

## تهیه نانوامولسیون‌های حامل ویتامین A پالمیتات به روش خودبه‌خودی: بررسی تأثیر سورفاکتانت و فاز روغنی بر اندازه قطرات و پایداری

اکرم پزشکی<sup>۱</sup>، بابک قنبرزاده<sup>۲\*</sup>، حامد همیشه‌کار<sup>۳</sup>، محمد مقدم<sup>۴</sup>، عیسی فتح‌الهی<sup>۵</sup>

۱- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۲- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

\*نویسنده مسئول (ghanbarzadeh@tabrizu.ac.ir)

۳- دانشیار مرکز تحقیقات دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

۴- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۵- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

### چکیده

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۳/۲۱

تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۸/۱۷

### واژه‌های کلیدی

پایداری

سورفاکتانت غیریونی

میگلیول ۸۱۲

نانوامولسیون

ویتامین A پالمیتات

تولید خودبه‌خودی امولسیون یکی از روش‌های کم‌انرژی در تولید انواع نانوامولسیون است و در نتیجه تیتراسیون فاز روغنی حاوی سورفاکتانت هیدروفیل در فاز آبی رخ می‌دهد. از این سیستم در درون پوشانی ترکیبات آب‌گریز غذا- دارو مانند انواع ویتامین‌های محلول در چربی می‌توان استفاده کرد. در این تحقیق نانوامولسیون‌های حاوی ویتامین A به روش کم‌انرژی تشکیل خودبه‌خودی امولسیون با به‌کارگیری سورفاکتانت‌های غیریونی مختلف (تویین ۲۰، ۲۱، ۴۰، ۸۰ و ۸۵ و نسبت ۱:۱ تویین ۸۵: تویین ۲۰)؛ نسبت‌های مختلف سورفاکتانت و فاز روغنی در سیستم (SER و SOR) و غلظت‌های متفاوت ویتامین A در سیستم (۰/۰۳ و ۰/۰۶ و ۰/۰۹ درصد)، انواع مختلف فاز روغنی حامل (روغن سویا، نارگیل، ذرت، اکتیل اکتانیت و میگلیول ۸۱۲) تولید گردیدند تا بتوان به فرمولاسیون بهینه از این نانوامولسیون دست پیدا کرد. آزمون پایداری اندازه ذرات در دمای محیط نیز برای تعیین خواص فیزیکوشیمیایی نانوامولسیون‌ها انجام شد. فرمولاسیون ۱۵ درصد SER و ۱۵۰ درصد SOR با استفاده از تویین ۸۰ و محلول ۳ درصد ویتامین A در میگلیول ۸۱۲ دارای کمترین اندازه ذرات (۷۶ نانومتر) با توزیع اندازه ذرات باریک و تک‌مد بود که در طی مدت زمان نگهداری (۳ ماه) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد از نظر اندازه ذرات پایدار بود.

### مقدمه

در طی فرایند و نگهداری مواد غذایی و همچنین در مسیر دستگاه گوارشی، افزایش حلالیت در محیط‌های آبی، دسترسی زیستی بالاتر (به دلیل اندازه کوچک و نسبت سطح به حجم بالای قطرات) و جلوگیری از ایجاد بدطعمی و بدرنگی در مواد غذایی را داشته باشد. به علت حلالیت پایین ویتامین A در آب، عموماً توانایی و قابلیت محبوس شدن آن در ساختارهای نانو- حامل‌های لیپیدی بالا است که البته این امر خود به پارامترهای مختلف از قبیل نوع سیستم درون‌پوشانی و

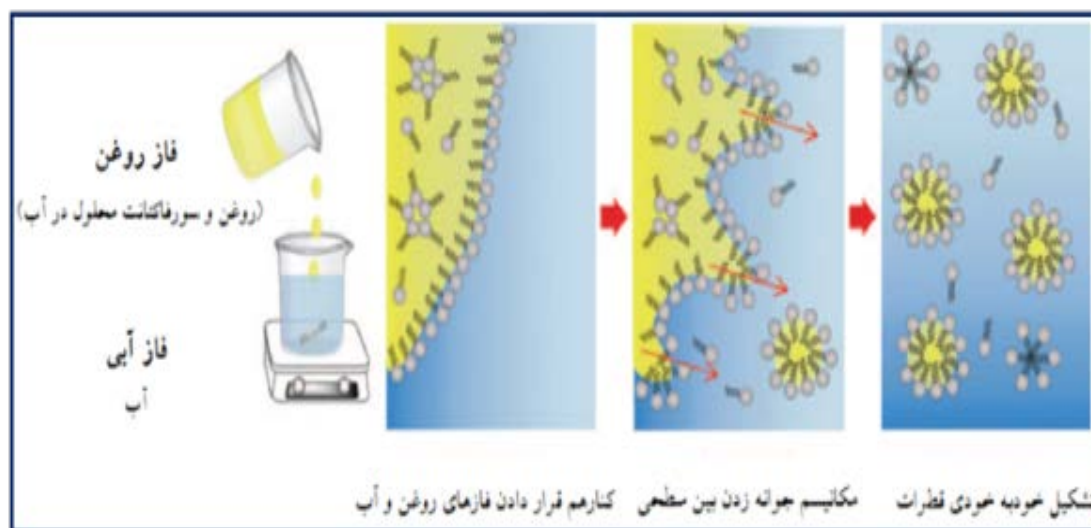
استفاده از نانو حامل‌ها برای ترکیبات غذا-داروی آب-گریز (نوتریسیوتیکال<sup>۱</sup>) مانند ویتامین‌ها می‌تواند مزایای متعددی از جمله کنترل رهایش در ماده غذایی و بدن در یک مکان و زمان معین، محافظت در برابر عوامل تخریب کننده محیطی (مانند اکسیداسیون، حرارت، نور، محیط اسیدی، فلزات سنگین و آنتی‌بیوتیک)

<sup>1</sup> Nutritional

روش‌های کم‌انرژی تولید نانوامولسیون است که در نتیجه تیتراسیون یک فاز آلی حاوی روغن، سورفاکتانت هیدروفیل و حلال قابل امتزاج با آب در فاز آبی رخ می‌دهد. ویژگی‌های خودبه‌خودی این روش نتیجه حالت‌های غیرتعادلی اولیه دو فاز مختلف است که بدون همزدن در تماس با هم قرار می‌گیرند (Saberi *et al.*, 2013; Komaiko & McClements, 2014). تشکیل نانوامولسیون توسط امولسیفیکاسیون خودبه‌خودی به دو مکانیزم آشفستگی سطحی در اثر مهاجرت سورفاکتانت به فازی که در آن بیشتر حل می‌شود و انتشار و رشته‌ای شدن در اثر کشاندن مولکول‌های روغن چسبیده به سورفاکتانت به داخل فاز آبی نسبت داده می‌شود (Bouchemal *et al.*, 2004; Silva *et al.*, 2011; Anton & Vanamme, 2009).

در شکل ۱ مکانیسم تولید خودبه‌خودی امولسیون به صورت شماتیک نشان داده شده است. زمانی که دو فاز روغن و آب در مجاورت هم قرار می‌گیرند (تیتراژ شدن فاز روغن حاوی امولسیفایر داخل فاز آبی) امولسیفایر موجود در فاز روغنی به فاز آبی که حلالیتش در آن بیشتر است، مهاجرت می‌کند و در نتیجه آشفستگی بین‌سطحی ایجاد شده و به هنگام ورود امولسیفایر به داخل فاز آبی، مقداری روغن نیز به همراه آن وارد فاز آبی می‌شود. این روغن متصل به سورفاکتانت در داخل آب به صورت قطرات ریز امولسیون، رشته‌ای می‌شود و سبب تولید خودبه‌خودی قطرات ریز می‌شود (Rao & McClements, 2012; Horn & Rieger, 2001).

فرمولاسیون آن بستگی دارد (De Vost *et al.*, 2010). یکی از سیستم‌های نانوحامل مهم، نانوامولسیون است که سیستم‌های شفاف با اندازه قطرات در محدوده ۱۰۰-۲۰۰ نانومتر هستند و با توجه به دارابودن قطره‌های کوچک‌تر از اندازه طول موج نور، نسبت به امولسیون‌های متداول، شفاف‌تر بوده و نسبت به پدیده‌های تفکیک گرانشی و تجمع یافتن قطرات مقاومت بیشتری دارند (Fathi *et al.*, 2012). جهت تشکیل و افزایش سطح بین فاز روغن و فاز آبی نیاز به ورود انرژی به سیستم نانوامولسیون بوده و در نتیجه این سیستم‌ها از لحاظ ترمودینامیکی ناپایدار هستند و تمایل دارند در طول زمان، در اثر پدیده‌های فیزیکو-شیمیایی مختلف، به فازهای تشکیل دهنده خود تفکیک شوند (Fathi *et al.*, 2012; Rao & McClements, 2012; Jafari *et al.*, 2008). این انرژی می‌تواند توسط ابزارهای مکانیکی (روش پر-انرژی) یا انرژی پتانسیل اجزای تشکیل دهنده آن (روش کم‌انرژی) تأمین شود. روش‌های کم‌انرژی به طور کل وابسته به پدیده‌های بین‌سطحی در مرز بین فازهای آب-روغن هستند و اغلب در تولید ذرات ریز از روش‌های پرانرژی کارآمدتر هستند (Rao & McClements, 2012; Piorkowski & McClements, 2013; Sagalowicz & Leser, 2010). تنها محدودیت این روش‌ها نوع روغن و نوع و غلظت امولسیفایر مورد استفاده است. به طوری که باید از غلظت‌های نسبتاً بالایی از امولسیفایرهای سنتزی ریزمولکول استفاده شود که این امر استفاده از این روش‌ها را در بسیاری از مصارف غذایی محدود می‌کند (Rao & McClements, 2012; Sagalowicz & Leser, 2010). تولید خودبه‌خودی امولسیون یکی از



شکل ۱- طرح شماتیک مکانیسم تولید خودبه‌خودی امولسیون (صابری و همکاران، ۲۰۱۳)

مواد مورد استفاده در این پژوهش شامل آب دیونیزه، ویتامین A پالمیتات (سیگما، آلمان)، میگلیول ۸۱۲ (ایران، شرکت داروسازی زهراوی)، اکتیل اکتانیت<sup>۱</sup>، روغن ذرت، روغن نارگیل و روغن سویا (سیگما، آلمان)، بافر فسفات، سورفاکتانت‌های غیریونی پلی-سوربات (تویین ۲۱، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۸۵) (سیگما، آلمان) بود.

#### روش‌ها

تهیه نانوامولسیون به روش خودبه‌خودی (جوانه‌زنی) سیستم نانوامولسیون حاوی ویتامین A پالمیتات با استفاده از روش کم‌انرژی تشکیل خودبه‌خودی امولسیون روغن در آب با اضافه کردن قطره قطره فاز روغنی (محلول ویتامین A پالمیتات در روغن حامل به همراه سورفاکتانت هیدروفیل غیریونی) بر روی آب دیونیزه، تولید گردید (Anton & Vandamme, 2009). در حین تشکیل، امولسیون به‌طور مداوم توسط همزن مغناطیسی با سرعت بهینه ۵۰۰ دور بر دقیقه در دمای آزمایشگاه (۲۵ درجه سانتی‌گراد) هم‌زده شد. پس از اتمام ریختن فاز روغنی، به سیستم به مدت ۴۰ دقیقه فرصت داده شد در سرعت ۵۰۰ دور بر دقیقه همزده شود تا به تعادل برسد. با توجه به تأثیر دما در اندازه ذرات نانوامولسیون، از همزن

در سال‌های اخیر تحقیقات زیادی روی استفاده از نانوامولسیون‌ها در مصارف غذایی شده است و در این تحقیقات عوامل مؤثر بر اندازه ذرات و پایداری مورد بررسی قرار گرفته است. از این جمله تحقیقات می‌توان به درون‌پوشانی رتینیل پالمیتات در روغن حامل اکتیل اکتانیت و امولسیفایر Montanov 68 EC (استتاریل الکل و استتاریل گلوکوزید) و Carlotti و همکاران، ۲۰۰۵)، تولید نانوامولسیون حاوی ویتامین E توسط روش خودبه‌خودی و سورفاکتانت‌های مختلف (Sabeti و همکاران، ۲۰۱۳؛ نیک‌نیا و همکاران، ۱۳۹۲)، درون‌پوشانی رزوراتول در امولسیون بر پایه روغن بادام‌زمینی و انواع سورفاکتانت‌های طبیعی و سنتزی (لستین سویا، استرهای قندی و گلیسرین منواولئات). (Pardo & McClements, 2014) و تولید نانوامولسیون با به‌کارگیری سیستم مدل (هگزادکان فاز روغنی و Brig 30 به‌عنوان سورفاکتانت غیریونی) (Komaiko & McClements, 2014) اشاره کرد. هدف این کار پژوهشی، بررسی عوامل مؤثر در تولید نانوامولسیون حاوی ویتامین A پالمیتات با اندازه و پایداری بهینه، به روش تشکیل خودبه‌خودی به منظور استفاده در نوشیدنی‌های غذایی است.

#### مواد و روش‌ها

##### مواد

<sup>1</sup> Octyl octanoate

D(10%): قطری که حجم ذرات کوچکتر از آن، ۱۰ درصد حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد.

#### بررسی تأثیر غلظت سورفاکتانت بر اندازه و توزیع قطرات

تأثیر غلظت سورفاکتانت در تولید قطرات نانو-امولسیون به دو روش بررسی شد (Saber *et al.*, 2013):

\*در روش اول نسبت سورفاکتانت به امولسیون (SER)<sup>۲</sup> و مقدار فاز آبی تغییر داده شد. مقدار روغن (میکلیول ۸۱۲ + ویتامین A پالمیتات) ثابت نگه‌داشته شد.

$$\text{SER \%} = \frac{M_s}{M_s + M_o + M_w} \times 100 \quad (3) \text{ معادله}$$

$M_s$ : مقدار سورفاکتانت مورد استفاده

$M_w$ : مقدار آب بافر مورد استفاده

$M_o$ : مقدار فازروغنی مورد استفاده.

در نانوامولسیون‌های تولید شده با استفاده از توپین ۸۰ و میکلیول ۸۱۲ حاوی ۳ درصد ویتامین A پالمیتات به عنوان روغن حامل، ۶ سطح متفاوت SER (۷/۵، ۱۰، ۱۲/۵، ۱۵، ۱۷/۵ و ۲۰ درصد) بررسی شد. \*در روش دوم نسبت سورفاکتانت به فازروغنی (SOR)<sup>۳</sup> تغییر داده شد در حالی که مقدار کل فازآبی ثابت نگه‌داشته شد.

$$\text{SOR \%} = \frac{M_s}{M_o} \times 100 \quad (4) \text{ معادله}$$

در نانوامولسیون‌های ذکر شده، ۶ سطح متفاوت SOR (۲۵، ۴۲، ۶۶، ۱۵۰، ۱۸۰ و ۲۳۳ درصد) بررسی شد.

#### تأثیر نوع سورفاکتانت و غلظت ویتامین A پالمیتات بر اندازه و توزیع قطرات

جهت بررسی تأثیر نوع سورفاکتانت بر اندازه قطره‌ها امولسیون بر پایه میکلیول ۸۱۲ به‌عنوان فاز روغنی و

مغناطیسی مجهز به سنسور تنظیم دما (Hiedolph، آلمان) استفاده گردید. با توجه به اینکه از همزن مغناطیسی مجهز به سنسور تنظیم و ثابت نگه‌داشتن دما در طول انجام آزمایش و تولید فرمولاسیون‌ها استفاده شد، بنابراین پایش دما در حین تولید رخ نداد و در طول ۸ ساعت تولید فرمولاسیون‌ها، دمای محلول ثابت نگه‌داشته شد.

#### تعیین اندازه ذرات

میانگین اندازه ذرات و شاخص اسپین نانوامولسیون‌های تولید شده از روی توزیع اندازه ذرات در دستگاه اندازه‌گیری اندازه ذرات SLS<sup>۱</sup> (SHIMADZO مدل SALD 2101 ساخت ژاپن) تعیین گردید. این دستگاه بر اساس پراکنش نور لیزر عمل می‌کند. اندازه‌گیری اندازه ذرات پس از گذشت ۲۴ ساعت از تولید و نگه‌داری نمونه در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) انجام شد. متوسط اندازه ذرات بر اساس میانگین قطر حجمی تعیین شد (Saber *et al.*, 2013) میانگین قطر حجمی (میانگین حجم معادل) یا De Broukere mean

$$\overline{D}[\xi, \zeta] = \frac{\sum n_i d_i^\xi}{\sum n_i d_i^\zeta} \quad (1) \text{ معادله}$$

$n_i$ : تعداد ذرات

$d_i$ : قطر میانگین ذرات

توزیع اندازه ذرات نیز با استفاده از معادله ۲ محاسبه شد:

$$\text{Span} = \frac{D(90\%) - D(10\%)}{D(50\%)} \quad (2) \text{ معادله}$$

D(90%): قطری که حجم ذرات کوچک‌تر از آن، ۹۰ درصد حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد.

D(50%): قطری که حجم ذرات کوچک‌تر از آن، ۵۰ درصد حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد (قطر میانه).

<sup>2</sup> Surfactant Emulsion Ratio

<sup>3</sup> Surfactant Oil Ratio

<sup>1</sup> Static Light Scattering

### نتایج و بحث

بررسی تأثیر غلظت سورفاکتانت بر اندازه قطرات اثر غلظت سورفاکتانت بر اندازه و توزیع اندازه قطرات نانوامولسیون با تهیه یکسری از امولسیون‌ها با ترکیب ثابت روغن (یک گرم حاوی ۳ درصد ویتامین A پالمیتات + ۹۷ درصد میگلیول) و با استفاده از سورفاکتانت‌های غیر یونی توپین ۸۰، اما با نسبت‌های متفاوت میزان سورفاکتانت به امولسیون (SER) و هم-چنین نسبت‌های متفاوت میزان سورفاکتانت به فاز روغن (SOR) بررسی شد (جدول ۱). شکل ۱-الف در ارتباط با اندازه قطرات و منحنی‌های شکل ۱-ب جهت نشان دادن پراکنش و توزیع اندازه قطرات است که هر چقدر منحنی توزیع باریک‌تر و هم‌چنین تک‌مد باشد، یکنواختی در اندازه قطرات سیستم بالاتر می‌باشد. در غلظت‌های پایین سورفاکتانت (۱۰ و ۷/۵ درصد SER و ۶۶ و ۴۲ و ۲۵ درصد SOR) اندازه قطره‌های تولید شده از ۵۰۰ نانومتر بالاتر و در واقع ماکروامولسیون تولید شد و توزیع اندازه قطرات در غلظت ۷/۵ درصد SER وسیع بود (شکل ۲-الف). با افزایش غلظت سورفاکتانت در سیستم یعنی SERهای ۱۵، ۱۷/۵ درصد و (SORهای ۱۵۰، ۱۸۰ درصد) اندازه قطرات زیر ۱۰۰ نانومتر به دست آمد که تقریباً اندازه مشابهی داشتند، با این تفاوت که توزیع اندازه قطرات در قطرات در  $SER=17/5\%$  دومد<sup>۱</sup> بود. در حالی که توزیع اندازه قطرات در  $SER=15\%$  تک‌مد<sup>۲</sup> بود (شکل ۲-ب). مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح ۵ درصد، اثر غلظت‌های مختلف سورفاکتانت بر اندازه قطرات را معنی‌دار نشان داد.

مقادیر ۱۵ درصد SER و ۱۵۰ درصد SOR و غلظت ۳ درصد ویتامین A پالمیتات در فاز روغنی (معادل غلظت ۰/۰۳ درصد ویتامین A پالمیتات در کل سیستم نانوامولسیون)، از ۵ نوع سورفاکتانت سنتزی (توپین ۲۱، ۲۰، ۴۰، ۸۰، ۸۵ و نسبت ۱:۱ توپین ۸۵:۲۰) استفاده شد. هم‌چنین نقش ویتامین A پالمیتات در اندازه و پایداری قطره‌های فرمولاسیون بهینه، در سه سطح ۰/۰۳ و ۰/۰۶ و ۰/۰۹ درصد ویتامین A پالمیتات بررسی شد.

### تأثیر نوع فاز روغنی حامل بر اندازه قطرات

در فرمولاسیون‌های تولید شده با به‌کارگیری توپین ۸۰ به‌عنوان سورفاکتانت و مقادیر ۱۵ درصد SER و ۱۵۰ درصد SOR و غلظت ۰/۰۳ درصد ویتامین A پالمیتات، تأثیر نوع فاز روغنی حامل (میگلیول ۸۱۲، اکتیل اکتانیت، روغن ذرت، روغن نارگیل و روغن سویا) روی اندازه قطرات نانوامولسیون بررسی شد.

### بررسی پایداری نانوامولسیون بهینه

پایداری بلند مدت نانوامولسیون بهینه تولید شده (با استفاده از توپین ۸۰ به‌عنوان سورفاکتانت و مقادیر ۱۵ درصد SER و ۱۵۰ درصد SOR میگلیول ۸۱۲ به‌عنوان فاز روغنی و غلظت ۰/۰۳ درصد ویتامین A پالمیتات) با اندازه‌گیری تغییرات در قطره‌های آن و هم‌چنین ظاهر در طی نگهداری در دمای آزمایشگاه به مدت ۳ ماه (روزهای ۱، ۷، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰ و ۹۰ روز پس از تولید نمونه) بررسی شد (Yang et al., 2012). با اندازه‌گیری میانگین اندازه ذرات پایداری آنها بررسی شد (Gonnet et al., 2010).

### تحلیل آماری

همه آزمون‌ها در سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شدند. تحلیل و ارزیابی (ANOVA) با استفاده از مدل خطی (G.L.M) نرم‌افزار آماری SPSS 11.5 در سطح احتمال ۵ درصد ( $P < 0/05$ ) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح احتمال ۵ درصد) برای تأیید وجود اختلاف بین میانگین‌ها انجام گرفت.

<sup>1</sup> Bimodal

<sup>2</sup> Monomodal

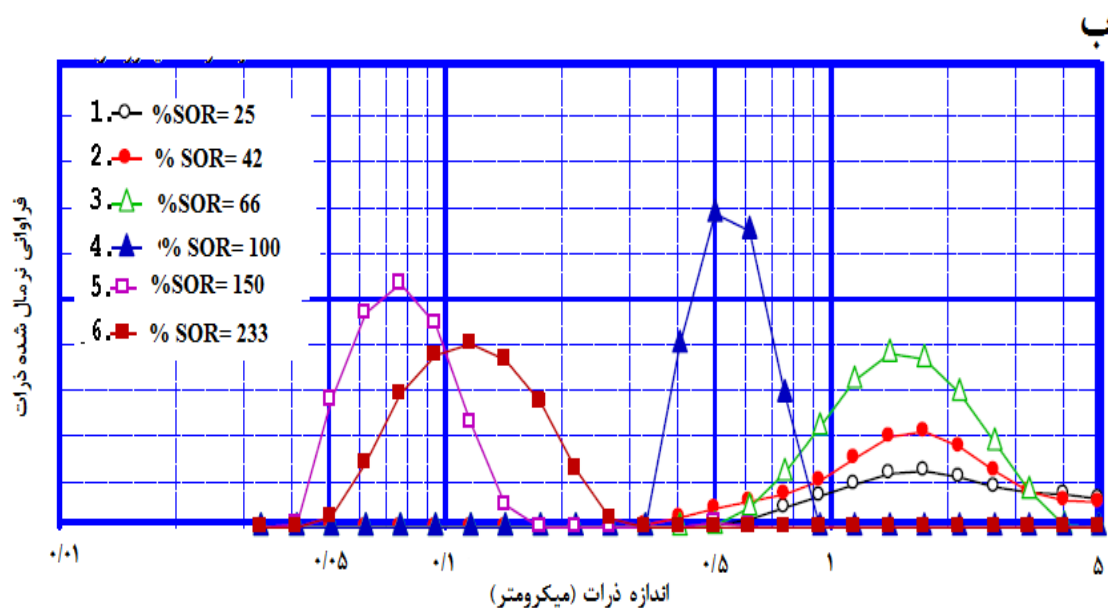
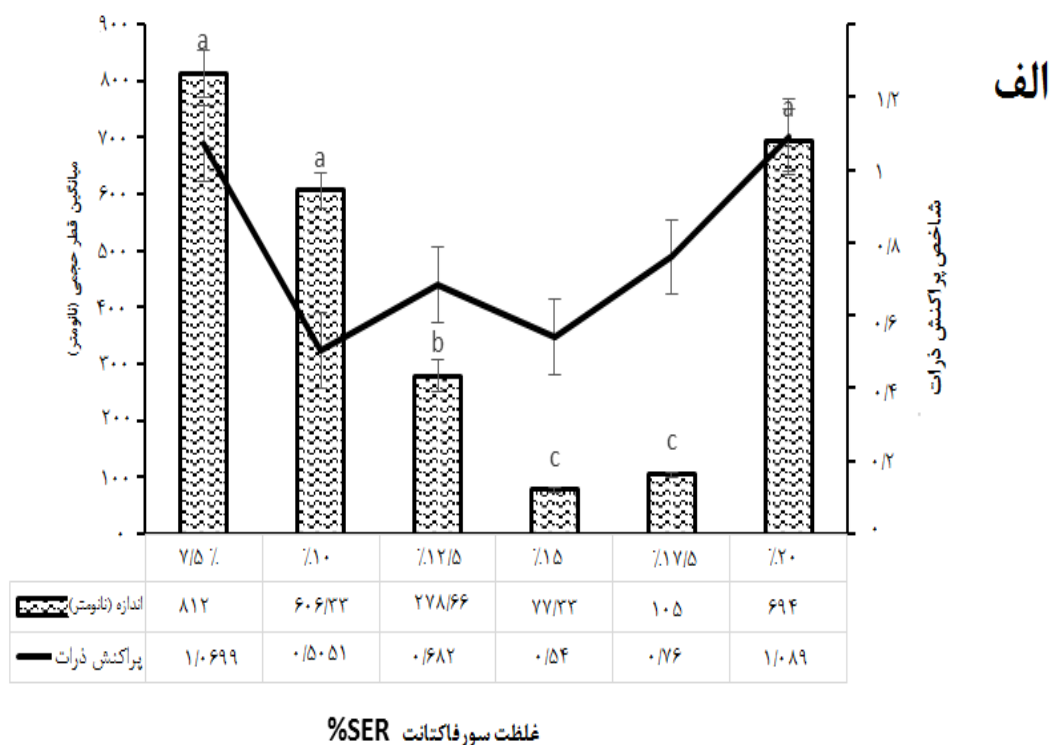
جدول ۱- مقدار اجزاء مورد استفاده در تولید فرمولاسیون‌های مختلف نانوامولسیون با تغییر غلظت سورفاکتانت

فرمولاسیون (درصد)	SER یا SOR (درصد)	گرم سورفاکتانت (تویین ۸۰)	گرم روغن حامل (میگلیول ۸۱۲)	گرم آب	میانگین اندازه پراکنش قطرات (span)
SER=۷/۵	SOR=۷۵	۰/۷۵	۱ (ثابت)	۸/۲۵	۱/۰۶۹۹
SER=۱۰	SOR=۱۰۰	۱	۱ (ثابت)	۸	۰/۵۰۵۱
SER=۱۲/۵	SOR=۱۲۵	۱/۲۵	۱ (ثابت)	۷/۷۵	۰/۶۸۲
SER=۱۵	SOR=۱۵۰	۱/۵	۱ (ثابت)	۷/۵	۰/۵۴
SER=۱۷/۵	SOR=۱۷۵	۱/۷۵	۱ (ثابت)	۷/۲۵	۰/۷۶
SER=۲۰	SOR=۲۰۰	۲	۱ (ثابت)	۷	۱/۰۸۹
SOR=۲۵	SER=۵	۰/۵	۲	۷/۵ (ثابت)	۱/۲۷۸۰
SOR=۴۲	SER=۷/۵	۰/۷۵	۱/۷۵	۷/۵ (ثابت)	۱/۳۴۲
SOR=۶۶	SER=۱۰	۱	۱/۵	۷/۵ (ثابت)	۱/۱۳۵۵
SOR=۱۰۰	SER=۱۲/۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۷/۵ (ثابت)	۰/۸۹۲۲
SOR=۱۵۰	SER=۱۵	۱/۵	۱	۷/۵ (ثابت)	۰/۵۴
SOR=۲۳۳	SER=۱۷/۵	۱/۷۵	۰/۷۵	۷/۵ (ثابت)	۰/۴۰۸۶

درصد کوچک‌ترین اندازه قطرات حاصل می‌شود. با افزایش غلظت، سورفاکتانت‌ها می‌توانند چندین ساختار از جمله ساختار دولایه اطراف قطرات تشکیل دهند و قطرات را بپوشانند. به این ترتیب فاصله قطرات از هم افزایش می‌یابد و از اثر نیروی جاذبه واندروالس بین قطرات کاسته می‌شود. همچنین برای نزدیک شدن قطرات به یکدیگر، بایستی این ساختار-های سورفاکتانتی کنار رانده شوند. این ساختارهای سورفاکتانتی ساختارهای کریستال مایع هستند که با این مکانیسم سبب پایداری نانوامولسیون می‌شوند (مساح، ۱۳۹۲). اگر غلظت امولسیفایر در سیستم برای پوشاندن کامل لایه بین‌سطحی روغن - آب کم باشد، درهم‌آمیختن و تجمع قطرات رخ می‌دهد.

مطابق گزارش سایر محققین نیز، در تهیه نانو-امولسیون ترکیب اجزاء و نسبت سورفاکتانت به امولسیون (SER) و به فاز روغنی (SOR)، بر توزیع اندازه ذرات تأثیرگذار است. در صورتی که سرعت اضافه کردن و مخلوط شدن فازها و سرعت هم‌زدن تأثیر جزئی بر توزیع اندازه ذرات دارد (Komaiko & Sood, 2014). (McClements, 2014). در بهینه‌سازی تولید نانوامولسیون حاوی عصاره رنگی زردچوبه، بیان کردند که درصد روغن، سورفاکتانت و هم‌سورفاکتانت<sup>۱</sup> در تشکیل اندازه ذرات در مقیاس نانومتری تأثیرگذار است. Saberi و همکاران (۲۰۱۳) دلیل کاهش اندازه قطرات با افزایش غلظت سورفاکتانت را در افزایش جذب مولکول‌های سورفاکتانت به سطح روغن/آب و در نتیجه کاهش بیشتر کشش سطحی بیان نمودند. همچنین افزایش غلظت سورفاکتانت موجب می‌شود تا تعداد مولکول‌های بیشتری از سورفاکتانت از فاز روغنی به فاز آبی پخش شوند و تولید قطرات ریز امولسیون آسان‌تر گردد. Wakerly و همکاران (۱۹۸۶) نیز در پژوهش بر روی سیستم نانوامولسیون میگلیول-تویین ۸۰ گزارش کردند با افزایش غلظت سورفاکتانت، اندازه قطرات کاهش می‌یابد به طوری که در SOR برابر با ۵۵

<sup>۱</sup> Cosurfactant



شکل ۲- الف) تأثیر غلظت سورفاکتانت به امولسیون (SER) بر اندازه و ب) توزیع اندازه قطرات در نانوامولسیون‌های تهیه شده با استفاده از فاز روغنی میگلیول ۸۱۲ حاوی ۳ درصد ویتامین A پالمیتات و سورفاکتانت غیر یونی توپین ۸۰ در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد

غلظت‌های بالای سورفاکتانت را می‌توان به دو عامل زیر نسبت داد:

۱- در غلظت‌های بالاتر سورفاکتانت، در لایه بین-سطحی روغن-آب، احتمالاً ساختارهای کریستال مایع ویسکوز تشکیل می‌شوند که باعث کندشدن مهاجرت سورفاکتانت به فاز آبی می‌شوند. به این ترتیب تولید

با افزایش غلظت سورفاکتانت به ۲۰ درصد SER و (۲۳۳ درصد SOR)، اندازه قطرات بر خلاف انتظار افزایش یافت و قطرات توزیع وسیع و غیریکنواخت پیدا کردند (شکل ۲)؛ در تحقیقات پیشین نیز همین نتیجه گزارش شده است (نیکنیا و همکاران، ۱۳۹۲؛ Yang et al., 2012). علت افزایش اندازه قطرات در

تکمید برای تمام نمونه‌ها بدست آمد و تغییر معنی-داری در سطح ۵ درصد نشان داده نشد (شکل ۳). همچنین سیستم نانوامولسیون با استفاده از ۶۰ میلی‌گرم ویتامین A پالمیتات (۱۰۰۰۰ IU/ml) معادل ۶ درصد (وزنی/حجمی) تولید گردید. نتایج مربوط به اندازه‌گیری ذرات و پایداری آن تا ۳۰ روز، نشان‌دهنده سیستم نانوامولسیون پایدار با اندازه قطرات حدود ۷۱ نانومتر و توزیع یکنواخت بود. با توجه به اینکه از این سیستم نانوامولسیون در جهت غنی‌سازی شیر با ویتامین A پالمیتات استفاده می‌شود و این سطح غلظت از ویتامین با در نظر گرفتن نیاز روزانه به این ویتامین، بهینه انتخاب شد.

بنابر گزارش محققین پیشین، ویتامین A پالمیتات در حضور توپین ۸۰ می‌تواند به عنوان کمک‌سورفاکتانت عمل کند. به عبارت دیگر با قرارگیری مابین مولکول‌های سورفاکتانت، آنها انحنای مطلوب خود را خواهند داشت. این توانایی ویتامین A پالمیتات به حضور گروه‌های عاملی در ساختار آن نسبت داده می‌شود. ویتامین A پالمیتات حاوی گروه کربونیل آب‌دوست بوده و توانایی تشکیل پیوند هیدروژنی با مولکول‌های آب را دارد، از سوی دیگر زنجیر طولیل کربنی مربوط به اسید پالمیتیک در ساختار آن گروه آب‌گریز بوده و به انحلال ویتامین در فاز روغن کمک می‌کند. بنابراین ویتامین A پالمیتات دارای ساختار آمفی‌فیلیک است. به این ترتیب احتمالاً ویتامین A پالمیتات در کنار توپین ۸۰ رفتار سینرژیستی از خود نشان می‌دهد و هر دو به فرایند تولید نانوامولسیون کمک می‌کنند (Lee & MacClments, 2010). ولی چون با تغییر غلظت ویتامین در انواع فرمولاسیون‌های امولسیون، تفاوت معنی‌داری در اندازه قطرات مشاهده نشد، بنابراین رفتار سینرژیستی از این ویتامین با سورفاکتانت در کاهش اندازه ذرات مشاهده نشد و بنابراین نقش کو-سورفاکتانت از خود در این تحقیق برای تولید قطرات نانوامولسیون نشان نداد.

خودبه‌خودی نانوامولسیون با محدود شدن فرایندهای نفوذ مولکولی به تأخیر می‌افتد (Pouton, 1997). Saberi و همکاران (۲۰۱۳) نیز بیان کردند با افزایش غلظت سورفاکتانت از حد آستانه، فاز کریستالی ویسکوزی بوجود می‌آید که شکست خودبه‌خودی دیواره روغن/آب را جهت جوانه‌زنی مشکل می‌سازد.

۲- با افزایش زیاد غلظت سورفاکتانت، بخشی از آنها بجای قرارگرفتن در سطح، در توده قرار می‌گیرند و میسل‌های سورفاکتانت تشکیل می‌شود که باعث افزایش فشار اسمزی محلی در سیستم می‌شود. در نتیجه فاز پیوسته بین قطرات به این مکان منتقل می‌گردد و موجب انبوهش (فلاکولاسیون) ناشی از تهی‌شدن فاز پیوسته بین دو قطره می‌گردد. (قنبرزاده، ۱۳۹۲). Wulff-Perez و همکاران (۲۰۰۹) نیز ناپایداری شدن نانوامولسیون‌ها در بالاتر از یک غلظت سورفاکتانت را به مکانیسم تهی‌شدن-فلاکولاسیون<sup>۱</sup> میسل‌های سورفاکتانت جذب شده مرتبط دانستند.

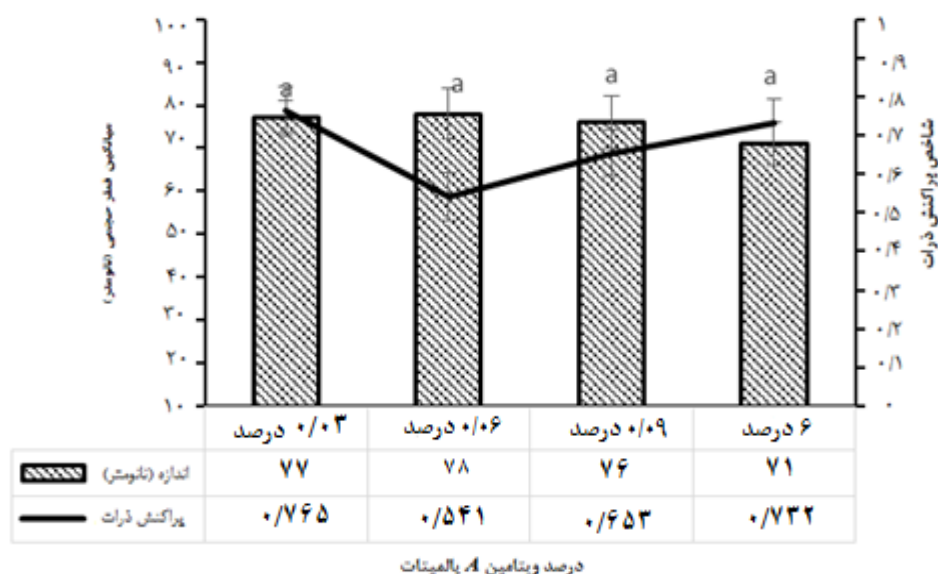
نتایج نشان داد مقادیر ۱۵ درصد SER و ۱۵۰ درصد SOR نسبت به سایر سطوح، موفق به تولید اندازه قطرات ریزتر و تک‌مد است، همچنین شاخص اسپن که نشان‌دهنده توزیع و پراکنش ذرات است در این فرمولاسیون بهینه به مقدار مناسب ۰/۵۴ است (جدول ۱). از این درصد به عنوان رفرنس در سایر آزمایشات مانند بررسی نوع فاز روغنی و نوع سورفاکتانت و غیره استفاده شد و سایر فرمولاسیون‌ها با این سطح (۱۵ درصد SER و ۱۵۰ درصد SOR) و با تغییر نوع سورفاکتانت یا نوع فاز روغنی یا درصد ویتامین تولید انجام شدند.

#### تأثیر غلظت ویتامین A پالمیتات بر اندازه و توزیع قطرات

با افزایش غلظت ویتامین A پالمیتات از بهینه از ۳ به ۶ و سپس ۹ درصد در فاز روغنی، اندازه قطره‌های نانوامولسیون تولیدی با استفاده از فرمولاسیون با غلظت سورفاکتانت بهینه (۱۵ درصد SER و ۱۵۰ درصد SOR)، استفاده از میگلپول ۸۱۲ به عنوان روغن حامل و توپین ۸۰ به عنوان سورفاکتانت غیر-یونی، در محدوده ۷۸-۷۶ نانومتر با توزیع یکنواخت و

<sup>۱</sup> Depletion-flocculation





شکل ۳- تأثیر غلظت ویتامین A پالمیتات بر اندازه و توزیع اندازه قطرات نانومولسیون بر پایه  $SER=15\%$ ،  $SOR=15\%$ ، میگیلویول ۸۱۲ به عنوان روغن حامل و توپین ۸۰ به عنوان سورفاکتانت غیر یونی. حروف غیر مشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون دانکن است.

دارویی مجاز بوده و با توجه به اینکه مقادیر اندکی از امولسیون تولید شده (در حدود ۷۰ میکرولیتر در ۱۰۰ سی‌سی شیر یا آب‌میوه) به منظور غنی‌سازی استفاده می‌شود، مصرف آن مخاطره برانگیز نمی‌باشد. مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح ۵ درصد، بین نوع سورفاکتانت مورد استفاده از نظر اندازه قطرات تفاوت معنی‌داری را نشان داد و توپین ۸۰ ریزترین قطرات را تولید کرد. بررسی ساختار مولکولی سورفاکتانت‌ها وجود تفاوت در زنجیره آب‌گریز آنها را نشان می‌دهد (جدول ۲): توپین ۲۰ یک دم مونولورات ( $C_{12}=0$ )، توپین ۸۰ یک دم مونوآلانات ( $C_{18}=1$ ) و

تأثیر نوع سورفاکتانت بر اندازه و توزیع قطرات در شکل ۴ تأثیر استفاده از انواع مختلف سورفاکتانت‌های غیر یونی از نوع پلی‌سوربات (توپین‌ها)، روی اندازه قطره‌های نانومولسیون‌های تهیه شده با فرمولاسیون بهینه (۱۵ درصد SER و ۱۵۰ درصد  $SOR$ ، میگیلویول ۸۱۲ به عنوان روغن حامل و ۰/۰۳ درصد ویتامین A پالمیتات در سیستم امولسیون) نشان داده شده است. چون روش تولید امولسیون مکانیسم تولید خودبه‌خودی (روش کم‌انرژی) و جوانه‌زنی روغن در سطح مشترک دو فاز که همراه با خروج سورفاکتانت از فاز روغنی به سمت فاز آبی است، می‌باشد بنابراین از سورفاکتانت‌های هیدروفیل (انواع توپین) استفاده شد. این نوع سورفاکتانت‌ها از نظر

جدول ۲- خصوصیات شیمیایی و مولکولی انواع سورفاکتانت‌های مورد استفاده

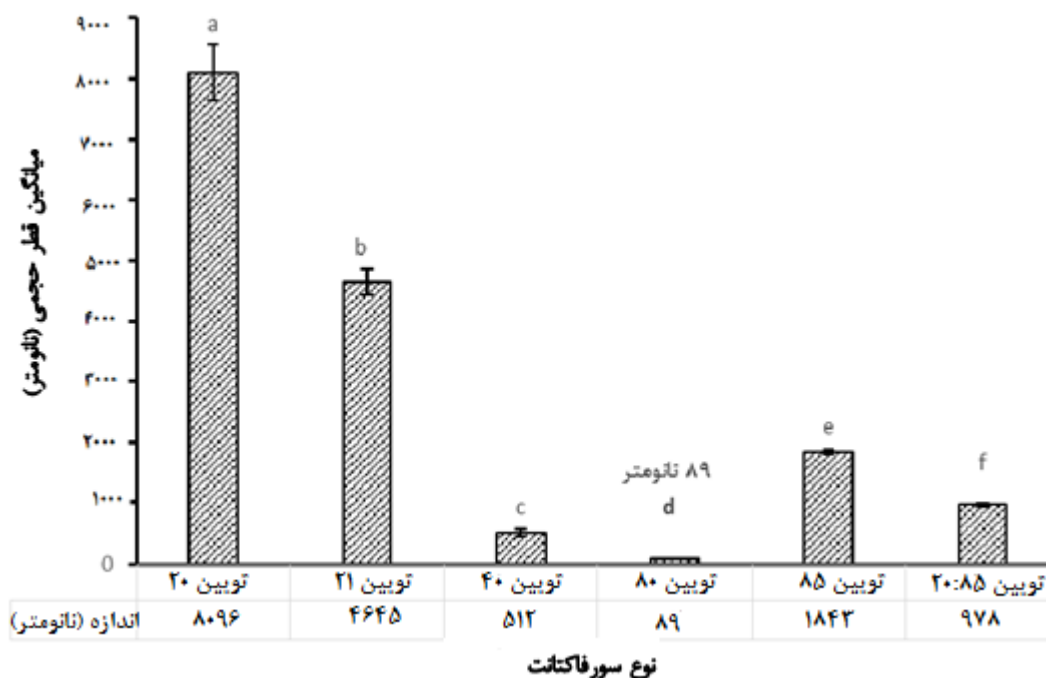
وزن مولکولی (gr/mole)	عدد HIB	ساختار شیمیایی	فرمول مولکولی	سورفاکتانت غیر-یونی
۱۲۲۷/۵۱	۱۶/۷	پلی‌اکسی اتیلن-۲۰- سوربیتان مونولورات	$C_{64}H_{124}O_{26}$	توپین ۲۰
-	۱۳/۳	پلی‌اکسی اتیلن-۴- سوربیتان مونولورات	-	توپین ۲۱
۱۲۸۳/۶۲	۱۵/۶	پلی‌اکسی اتیلن-۲۰- سوربیتان مونوپالمیتات	$C_{62}H_{122}O_{26}$	توپین ۴۰
۱۳۰۹/۶۵	۱۵	پلی‌اکسی اتیلن-۲۰- سوربیتان مونوآلانات	$C_{64}H_{124}O_{26}$	توپین ۸۰
۱۸۳۸/۵۴	۱۱	پلی‌اکسی اتیلن-۲۰- سوربیتان تری‌آلانات	$C_{100}H_{188}O_{28}$	توپین ۸۵

ساختار خود و HLB بالا که نشان هیدروفیل بودن آن است هم قدرت تحرک بیشتر به سمت فاز آبی که در آن محلول تر است را دارد و همچنین پارامتر کیپ-شدن آن در قرارگیری در سطح مناسب است، بنابراین ریزترین قطرات را تولید نمود.

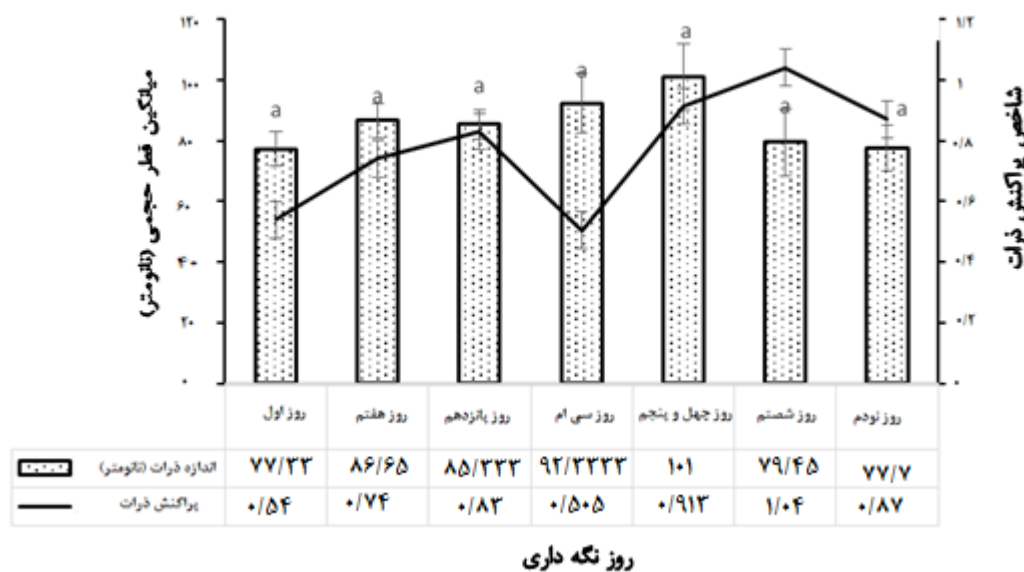
در تحقیقی مشابه، نیکنیا و همکاران (۱۳۹۲) با مقایسه دو نوع توپین ۸۰ و توپین ۲۰ طی تولید نانو-امولسیون حاوی ویتامین E استات بیان کردند که اگرچه هیدروفیل بودن سورفاکتانت (به عبارت دیگر HLB بالاتر) لازمه تولید نانوامولسیون روغن در آب است، ولی توپین ۲۰ که نسبت به توپین ۸۰، HLB بالاتری دارد، قادر به تولید امولسیون در غلظت‌های پایین سورفاکتانت نیست. همچنین به منظور بررسی دقیق‌تر اثر HLB بر تولید امولسیون و قطرات کوچک، مساح و همکاران (۱۳۹۲) نیز سیستم مشابه‌ای را با استفاده از توپین ۴۰ با  $HLB = 15/6$  تهیه کردند که HLB آن تقریباً نزدیک به عدد HLB توپین ۸۰ است. اندازه قطرات تولید شده در این سیستم بالاتر از ۱ میکرومتر بوده است. به نظر می‌رسد اندازه قطرات تولیدی، تنها به مقدار عددی HLB مربوط نمی‌شود و عوامل دیگری نیز وجود دارد. در تحقیقی که توسط Li و همکاران (۲۰۱۲) بر روی تولید نانوامولسیون‌های حاوی متوکسی فلاون پوسته لیموترش با استفاده از روش هموژناسیون فشار قوی انجام شده است، گزارش شد که اندازه و توزیع ذرات، مورفولوژی و همچنین رسوب متوکسی فلاون در سیستم، به نوع روغن، نوع سورفاکتانت و اضافه کردن کمک‌حلال در سیستم (اتانول و گلسیرول) بستگی دارد. آنان از انواع روغن‌های ذرت، تری‌گلسیرید متوسط زنجیره و روغن پرتقال و همچنین سورفاکتانت‌های بتالاکتوگلوبولین، لیزو-لستین و توپین و دودسیل تری‌متیل آمونیوم بروماید (DTAB)<sup>۲</sup> استفاده کردند. نتایج نشان داد با استفاده از همه انواع امولسیفایر به جز DTAB، نانوذراتی با قطر متوسط کمتر از ۱۰۰ نانومتر تولید می‌شود.

توپین ۸۵ یک دم تری‌اولئات دارد ( $C_{18} = 1 * 3$ ) دارد (Ostertag *et al.*, 2012). توپین ۸۰ با  $HLB = 15$  کوچک‌ترین قطرات را تولید کرد، در حالی که  $T_{20}$  با HLB برابر ۱۶/۷ (که نشان‌دهنده بالاتر بودن درجه هیدروفیلی آن است)، قطرات درشت‌تری تولید کرد. تحرک بیشتر سورفاکتانت‌های غیراشباع نسبت به انواع اشباع می‌تواند علت این رفتار باشد که سبب تسهیل تشکیل خودبه‌خودی امولسیون می‌شود. در ساختار زنجیره آب‌گریز توپین ۸۰ پیوند دوگانه از استروائات وجود دارد که سبب تحرک بیشتر آن نسبت به توپین‌هایی با زنجیره اشباع مانند توپین ۲۰ می‌شود. توپین‌هایی با وزن مولکولی بالا (مانند توپین ۸۵) نیز که سرعت حرکت سورفاکتانت از فاز آبی به آبی را کاهش می‌دهند، خاصیت امولسیفایری ضعیفی از خود نشان می‌دهند (Wakerly *et al.*, 1986). در این تحقیق از سورفاکتانت‌هایی با ساختار مشابه (توپین‌های ۲۰ و ۲۱) و یا HLB تقریباً مشابه (توپین-های ۴۰ و ۸۰) استفاده شد که نتایج اختلاف معنی‌دار در اندازه قطرات هر یک را نشان داد. به منظور بررسی دقیق‌تر اثر HLB بر تولید امولسیون و قطرات کوچک مطالعات قبلی (نیکنیا و همکاران، ۱۳۹۲؛ مساح، ۱۳۹۲) نشان داد اندازه قطرات تولیدی، تنها به مقدار عددی HLB مربوط نمی‌شود و عوامل دیگری نیز وجود دارد. صابری و همکاران (۲۰۱۳) پس از رد فرضیه اثر HLB روی اندازه قطرات، پارامتر کیپ-شدن<sup>۱</sup> مربوط به هندسه مولکولی سورفاکتانت (سطح مقطع زنجیره آب‌گریز (دم سورفاکتانت) نسبت به سطح مقطع سر آب‌دوست سورفاکتانت) را به‌عنوان عامل اصلی در تعیین عملکرد سیستم‌های کلوییدی بیان کردند. تفاوت در گروه زنجیره و سر توپین‌ها، بر نحوه قرارگیری آنها در سطح آب-روغن مؤثر است و در نتیجه بر روی تشکیل قطرات خیلی ریز، وقتی که فاز-آبی با فاز آبی مخلوط می‌شود، اثر دارد که در صورت مناسب بودن پارامتر کیپ‌شدن، انحنای مطلوب از سورفاکتانت بدست می‌آید. این انحنای مطلوب بر پارامترهایی از قبیل کشش بین‌سطحی و رئولوژی اثر-گذار است. توپین ۸۰ با دارابودن بند دوگانه در

<sup>۱</sup> Dodecyl Trimethyl Ammonium Bromide<sup>۱</sup> Packing factor



شکل ۴- تأثیر نوع سورفاکتان ۳ غیر یونی بر اندازه قطرات نانوامولسیون بهینه (۱۵ درصد SER و ۱۵۰ درصد SOR، میگلیول ۸۱۲ به عنوان روغن حامل و غلظت ۰/۰۳ درصد ویتامین A پالمیتات). حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون دانکن است.



شکل ۵- پایداری نانوامولسیون بهینه (۱۵ درصد SER و ۱۵۰ درصد SOR، میگلیول ۸۱۲ به‌عنوان روغن حامل و توبین ۸۰ به‌عنوان سورفاکتانت غیر یونی) در طی مدت سه ماه. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون دانکن است.

فیزیکوشیمیایی آنها دارند. ثابت ماندن این دو پارامتر در طول یک دوره زمانی طولانی، نشان دهنده پایداری سیستم است. ذرات بزرگ‌تر از یک میکرومتر و کاهش

بررسی پایداری نانوامولسیون بهینه اندازه قطرات و توزیع اندازه آنها (پلی‌دیسپرسیته) سیستم‌های کلونیدی اهمیت ویژه‌ای در ویژگی‌های

در تعداد ذرات در طول زمان می‌تواند نشانگر ناپایداری فیزیکی باشد (Benoit, 1986).

نتایج بررسی پایداری بلندمدت نانوامولسیون بهینه تولید شده با اندازه‌گیری تغییرات در اندازه قطره‌های آن و هم‌چنین ظاهر نمونه‌ها (مشاهده دو فاز شدن) در طی نگه‌داری در دمای آزمایشگاه (تقریباً ۲۵ درجه سانتی‌گراد) طی مدت ۳ ماه، تغییر معنی‌داری را در سطح ۵ درصد بین روزهای نگه‌داری نشان نداد و توزیع قطرات برای تمامی نمونه‌ها یکنواخت و تک‌مد بود (شکل ۵). به علت حضور قطرات در اندازه نانومتری در نانوامولسیون‌ها، آنها نسبت به امولسیون‌های متداول (ماکروامولسیون‌ها) دارای پایداری بیشتری هستند. چون کاهش اندازه قطرات اولاً موجب غلبه حرکت براوانی بر نیروی گرانشی می‌شود و ثانیاً موجب افزایش گرانیروی می‌گردد و در نتیجه از دو مکانیسم ناپایدارکنندگی مهم یعنی تفکیک گرانشی و انبوهش (فلاکولاسیون) جلوگیری می‌شود. به‌طور کلی زیر اندازه‌های ۳۰۰ نانومتری، سرعت تفکیک گرانشی به شدت کاهش می‌یابد.

#### تأثیر نوع فاز روغنی حامل روی اندازه قطرات

در تولید نانوامولسیون‌ها می‌توان از ترکیبات غیرقطبی مختلف از جمله تری‌آسیل گلیسرول‌ها، دی‌آسیل گلیسرول‌ها، مونوآسیل گلیسرول‌ها، روغن‌های اسانس، روغن‌های معدنی، واکس‌ها و ویتامین‌های محلول در چربی مانند کاروتنوئیدها، فیتواسترول و فیتواسترانول‌ها به‌عنوان فاز روغنی استفاده کرد. در کاربردهای غذایی معمولاً از تری‌آسیل گلیسرول‌ها مانند روغن ذرت، سویا، آفتابگردان، زیتون، بذر کتان و روغن ماهی استفاده می‌شود. زیرا هم از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه‌اند و هم به فراوانی یافت می‌شوند (مساح، ۱۳۹۲). نوع فاز روغنی مورد استفاده در تولید نانوامولسیون‌ها بر گرانیروی، چگالی و کشش سطحی سیستم تأثیرگذار است. ویتامین A پالمیتات یک سیال روغنی با گرانیروی بالا است که تولید نانو-امولسیون به تنهایی با آن به دلایل مختلف از جمله ویسکوزیته بالای آن مشکل است. از طرفی هم داشتن یک سطح بالا از ویتامین A پالمیتات در سیستم نانو-امولسیون با توجه به نیاز روزانه بدن به آن، نادرست

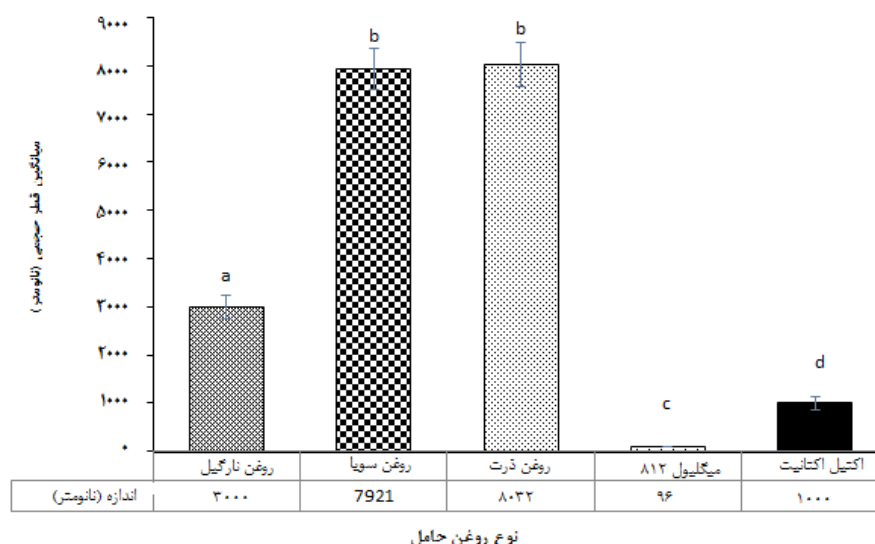
است. در تهیه امولسیون‌های مشتقات ویتامین A، انتخاب نوع روغن مورد استفاده بسیار مهم می‌باشد چون پایداری اکسیداتیو رتینوئید درون‌پوشانی شده در آن تحت تأثیر خصوصیات فیزیکی (ضخامت لایه بین‌سطحی، اندازه و شکل قطرات فاز پراکنده) و خصوصیات شیمیایی (میزان غیراشباعیت، طول زنجیره و حضور آنتی‌اکسیدان‌ها) قرار می‌گیرد (Fathi *et al.*, 2012). بنابراین در این تحقیق، در تهیه نانو-امولسیون حاوی ویتامین A پالمیتات از انواع روغن‌های حامل ویتامین A استفاده شد. همان‌طور که در شکل ۶ مشخص است، در تمامی نمونه‌ها بین حامل‌های روغنی مختلف از نظر اندازه قطرات در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد و استفاده از میگلیول ۸۱۲ به‌عنوان روغن حامل در مقایسه با سایر فازهای روغن آزمایشی موجب کاهش معنی‌داری در اندازه قطره‌های نانوامولسیون شد.

میگلیول یک مارک تجاری برای بخش‌های تقطیر شده گوناگون از روغن نارگیل است. میگلیول ۸۱۲ مایع بی‌رنگ مایل به زرد روشن، متشکل از ۵۵ درصد تری‌گلیسیرید با اسیدچرب ۸ کربنه و ۴۵ درصد تری‌گلیسیرید با اسید چرب ۱۰ کربنه است. چگالی و گرانیروی این روغن در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد، به ترتیب ۹۵ گرم بر سانتی‌متر مکعب و ۳۰ میلی‌پاسکال بر ثانیه است. با توجه به ایمن‌بودن روغن میگلیول ۸۱۲ و هم‌چنین اکتیل‌اکتانیت از نظر FDA، می‌توان آنها را مستقیماً به انواع مختلف مواد غذایی از جمله نوشیدنی‌ها اضافه کرد.

گرانیروی روغن بر سرعت حرکت مولکول‌های سورفاکتانت غیریونی، از فاز آلی به فاز آبی، مؤثر است و می‌توان انتظار داشت با کاهش گرانیروی روغن، مولکول‌های سورفاکتانت سریع‌تر حرکت کرده و بنابراین، قطرات کوچک‌تر تولید شود. البته بعضی محققان دیگر نیز گزارش کرده‌اند با استفاده از روغن‌های با گرانیروی بالاتر قطرات کوچک‌تر تشکیل می‌شود (Bouchemal *et al.*, 2004). هم‌چنین کاهش کشش بین‌سطحی باعث تحرک بیشتر بین سطح شده و تشکیل قطرات ریز محتمل‌تر می‌شود؛ علاوه بر این کشش بین‌سطحی تخریب قطرات نانوامولسیون را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Yang & McClements, )

خالص است (Saberi *et al.*, 2013). خصوصیات فاز روغن (مانند نوع روغن)، نوع فازآبی (مانند حضور نمک و الکل) و نیز فاکتورهای محیطی (مانند دما) بر روی تمایل نسبی مولکول‌های سورفاکتانت به فاز روغن و آب تأثیرگذار است (Rao & McClements, 2012).

2013). در تولید سیستم نانومولسیون با استفاده از مخلوط اسید استئاریک و اسید اولئیک نیز گزارش شد با افزایش میزان اسید اولئیک ذرات نرم‌تر با خاصیت کریستالی کمتری حاصل می‌شود (Hu *et al.*, 2005). در برخی از پژوهش‌های صورت گرفته، هیچ همبستگی بین قطر متوسط قطرات تولید شده و ویژگی‌های فاز روغن وجود ندارد. خواص مخلوط‌های سورفاکتانت-روغن-آب مهم‌تر از ویژگی‌های روغن



شکل ۶- تأثیر نوع فازروغنی حامل روی اندازه قطره‌های نانومولسیون ویتامین A پالمیتات بهینه (۱۵ درصد SER و ۱۵۰ درصد SOR، تویین ۸۰ به‌عنوان سورفاکتانت غیریونی و غلظت ۰/۰۳ درصد ویتامین A پالمیتات). حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون دانکن است.

از سورفاکتانت غیریونی تویین ۸۰ و فازروغنی حامل میگلیول ۸۱۲، اندازه قطرات کاهش یافت اما پس از آن با افزایش غلظت سورفاکتانت افزایش در میانگین قطر قطرات مشاهده شد. نانومولسیون بهینه تولید شده در طی ماندگاری به مدت ۳ ماه از پایداری بالا برخوردار بود. بنابراین فاکتورهای مربوط به فرمولاسیون شامل نوع و غلظت سورفاکتانت و نوع حامل روغنی در تولید نانومولسیون ویتامین A نقش بسیار مهمی را دارا هستند.

### نتیجه‌گیری

نوع سورفاکتانت و فازروغنی حامل تأثیر زیادی بر تولید نانومولسیون دارد به‌طوری‌که از بین سورفاکتانت‌های غیریونی و انواع فازروغنی، با استفاده از تویین ۸۰ و میگلیول ۸۱۲ به‌عنوان سورفاکتانت و روغن حامل، قطراتی با کوچک‌ترین اندازه تولید شد. اندازه قطرات هم‌چنین تحت تأثیر غلظت سورفاکتانت است و مقادیر بهینه‌ای وجود دارد به‌طوری‌که در ابتدا با افزایش غلظت سورفاکتانت تا ۱۵ درصد SER و ۱۵۰ درصد SOR، در نانومولسیون تولیدی با استفاده

## منابع

- ۱- قنبرزاده، ب.، ۱۳۹۲. شیمی و فیزیک سیستم‌های کلونیدی و محلول‌های بیوپلیمری غذایی. مؤسسه انتشارات علمی دانشگاه صنعتی شریف. صفحات ۲۰-۴۰.
- ۲- مساح، م. ۱۳۹۲. بررسی ویژگی‌های کلونیدی نانومولسیون‌های حاوی آلفاتوکوفرول تولید شده با استفاده از روش کم‌انرژی بر پایه سورفاکتانت. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز.
- ۳- نیک‌نیا، ن.، قنبرزاده، ب.، همیشه‌کار، ح.، رضایی مکرم، ر. ۱۳۹۲. تهیه و ارزیابی نانومولسیون‌های خوراکی ویتامین E. با روش خودبه‌خودی. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران. ۸ (۴): ۶۵-۵۱.
- 4- Anton, N., & Vandamme, T. 2009. The universality of low-energy nano-emulsification. *International Journal Pharmaceutical*, 377: 142-147.
- 5- Benoit, J.P., Couvreur, P., Devissaguet, J.P., Fessi, H., Puisieux, F., & Roblot- Treupel L. (1986). Les formes vectorielles ou "a distribution modulée, nouveaux syst"emes d'administration des m'edicaments. *Journal Pharmaceutical Belgian*, 41: 319-29.
- 6- Bouchemal, K., Brianc, S., & Fessi, H. 2004. Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: Solvent, oil and surfactant optimisation. *International Journal of Pharmaceutics*, 280 (1-2): 241-251.
- 7- Carloti, M. E., Sapino, S., Trotta, M., Battaglia, L., Vione, D., & Pelizzetti, E. 2005. Photostability and stability over time of retinyl palmitate in an O/W emulsion and in SLN introduced in the emulsion. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 26 (2): 125-138.
- 8- De Vost, P., Faas, M.M., Spasojevic, M. & Sikkema, J. 2010. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International Dairy Journal*. 20 (4): 292-302.
- 9- Fathi, M., Mozafari, M.R., & Mohebbi, M. 2012. Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. *Trends in Food Science and Technology*, 23: 13-27.
- 10- Hamishehkar H., Emami J., Rouholamini Najafabadi A., Gilani K., Minaiyan M., Mahdavi H., & Nokhodchi A. 2009. The effect of formulation variables on the characteristics of insulin-loaded poly (lactic-co-glycolic acid) microspheres prepared by a single phase oil in oil solvent evaporation method. *Colloid Surface B*, 74: 340-349.
- 11- Horn, D., & Rieger, J. 2001. Organic nanoparticles in the aqueous phase-theory, experiment, and use. *Angewandte Chemie International Edition*, 40: 4330-4361.
- 12- Hu, F. Q., Jiang, S. P., Du, Y. Z., Yuan, H., Ye, Y. Q., & Zeng, S. 2005. Preparation and characterization of stearic acid nanostructured lipid carriers by solvent diffusion method in an aqueous system. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 45 (3-4): 167-173.
- 13- Jafari, S.M., Assadpoor, E., & Bhandari, B. 2008. Re-coalescence of emulsion droplets during high-energy emulsification. *Food Hydrocolloids*, 22 (7): 1191-1202.
- 14- Komaiko, J., & McClements, D.J. 2014. Optimization of isothermal low-energy nanoemulsion formation: Hydrocarbon oil, non-ionic surfactant, and water systems. *Journal of Colloid and Interface Science*, 425: 59-66.
- 15- Lee, S., & D.J., McClements. 2010. Fabrication of protein- stabilized nanoemulsions using a combined homogenization and amphiphilic solvent dissolution/evaporation approach. *Food Hydrocolloids*, 24: 560-569.
- 16- Li, Y., Zheng, J., & McClements, D.J. 2012. Nanoemulsion-based delivery systems for poorly water-soluble bioactive compounds: Influence of formulation parameters on poly methoxy flavone crystallization. *Food Hydrocolloids*, 27: 517-528.
- 17- Ostertag, T., Weiss, J., & McClements, D.J. 2012. Low-energy formation of edible nanoemulsions: Factors influencing droplet size produced by emulsion phase inversion. *Journal of Colloid and Interface Science*, 388 (1): 95-102.
- 18- Pardo, G.D., & McClements, D.J. 2014. Resveratrol encapsulation: designing delivery systems to overcome solubility, stability and bioavailability issues. *Trends in Food Science & Technology*, 38 (2): 88-103.
- 19- Piorkowski, D.T., & McClements, D.J. 2014. Beverage emulsions: Recent developments in formulation, production, and applications. *Food Hydrocolloids*, 42 (1): 5-41.

- 20- Pouton, C. W. 1997. Formulation of self-emulsifying drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 25: 47-5.
- 21- Rao, R., & McClements, D.J. 2012. Food-grade microemulsions and nanoemulsions: Role of oil phase composition on formation and stability. *Food Hydrocolloids*, 29: 326-334.
- 22- Saberi, A.M., Fang, Y., & McClements, D.J. 2013. Fabrication of vitamin E-enriched nanoemulsions: Factors affecting particle size using spontaneous emulsification. *Journal of Colloid and Interface Science*, 391: 95–102.
- 23- Sagalowicz, L., & Leser, M. 2010. Delivery systems for liquid food products. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 15 (1-2): 61-72.
- 24- Silva, H.D., Cerqueira, M.A., & Vicente. 2011. Nanoemulsions for food applications: development and characterization. *Food Bioprocess Technology*, 5: 854- 867.
- 25- Sood, S., & Gowthamarajan, K.J.K. 2014. Optimization of curcumin nanoemulsion for intranasal delivery using design of experiment and its toxicity assessment. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 113: 330– 337.
- 26- Wakerly, M.W., Pouton, C.W., Meakin, B.J., & Morton, F.S. 1986. Self-emulsification of vegetable oil-non-ionic surfactant mixtures. Scamehron, J.F. *Phenomena in mixed surfacyan systems*. ACS Publications. pp. 242-255.
- 27- Wulff-Perez, A., Torcello-Gomez, M.J., & Rodriguez, M. 2009. Stability of emulsions for parenteral feeding: Preparation and characterization of o/w nanoemulsions with natural oils and Pluronic f68 as surfactant. *Food Hydrocolloids*, 23: 1096–1102.
- 28- Yang, Y., & McClements, D.J. 2013. Encapsulation of vitamin E in edible emulsions fabricated using a natural surfactant. *Food Hydrocolloids*, 30: 712-720.
- 29- Yang, Y., Marshal-Breton, C.H., Leser, M.E., Sher, A.A., & McClements, D.J., 2012. Fabrication of ultrafine edible emulsions: comparison of high-energy and low-energy homogenization methods. *Food Hydrocolloids*, 29: 398- 406.

## Vitamin A palmitate-loaded nanoemulsions produced by spontaneous emulsification method: effect of surfactant and oil on droplet size and stability

Akram Pezeshky<sup>1</sup>, Babak Ghanbarzadeh<sup>2\*</sup>, Hamed Hamishehkar<sup>3</sup>, Mohammad Moghadam<sup>4</sup>, Isa Fathollahi<sup>5</sup>

- 1- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
- 2- Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
- \*Corresponding author ([ghanbarzadeh@tabrizu.ac.ir](mailto:ghanbarzadeh@tabrizu.ac.ir))
- 3- Associated Professor, Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
- 4- Professor, Department of Crop Production and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
- 5- MSc. Graduated Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

### Abstract

Spontaneous emulsification is one of the low energy methods in preparation of oil-in-water nanoemulsions. It relies on the formation of very fine oil droplets when an oil/hydrophilic surfactant mixture is added to water and is used as delivery system to encapsulate lipophilic nutritional components such as fat soluble vitamins in functional food. In this study the influence of various types of surfactants (tween 20, 21, 40, 80, 85 and 1:1 ratio of tween 20:85), carrier oils (coconut, soyabean & corn oil, octyl octanoate, migliol 812) and different concentration of surfactant and oils in the system (SER & SOR) on the droplet size and stability of vitamin A palmitate-loaded nanoemulsions prepared by spontaneous emulsification was investigated. Tween 80 (surfactant) nanoemulsion containing migliol 812 (carrier oil containing 3% vitamin A palmitate) with surfactant-to-emulsion ratio (SER= %15) and surfactant to oil ratio (SOR=150%), was determined as optimum sample with monomodal droplet size of 76 nm which was stable at 25 °C for 3 months.

**Keywords:** Migliol 812, Nanoemulsion, Non-ionic surfactant, Stability, Vitamin A palmitate