. *Journal of Talanta* 68(1): 126–130.
- Martins AJ, Cerqueira MA, Fasolinc LH, Cunha RL and Vicente AA, 2016. Beeswax organogels: Influence of gelator concentration and oil type in the gelation process. *Journal of Food Research International* 84: 170–179.
- Maruyama JM, Soares FASM, D'Agostinho NR, Gonalves MIA, Gioielli LA and da Silva RC, 2014. Effects of Emulsifier Addition on the Crystallization and Melting Behavior of Palm Olein and Coconut Oil. *Journal of American Chemical Society Agric. Food Chemistry* 62(11): 2253–2263.
- Mattice KD and Marangoni AG, 2018. Oleogels in Food. *Encyclopedia of Food Chemistry* 255-260.
- Palla CA, Carrin ME and Genovese DB, 2014. Rheological and textural properties of oleogels based on high oleic sunflower oil and a commercial emulsifier mixture. *International Conference on Food Innovation* 2014.
- Pehlivanoglu H, Demirci M, Toker OS, Konar N, Karasu S and Sagdic O, 2018. Oleogels, a promising structured oil for decreasing saturated fatty acid concentrations: Production and food-based applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 58: 1330-1341.
- Rezvani F, Abbasi H, Nourani M, 2020. Effects of protein–polysaccharide interactions on the physical and textural characteristics of low-fat whipped cream. *Journal of Food Processing and Preservation* 44(10): 1-12.
- Rocha JCB, Lopes JD, Mascarenhas MCN, Arellano DB, Guerreiro LMR and da Cunha RL, 2013. Thermal and rheological properties of organogels formed by sugarcane or candelilla wax in soybean oil. *Journal of Food Research International* 50: 318–323.
- Saberi A, Lai OM and Miskandar M, 2012. Melting and Solidification Properties of Palm-Based Diacylglycerol, Palm Kernel Olein, and Sunflower Oil in the Preparation of Palm-Based Diacylglycerol-Enriched Soft Tub Margarine. *Food and Bioprocess Technology* 5: 1674-1685.
- Sintang MDB, Rimaux T, de Walle DV, Dewettinck K and Patel AR, 2017. Studying the oil structuring properties of monoglycerides and phytosterols Mixtures. *European Journal of Lipid Science and Technology* 119(3).
- Tarrago-Trani MT, Philips KM, Lemar LE and Holden M, 2006. New and existing oils and fats used in products with reduced trans-fatty acid content. *Journal of the American Dietetic Association* 106(6): 867-880.



- Valoppi F, Calligaris S, Barba L, Segatin N, Ulrich NP and Nicoli MC, 2017. Influence of oil type on formation, structure, thermal, and physical properties of monoglyceride-based organogel. *European Journal of Lipid Science and Technology* 119(2): 1-10.
- Yavari P, Abbasi H, 2022. Effects of nanoemulsion edible coatings containing Aloe vera gel and Oregano (*Mentha longifolia*) oil and application of UV-C irradiation on the physicochemical properties of lentil sprout during cold storage. *Journal of Food Measurement and Characterization* 16:805–818.
- Yi B, Kim MJ, Lee SY and Lee J, 2017. Physicochemical properties and oxidative stability of oleogels made of carnauba wax with canola oil or beeswax with grapeseed oil. *Food Science and Biotechnology* 26: 79-87.
- Yılmaz E and Ogutcu M, 2014. Comparative Analysis of Olive Oil Organogels Containing Beeswax and Sunflower Wax with Breakfast Margarine. *Journal of Food Science* 79: 1933-1938.
- Zetzi AK, Gravelle AJ, Kurylowicz M, Dutcher J, Barbut SH and Marangoni AG, 2014. Microstructure of ethylcellulose oleogels and its relationship to mechanical. *Journal of properties food structure* 2: 27–40.



Journal of Food Research, 2022,32(4):37-55  
<https://foodresearch.tabrizu.ac.ir>

OPEN ACCESS

© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran  
This is an open access article under the CC BY NC license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/>)

DOI: 10.22034/FR.2022.47244.1798

## Optimization of grape seed oil Oleogel production using beeswax and monoglyceride

S Ghalamkari<sup>1</sup> and H Abbasi<sup>2\*</sup>

Received: July 30, 2021 Accepted: April 20, 2022

<sup>1</sup>Graduated MSc Student. Department of Food Science and Technology, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

<sup>2</sup>Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

\*Corresponding author: [h.abbasi@khuisf.ac.ir](mailto:h.abbasi@khuisf.ac.ir)

**Introduction:** Solid fats such as shortening and margarine have been extensively utilized in the food industry since they play important roles in the quality attributes by providing a unique texture, flavor, and aroma. It is however well-recognized that large intakes of solid fats may cause a variety of adverse health effects such as risk of cardiovascular diseases due to their high levels of saturated fatty acids and also possible presence of trans fatty acids. Therefore, solid fat replacers with low saturated fatty acids and the same qualities to the original saturated fats are necessary. In recent years, research dealing with oleogelation has considerable interest from the researchers in the food sciences (Park et al., 2018). Oleogels can be formed by the self-assembly of organogelators into three-dimensional networks that entrap an organic liquid through capillary forces. They can be produced due to physical forces and chemical interactions depending on the kind of gelators (Cerqueira et al., 2017). Different substances such as lecithin, sorbitan tristearate, monoacylglycerides, a mixture of phytosterol and oryzanol, ricinelaidic acid, fatty acids, fatty alcohols, 12-hydroxystearic acid, wax esters, and waxes can be produced oleogels with edible oils. Organogels as fat mimetics were suitable in different foods, such as ice cream, cookies, sweet bread, frankfurters, and heat resistant chocolate (Valoppi et al., 2017). Beeswax like other waxes is able to play as an edible gelator for producing different edible oils. Beeswax is a complex mixture of chemical compounds predominantly based in straight-chain monohydric alcohol compounds with carbon chains from C<sub>24</sub> to C<sub>36</sub> and straight-chain acids with carbon skeletons of up to C<sub>36</sub>, including some C<sub>18</sub> hydroxyl acids that can be esters, diesters and triesters. Beeswax organogels have ability of aroma maintenance successfully (Martines et al., 2016). Monoglycerides are lipid molecules consisting of a fatty acid esterified to the hydroxyl group at the glycerol backbone. The use of monoglycerides as structuring agents have gained significant interest due to their ability to gelation of aqueous and non-aqueous solvents based on the potential of monoglycerides to crystallize and cocrystallize either in the bulk phase or at the interfaces. Generally, the crystallization of fatty acid alkyl chain can be achieved either through supersaturation or supercooling of the monoglycerides in oil dispersions (Sintang et al., 2016). The aim of this study was to investigate the production of oleogels from grape seed oil using beeswax as oleogelator, and monoglyceride as surfactant.

**Materials and methods:** Refined grape seed oil was purchased from the local market (Isfahan, Iran), and beeswax and monoglyceride was obtained from Merck Co. All other chemicals and solvents were of analytical grade and purchased from Merck Co. and Sigma Aldrich. Oleogels were prepared by mixing grape seed oil with beeswax and monoglyceride. The mixtures were heated at 80 °C in a water bath for at least 10 min to completely dissolve waxes. After that time, the samples were stored at 20 °C for 24 h to form gel and kept at this temperature up to perform the analyses. In this study, the effect of beeswax (0, 0.8, 6.15, 8.6, 10.42, 12.5%) and monoglyceride (0, 0.8, 6.15, 8.6, 10.42, 12.5%) on oil migration, melting point, melting enthalpy, firmness and maximum force for back extrusion of grape seed oil oleogels was investigated using Response Surface Methodology and Design Expert in the form of a central composite design with 5 central points. Optimum and control (margarine) samples were evaluated and compared in terms of physical and textural properties (oil migration, melting point, firmness, maximum force for back extrusion), rheological properties, and polarized light microscopy using SAS ver: 9.0 software. Oil migration of samples were determined according to Fayaz et al (2017). Organogel firmness was measured by a puncture test at 20 °C using an Instron 4301 Universal Testing machine. The rheological analyses were performed according to method described by Lupi et al (2013). The infrared spectra of the organogels were analyzed using FT-IR Spectrophotometer. The samples were scanned in the range of 350 to 4000  $\text{cm}^{-1}$ . Micrographs of organogels were obtained under polarized light optical microscope connected with a Leica EC3 digital camera.

**Results and discussion:** The results of this study showed that the beeswax and monoglyceride concentrations had a significant effect on the physical and textural properties of grape seed oil oleogel, so that by increasing the concentration of beeswax and monoglyceride, the oil migration and melting point of oleogels decreased and increased, respectively. An increasing in melting enthalpy, firmness and maximum force for back extrusion were observed in higher levels of beeswax and monoglyceride. The interaction effect of beeswax and monoglyceride concentration in increasing the melting point was weaker than their independent effects. The interaction effect of beeswax and monoglyceride concentration at their higher levels increased the maximum force for back extrusion. Optimal conditions for the production of grape seed oil oleogel with physical and textural properties similar to margarine were 2.1% beeswax and 6.3% monoglyceride. The results of FTIR showed hydrogen bonding have been effective in forming a gel network of grape seed oil by trapping oil droplets. Oleogel and control sample had no significant difference in terms of oil migration, melting point, firmness and maximum force for back extrusion ( $P>0.05$ ). Evaluation of rheological properties revealed that, by increasing shear rate, apparent viscosity of the oleogel and control samples decreased, which presented the pseudoplastic behavior of samples. The elastic modulus ( $G'$ ), of oleogel and control samples were higher than viscous modulus ( $G''$ ) in evaluated frequency range. The elastic modulus, complex modulus and complex viscosity of oleogel were lower than them in margarine. Therefore, margarine had more solid-like properties than the grape seed oil oleogel. Microstructure examination showed the formation uniform and stronger gel network with smaller crystals in oleogel compared to the control sample.

**Conclusion:** According to the results of the present study, it can be concluded that the use of appropriate concentrations of beeswax and monoglyceride can produce of a structured edible oil with physical and textural properties similar to commercial margarine. So, it selected as a substitute for margarine and shortening, and can be used in producing of healthy food products.

**Keywords:** Beeswax, Grape seed oil, monoglyceride, Oil migration, Oleogels, Rheological properties