

STRUKTURA MIKROKAPSULEK ESTRÓW ETYLOWYCH OLEJU ROŚLINNEGO

Fabian Dajnowiec, Aleksander Kubiak, Lidia Zander, Paweł Banaszczyk

Wydział Nauki o Żywności, Katedra Inżynierii i Aparatury Procesowej
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
ul. Oczapowskiego 7, 10-711 Olsztyn
e-mail: kiap@uwm.edu.pl

Streszczenie. Podjęto próbę scharakteryzowania makrostruktury cząstek proszku i struktury wewnętrznej mikrokapsulek estrów etylowych oleju roślinnego otrzymywanych metodą suszenia rozpryskowego w warunkach laboratoryjnych i przemysłowych. Z wykorzystaniem techniki komputerowej analizowano mikrofotografie proszków otrzymane za pomocą elektronowego mikroskopu skaningowego. Stwierdzono duży zakres zmian wielkości cząstek, w przedziale 3,9-124,8 μm , z przewagą cząstek poniżej 40 μm . Elementy struktury wewnętrznej miały średnice w zakresie 0,141-1,915 μm , odpowiadające średnicom kropeł fazy olejowej w emulsjach przed suszeniem. W obu przypadkach rozkład wielkości mierzonych elementów obrazu był logarymiczno-normalny. Wykazano, że różne warunki preparowania emulsji i suszenia rozpryskowego prowadzą do istotnych statystycznie różnic parametrów struktury cząstek – zarówno zewnętrznej, jak i wewnętrznej. Stwierdzono konieczność korelowania parametrów charakteryzujących strukturę mikrokapsulek ze strukturą emulsji i innymi właściwościami proszków.

Słowa kluczowe: emulsja, mikrokapsułka, analiza obrazu, rozkład wielkości cząstek

WSTĘP

Dietetycy i żywieniowcy wciąż poszukują nowych, niekonwencjonalnych surowców roślinnych bogatych w substancje biologicznie aktywne, które umożliwiłyby wzbogacenie codziennej diety w cenne składniki pokarmowe (Guil-Guerrero i in. 2003, Coupland i Hebard 2002, Surette i in. 2003). Do takich surowców należą tłuszcze roślinne i otrzymywane z nich estry kwasów tłuszczowych. Ze względu na mało atrakcyjne właściwości sensoryczne i dużą podatność na utlenianie, zwłaszcza nienasyconych kwasów tłuszczowych, jak również w celu zwiększenia dostępności takich składników oraz możliwości stosowania

w charakterze dodatków w różnych produktach, konieczne jest zamknięcie ich w mikrokapsułkach. Niemal w każdym przypadku dla zamykanej w mikrokapsułce substancji należy dobrać odpowiednie składniki zarówno stabilizujące emulsję, jak również tworzące otoczkę ochronną podczas suszenia (Kim i in. 2003).

Zróznicowane właściwości fizykochemiczne różnych olejów wymagają indywidualnego doboru składników otoczki, bądź matrycy mikrokapsułki, co wpływa na fizyczne właściwości i strukturę wewnętrzną finalnego produktu. Wynika stąd potrzeba opracowania metodyki oceny samych mikrokapsulek, jak również ich struktury wewnętrznej. Celem niniejszej pracy było określenie możliwości dokonania ilościowej oceny cech geometrycznych i struktury wewnętrznej otrzymywanych metodą suszenia rozpryskowego mikrokapsulek estrów etylowych kwasów tłuszczowych.

MATERIAŁY I METODY

Materiał do badań stanowiły mikrokapsułki, otrzymane metodą suszenia rozpryskowego emulsji estrów etylowych oleju roślinnego. Mikrokapsułkowana emulsja zawierała: koncentrat białek mleka MPC 75, niskoscukrzoną maltodekstrynę (DE 7-13%), estry oleju roślinnego (faza olejowa) i wodę. Skład emulsji podano w tabeli 1.

Tabela 1. Skład emulsji poddawanej suszeniu rozpryskowemu
Table 1. Composition of emulsions subjected to spray drying

Test	Woda Water (g·100g ⁻¹)	Maltodekstryna Maltodextrin (g·100g ⁻¹)	Koncentrat białek mleka Milk protein concentrate (g·100g ⁻¹)	Faza olejowa Oil phase (g·100g ⁻¹)	pH
L1	70	15,9	3,9	10,2	6,73
L2	70	15,9	3,9	10,2	7,02
P1	70	10,2	10,2	9,6	6,48

Proces mikrokapsułkowania przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych (próba L1 i L2) oraz przemysłowych (próba P1). Po wstępnym zmieszaniu składników mieszadłem mechanicznym emulsje poddano homogenizacji ciśnieniowej, dwustopniowej za pomocą homogenizatora laboratoryjnego Niro Soavi Panda. Proces prowadzono przy ciśnieniu 24 MPa (I stopień) i 4 MPa (II stopień). W warunkach przemysłowych ciśnienie homogenizacji wynosiło 18 MPa na pierwszym stopniu i 4 MPa na drugim stopniu. We wszystkich doświadczeniach, średnica kropeł fazy olejowej w emulsji, przed suszeniem oceniana za pomocą mikroskopu optycznego z obiektywem 40x, wyposażonego w mikrometr okula-

rowy nie przekraczała 2 μm . Do suszenia rozpryskowego w warunkach laboratoryjnych wykorzystano doświadczalną suszarnię rozpryskową produkcji Zahn będącą na wyposażeniu Katedry Inżynierii i Aparatury Procesowej UWM w Olsztynie. Proces suszenia prowadzono przy temperaturze powietrza wlotowego 150°C i wylotowego 90°C. Suszenie w warunkach przemysłowych (temperatura powietrza wlotowego 185°C i wylotowego 90°C) przeprowadzono w jednym z polskich zakładów mleczarskich wyposażonych w wieżę suszarniczą firmy Anhydro.

Wielkość otrzymanych mikrokapsulek oraz ich strukturę wewnętrzną oceniano na podstawie zdjęć wykonanych za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego Quanta 200 firmy FEI Company. Zdjęcia mikrokapsulek w próbkach proszku w stanie naturalnym otrzymano przy powiększeniu 400 i 800 krotnym. Następnie dokonano rozdrobnienia analizowanych preparatów za pomocą skalpela chirurgicznego. Tak przygotowane preparaty systematycznie przeszukiwano przy powiększeniu 3000 krotnym w celu zidentyfikowania obszarów z widoczną strukturą wewnętrzną mikrokapsulek.

Ocenę wielkości mikrokapsulek oraz ich struktury wewnętrznej przeprowadzono za pomocą komputerowej analizy obrazu wykorzystując oprogramowanie Lucia D wersja 4.61 (Laboratory Imaging Ltd., Czechy). Po wstępnym przetworzeniu badanych obrazów i ich kalibracji dokonano pomiarów wybranych parametrów geometrycznych mikrokapsulek: pola powierzchni i obwodu oraz wyznaczono średnicę zastępczą. Ich znajomość pozwala na obliczenie wielkości opisujących kształt badanych obiektów. Średnicę zastępczą każdego obiektu obliczano, korzystając z następującej zależności:

$$D = \sqrt{\frac{4S}{\pi}}, \quad (1)$$

gdzie S – pole powierzchni badanego obiektu (μm^2).

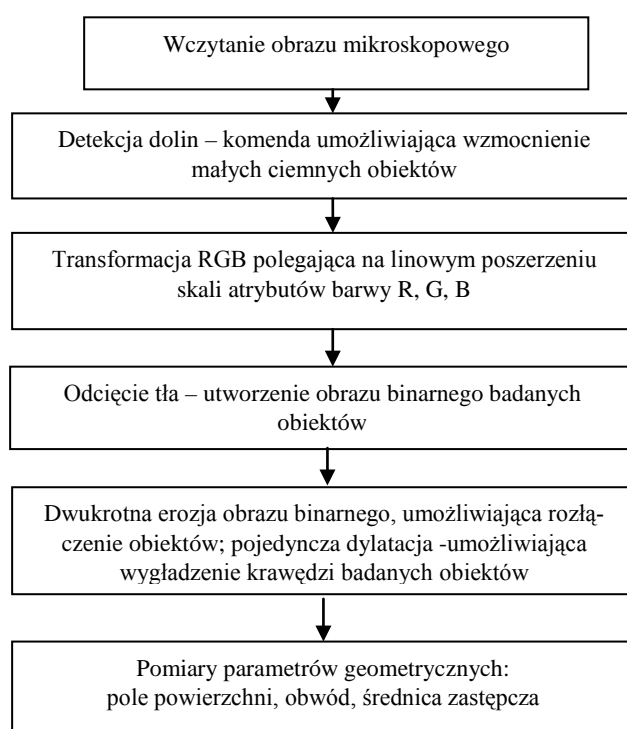
Dla każdego obiektu w obrazie próbki obliczano współczynnik kształtu $W1$

$$W1 = 2\sqrt{\pi S} / L, \quad (2)$$

gdzie: S – pole powierzchni badanego obiektu (μm^2), L – obwód badanego obiektu (μm),

Współczynnik $W1$ przyjmuje wartości od bliskich zera dla obiektów nieskończenie długich i wąskich do 1, gdy obiekt jest idealnym kołem. Bieżąca ocena jego wartości pozwoliła m.in. na eliminowanie obiektów nie należących do mikrostruktury badanych mikrokapsulek oraz artefaktów powstałych w wyniku automatycznego przetwarzania obrazu.

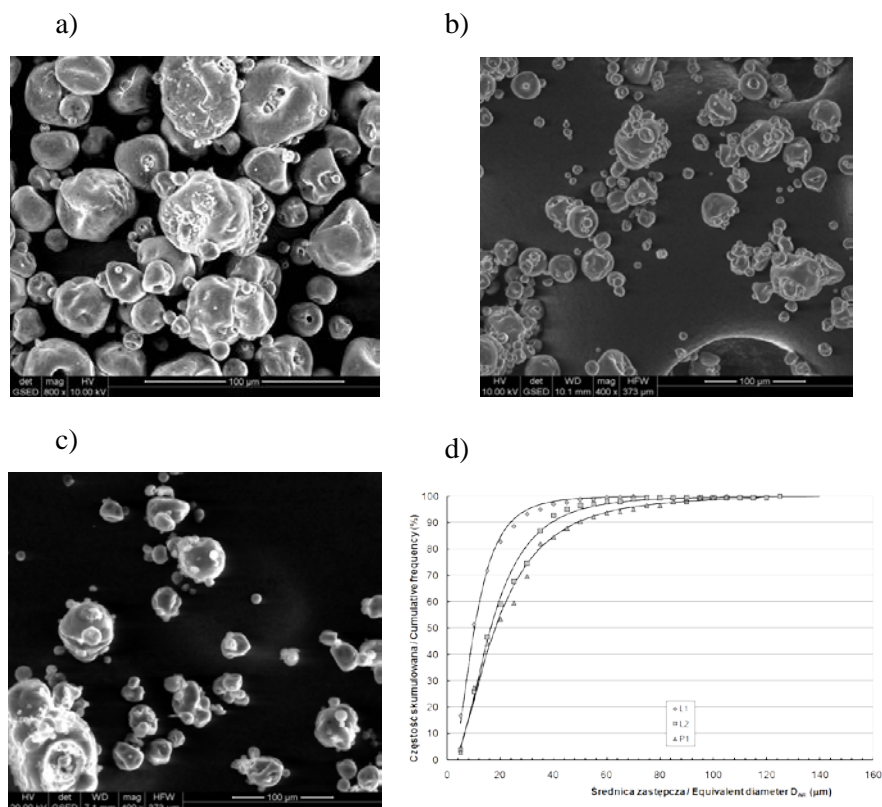
Ze względu na fakt, że tylko fragmenty zarejestrowanych obrazów struktury wewnętrznej badanych mikrokapsulek zawierały informację o ich wewnętrznej budowie, konieczne było opracowanie odpowiedniego algorytmu, umożliwiającego analizę tych obszarów. W tym celu sformułowano makrodefinicję, której schemat blokowy przedstawiono poniżej.



Schemat blokowy makrodefinicji zastosowanej do analizy struktury wewnętrznej mikrokapsulek

WYNIKI I DYSKUSJA

Przykładowe zdjęcia mikrokapsulek estrów oleju roślinnego otrzymanych w warunkach laboratoryjnych i przemysłowych przedstawiono na fotografiach 1. Wizualna ocena mikrofotografii cząstek proszku wskazuje na duże podobieństwo ich zewnętrznej budowy. Widoczne obiekty charakteryzują się kulistym, bądź zbliżonym do kulistego, kształtem oraz dużym zróżnicowaniem wielkości. Drobne cząstki skupiają się w bezpośrednim sąsiedztwie dużych elementów. Zaobserwowano, że powierzchnia większych cząstek jest zdeformowana.



Fot. 1. Zdjęcia mikroskopowe analizowanych mikrokapsulek: a) test laboratoryjny L1; b) test laboratoryjny L2; c) test przemysłowy P1; d) krzywe kumulacyjne logarytmiczno-normalnego rozkładu wielkości cząstek

Photo 1. Micro photographs of the microcapsules analysed: a) laboratory test L1; b) laboratory test L2; c) industrial test P1; d) cumulative curves of log-normal particle size distribution

Obrazy mikrokapsulek otrzymane w wyniku prowadzonych doświadczeń nie różniły się od obrazów innych proszków otrzymywanych metodą suszenia rozpryskowego zawierających zdyspergowaną, zamkniętą fazę tłuszczową (Kim i in. 2002, Pedersen i in. 1998, Pons i in. 1999). Geometrię cząstek proszków charakteryzują parametry elementów obrazów mikrokapsulek, otrzymane w wyniku przeprowadzenia komputerowej analizy obrazu, które zestawiono w tabeli 2.

Dane liczbowe zawarte w tabeli 2 wyrażają ilościowo widoczne na fotografiach (fot. 1 a-c) zróżnicowanie wielkości mikrokapsulek otrzymanych w poszczególnych eksperymentach.

Rozkład wielkości cząstek zbliżony był do logarytmiczno-normalnego (fot. 1d). Świadczy to o liczebnej dominacji cząstek drobnych, poniżej 40 μm .

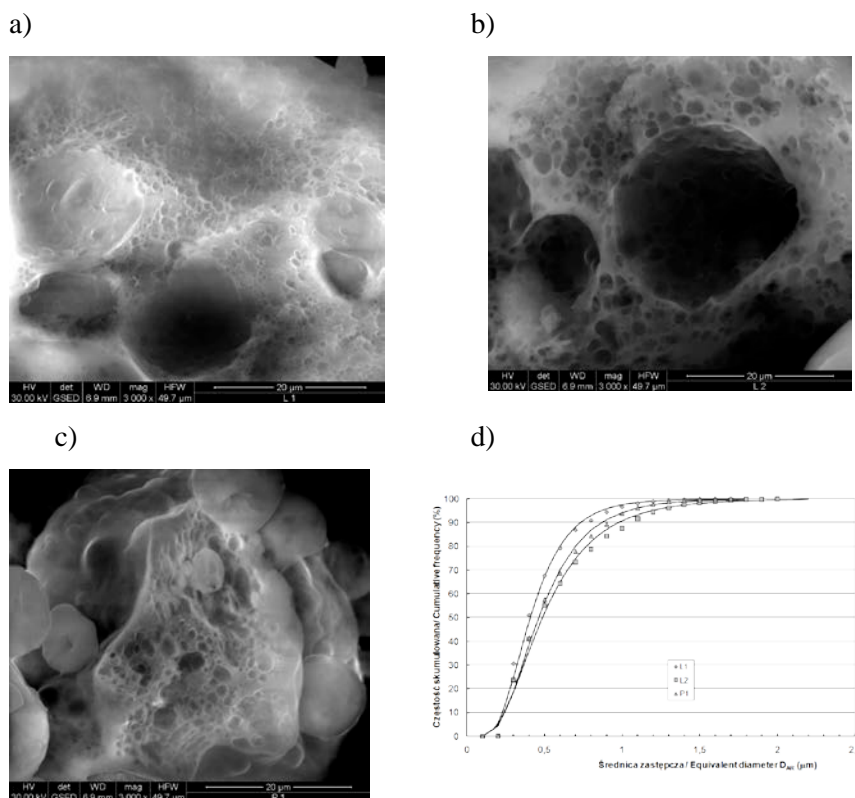
Tabela 2. Geometryczne parametry mikrokapsulek
Table 2. Geometric parameters of microcapsules

Test	Zmienna Variable	Min(x)	Max(x)	\bar{x}	s(x)	V(x)%
L1	D (μm)	3,9	66,6	12,90 ^a	10,2	79,4
	W1 (-)	0,21	1,00	0,56 ^d	0,20	35,4
L2	D (μm)	3,9	124,8	20,49 ^b	15,1	73,7
	W1 (-)	0,27	1,00	0,77 ^e	0,18	23,7
P1	D (μm)	4,2	104,2	24,2 ^c	19,6	81,2
	W1 (-)	0,49	1,00	0,85 ^f	0,11	12,7

Średnie oznaczone literami a-f różnią się istotnie na poziomie $p = 0,05$ – Mean values denoted by the letters a-f are significantly different at $p = 0.05$.

Pomimo wysokiego współczynnika zmienności $V(x)$ w próbkach różnice między zbiorami danych liczbowych scharakteryzowanych za pomocą zastępczego wymiaru cząstek D i współczynnika kształtu $W1$ były statystycznie istotne na poziomie $p = 0,05$. Największa rozpiętość wielkości cząstek charakteryzowała proszki otrzymane w wyniku suszenia emulsji o pH 7,02 w suszarce laboratoryjnej. W próbkach otrzymanych w warunkach laboratoryjnych przeciętna średnica cząstek proszku otrzymanego z emulsji o wyższym pH 7,02 (L2) była prawie 1,6 razy większa niż przy pH 6,73 (L1) – tabela 2. Z kolei mikrokapsułki otrzymane w warunkach przemysłowych były największe przy jednocześnie największym współczynniku zmienności. Różnice między rozkładami wielkości cząstek proszku były statystycznie istotne ($p = 0.05$). Proszek otrzymany z suszarni przemysłowej zawierał najwięcej cząstek o kształcie zbliżonym do kuli. Wynika stąd, że różnice zarówno w sposobie sporządzenia emulsji estrów, jak i warunków suszenia znajdują odzwierciedlenie w zmianach wielkości oraz kształtu cząstek proszku. Otrzymane wyniki dowodzą, że zastosowana analiza obrazu preparatów mikroskopowych pozwala na ilościową identyfikację występujących różnic.

Przykładowe zdjęcia wewnętrznej struktury mikrokapsulek estrów oleju roślinnego otrzymanych w warunkach laboratoryjnych i przemysłowych przedstawiono na fotografii 2. Widoczne puste przestrzenie o średnicy około 3-24 μm były obecne także w mikrokapsułkach prezentowanych w pracy Teixeira i in. (2004). Ze względu na ich niewielką liczbę na analizowanych obrazach nie podlegały one ocenie ilościowej.



Fot. 2. Struktura wewnętrzna badanych mikrokapsulek a) eksperyment L1; b) eksperyment L2; c) eksperyment P1; d) krzywe kumulacyjne logarytmiczno-normalnego rozkładu wielkości elementów struktury wewnętrznej

Photo. 2. Internal structure of microcapsules tested: a) test L1, b) test L2, c) test P1; d) cumulative curves of log-normal size distribution of the elements of internal structure

Elementy wewnętrznej struktury mikrokapsulek charakteryzowała średnica zastępcza D w zakresie od 0,141 do 1,915 μm (tab. 3). Wielkość ta odpowiada wymiarom kroplel fazy olejowej w emulsjach spożywczych poddawanych procesowi homogenizacji (Saito i in. 2006, Juśkiewicz i in. 1996). Jak wspomniano wyżej emulsje poddawane suszeniu zawierały kroplel fazy olejowej o średnicy mniejszej od 2 μm , wobec czego można przypuszczać, że oznaczone elementy obrazów przekrojów mikrokapsulek wskazują na obecność kroplel estrów zamkniętych w cząstkach proszku.

Rozkład wielkości elementów struktury wewnętrznej był logarytmiczno-normalny – fotografia 2d. Na podstawie tego rozkładu stwierdzono, że blisko 90%

wszystkich elementów struktury wewnętrznej, identyfikowanych na analizowanych obrazach mikrokapsulek, posiadało średnicę mniejszą od $2\mu\text{m}$.

Tabela 3. Geometryczne parametry wewnętrznej struktury mikrokapsulek
Table 3 . Geometric parameters of the internal structure of microcapsules

Test	Zmienna Variable	Min(x)	Max(x)	\bar{x}	s(x)	V(x)%
L 1	D (μm)	0,172	1,589	0,454 ^a	0,228	50,3
	WI (-)	0,80	1,00	0,95 ^c	0,06	6,8
L 2	D (μm)	0,141	1,915	0,565 ^b	0,327	57,8
	WI (-)	0,80	1,00	0,93 ^c	0,07	7,2
P 1	D (μm)	0,211	1,622	0,520 ^b	0,268	51,5
	WI (-)	0,80	1,00	0,94 ^c	0,06	6,7

Średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie na poziomie $p = 0,05$ – Mean values denoted by the same letters are not significantly different at $p = 0.05$.

PODSUMOWANIE

Prezentowane dane dowodzą, że występują mierzalne różnice wielkości i kształtu cząstek mikrokapsulek otrzymanych metodą suszenia rozpryskowego oraz elementów struktury wewnętrznej. Wynika stąd, że szczegółowa analiza makro- i mikrostruktury cząstek proszku, oparta na mikroskopii elektronowej wspomaganą techniką komputerowej analizy obrazu, może być narzędziem wykorzystywanym do kreowania właściwości mikrokapsulowanych składników żywności. Zastosowana technika przygotowania próbek do obserwacji pod mikroskopem elektronowym nie pozwala jednak na jednoznaczne rozróżnienie, czy widoczne na przełomach obiekty, wyodrębnione w oparciu o kryterium czynnika kształtu, reprezentują obecność kropeł fazy olejowej, czy jest to także naturalna porowatość cząstek proszku suszonego rozpryskowo. Konieczne jest zatem sprzężenie zastosowanych technik analitycznych z pomiarami fizycznych właściwości proszków, jak np. porowatość, czy zwilżalność oraz wynikami analiz chemicznych i prowadzenie dalszych badań w tym kierunku.

PIŚMIENNICTWO

Coupland K., Hebard A., 2002. Stearidonic acid containing plant-seed oils: their potential for use in healthy foods. 93rd AOCS Annual Meeting & Expo Abstracts. May 5-8, Montréal, Québec, Canada.

- Guil-Guerrero J.L., García-Maroto F., Vilches-Ferrón M.A., López-Alonso D., 2003. Gamma-linolenic acid from fourteen boraginaceae species. *Industr. Crops Prod.*, 18, 85-89.
- Juśkiewicz M., J. Kiszka, Kubiak A., 1996. Wpływ dodatku różnych preparatów białek mleka oraz różnych warunków homogenizacji na stabilność rekombinowanych emulsji typu o/w (śmietanka), *Acta Acad. Agricult. Tech. Olszt., Technologia Alimentorum*, no 29, 57-78.
- Kim E.H.J., Chen X.D., Pearce D., 2002. Surface characterization of four industrial spray-dried dairy powders in relation to chemical composition, structure and wetting property. *Coll. & Surf. B: Interfaces*, 26, 197-212.
- Kim E.H.J., Chen X.D., Pearce D., 2003. On the mechanisms of surface formation and surface composition of industrial powders. *Drying Technology*, 21, 197, 265-278.
- Pons M.N., Vivier H., Belaroui K., Bernard-Michel B., Cordier F., Oulhana D., Dodds J.A., 1999. Particle morphology: from visualization to measurement. *Powder Technol.*, 103, 44-57
- Pedersen G.P., Fäldt P., Bergenståhl B., Kristensen H.G., 1998. Solid state characterization of a dry emulsion: a potential drug delivery system. *Int. J. Pharm.*, 171, 257-270.
- Saito M., Yin L.J., Koabayashi I., Nakajima M., 2006. Comparison of stability of bovine serum albumin-stabilized emulsions prepared by microchannel emulsification and homogenization. *Food Hydrocolloids*, 20, 1020-1028.
- Surette M.E., Edens M., Chilton F.H., Tramosch K.M., Koumenis I., 2003. An open-label study to evaluate the hypotriglyceridemic properties of echium oil. 94th AOCS Annual Meeting & Expo. May 4-7, Kansas City, Kansas USA.
- Teixeira M.I., Andrade L.R., Farina M., Rocha-Leão M.H.M., 2004. Characterization of short chain fatty acid microcapsules produced by spray drying. *Mat. Sci. & Eng., C*, 5, 24, 653-658.

THE STRUCTURE OF MICROCAPSULES OF ETHYL ESTERS OF VEGETABLE OILS

Fabian Dajnowiec, Aleksander Kubiak, Lidia Zander, Paweł Banaszczyk

Department of Process Engineering and Equipment, Faculty of Food Science
University of Warmia and Mazury in Olsztyn
ul. Oczapowskiego 7, 10-711 Olsztyn
e-mail: kiap@uwm.edu.pl

Abstract. An attempt of characterizing the macro- and internal structure of microcapsules of ethyl esters of plant oil obtained by spray drying in the laboratory and under industrial conditions was undertaken. The microphotographs of the powders obtained by means of scanning electronic microscope (SEM) have been analysed using computer image analysis technique. The great variability over the range of 3.9-124.8 μm of the external equivalent particle diameter with the predominance of particles below 40 μm was observed. The sizes of elements of the internal structure ranged over 0.141-1.915 μm and corresponded to the diameters of oily phase in the emulsions subjected to drying. In both cases the particle size distributions were log-normal. It was shown that various conditions of emulsions preparation and spray drying were reflected by statistically significant differences in both external and internal structure parameters of the particles. The necessity of correlating the microcapsules structure parameters with emulsion structure and other powder characteristics was concluded.

Key words: emulsion, microcapsules, image analysis, particle size distribution