

## عوامل مؤثر بر تولید و پایداری فرمولاسیون بهینه نانومولسیون حاوی ترکیب ویتامین A و D به روش تشکیل خودبه خودی

اکرم پزeshکی نجف‌آبادی<sup>۱\*</sup>، فاطمه‌السادات هاشمی<sup>۲</sup>، افرا مرندی<sup>۳</sup>، خدیجه قره‌داغی<sup>۴</sup>، سیدحسین جلالی<sup>۵</sup>

۱- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران  
\* نویسنده مسئول (akram.pezeshki@tabrizu.ac.ir)

۲- مدرس، گروه علوم و صنایع غذایی، مرکز آموزش علمی-کاربردی زمین نان سحر، تهران، ایران

۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۴- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهریار- شهر قدس، تهران، ایران

۵- مربی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

### چکیده

نانومولسیون‌ها به‌خاطر خصوصیات منحصربه‌فرد کاربردی خود، در غنی‌سازی بسیاری از ترکیبات آب‌گریز در نوشیدنی‌های بر پایه آبی مفید هستند. در این پژوهش نانومولسیون‌های حاوی ویتامین A و D با به‌کارگیری سورفاکتانت‌های غیریونی مختلف؛ (تویین ۶۰، ۸۰، ۸۵) و روغن‌های ذرت و میگلایول ۸۱۲؛ نسبت‌های مختلف ویتامین A و D (۲:۱، ۱:۱ و ۱:۲)، نسبت‌های مختلف سورفاکتانت فاز آبی در سیستم (SER) به‌روش تشکیل خودبه‌خودی تولید و آزمون‌های تعیین اندازه و توزیع اندازه قطره‌ها، پتانسیل زتا، مورفولوژی، خصوصیات رئولوژیکی، کدورت و پایداری آنها طی ۹۰ روز نگهداری انجام گرفت. تجزیه واریانس داده‌های پراکنش نور لیزر کمترین اندازه ذرات را مربوط به فرمولاسیون با SER ۱۷/۵ درصد و با استفاده از تویین ۸۰ میگلایول ۸۱۲ (حاوی ۵ درصد ویتامین A و D) نشان داد که برابر ۸۱ نانومتر و پتانسیل زتای ۲۷/۹- بود. این فرمولاسیون بهینه در طی مدت زمان نگهداری (۳ ماه) در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد پایدار ماند. تصاویر میکروسکوپ الکترونی نیز تأییدی بر نتایج به‌دست‌آمده از اندازه‌گیری اندازه قطره‌ها توسط دستگاه اندازه‌گیری ذرات در مقیاس نانو بود. بررسی رفتار رئولوژیکی نانومولسیون بهینه نیز حاکی از رفتار نیوتنی و وابسته‌نبودن ویسکوزیته نانومولسیون به سرعت برشی بود.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۶/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۲/۰۵

### واژه‌های کلیدی

پایداری

تویین

میگلایول

نانومولسیون

ویتامین A و D

### مقدمه

پتانسیل محبوس‌شدن آنها در ساختارهای نانوکپسول، بالاست که البته این امر خود به پارامترهای مختلف از قبیل نوع سیستم و فرمولاسیون آنها بستگی دارد (Saberi et al., 2013). درون‌پوشانی تکنولوژی قراردادی مواد مایع، جامد و گازی شکل درون کپسول‌های کوچک است که در ادامه این کپسول‌ها محتویات درون خود را در مقادیر کنترل‌شده در طی بازه‌های زمانی طولانی مدت، در مناطق هدف رها

راهکارهای مختلفی به‌منظور جبران کمبود ناشی از دریافت و تولید اندک ویتامین‌ها در بدن و جلوگیری از تجزیه آنها پیشنهاد شده است که از مهم‌ترین و عملی‌ترین آنها، درون‌پوشانی<sup>۱</sup> است. به‌علت حلالیت پایین ویتامین‌های محلول در چربی در محصولات بر پایه فاز آبی و انواع نوشیدنی‌ها، عموماً توانایی و

<sup>1</sup> Encapsulation

تحت تأثیر ترکیبات سیستم و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آنها مثل ویژگی‌های فیزیکی فاز روغنی و سورفاکتانت است (پزشکی و همکاران، ۱۳۹۴؛ Silva *et al.*, 2012). زمانی که دو فاز در مجاورت هم قرار می‌گیرند، سورفاکتانت که در هر دو فاز قابل امتزاج است، به تدریج از فازی که در آن حضور داشت به فاز دیگر مهاجرت می‌کند. با مهاجرت این ترکیب، مساحت بین‌سطحی افزایش می‌یابد، آشفتگی بین سطحی ایجاد می‌شود و در نهایت امولسیون تشکیل می‌شود. می‌توان با تغییر دادن شرایط هم‌زدن و نوع فازهایی که برای تولید امولسیون از آنها استفاده شده است، اندازه قطره‌ها را کنترل نمود (Najafi-Taher & Amani, 2017).

در پژوهش‌های صورت‌گرفته در سال‌های اخیر به تولید و بررسی عوامل مؤثر بر اندازه ذرات و پایداری نانوامولسیون‌های غذایی جهت استفاده در غنی‌سازی انواع نوشیدنی‌ها پرداخته شده است، از آن جمله می‌توان به غنی‌سازی شیر کم‌چرب پاستوریزه با نانوامولسیون حاوی ویتامین A پالمیتات با روغن حامل میگلیول<sup>۲</sup> ۸۱۲ و امولسیفایر توپین ۸۰ (پزشکی و همکاران، ۱۳۹۴)، نانوامولسیون حاوی ویتامین D به روش تشکیل خودبه‌خودی (Guttoff *et al.*, 2015) نانوامولسیون حاوی ماده فعال زردچوبه (کورکومین) (Sood & Gowthamarajan, 2014) تولید نانوامولسیون حاوی ویتامین E توسط روش خودبه‌خودی و سورفاکتانت‌های مختلف (Saberi *et al.*, 2013؛ نیک‌نیا و همکاران، ۱۳۹۲)، نانوامولسیون حاوی بتاکاروتن (حسنی، ۱۳۹۴)، تولید نانوامولسیون حاوی کنژوگه لینولئیک اسید (فامیان، ۱۳۹۵)، نانوامولسیون حاوی رزوراترول<sup>۳</sup> بر پایه روغن بادام‌زمینی (Davidov-Pardo & McClements, 2014) و نانوامولسیون حاوی آلفاتوکوفرول (مساح و همکاران، ۱۳۹۲) اشاره کرد. لذا با توجه به تحقیق‌های صورت‌گرفته در قبل، هدف از این کار پژوهشی، تولید نانوامولسیون حاوی ویتامین A پالمیتات و D<sub>3</sub> به روش کم‌انرژی تشکیل خودبه‌خودی و بررسی عوامل مؤثر در تولید و پایداری فرمولاسیون بهینه آن

می‌کنند (پزشکی و همکاران، ۱۳۹۴؛ Champagne & Fustier, 2007). استفاده از نانوحامل‌های لیپیدی برای ترکیبات غذا-داروی آب‌گریز (نوتریسی‌تیکال<sup>۱</sup>) مانند ویتامین‌های محلول در چربی می‌تواند مزایای متعددی از جمله محافظت در برابر اکسیداسیون، جلوگیری از تجزیه و غیرفعال شدن آنها در طی فرایند و نگهداری، افزایش حلالیت در محیط‌های آبی، دسترسی زیستی بالاتر به دلیل اندازه کوچک و نسبت سطح به حجم بالای قطره‌ها را داشته باشد (Ghanbarzadeh *et al.*, 2016). یکی از سیستم‌های نانوحامل بر پایه لیپید، نانوامولسیون است که سیستم‌های شفاف با اندازه قطره‌ها 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 تجمع‌یافتن، قطره‌ها مقاومت بیشتری دارند (Fathi *et al.*, 2012; Najafi-Taher & Amani, 2017; Li *et al.*, 2012). در تهیه نانوامولسیون جهت تشکیل و افزایش سطح بین فاز روغن و فاز آبی نیاز به ورود انرژی به سیستم بوده که این انرژی از طریق انرژی تجهیزات (روش پرانرژی) یا انرژی پتانسیل اجزاء (روش کم‌انرژی) تأمین می‌گردد. نتایج تحقیق‌ها نشان داد روش‌های کم‌انرژی نسبت به روش‌های پرانرژی در تولید قطره‌های ریز مؤثرتر بوده و تنها محدودیت آنها نوع روغن و امولسیفایر مورد استفاده است. به طوری که باید از غلظت‌های نسبتاً بالایی از امولسیفایرهای سنتزی استفاده شود که این امر استفاده از این روش‌ها را در بسیاری از مصارف غذایی محدود می‌کند (Rao & McClements, 2012; Silva *et al.*, 2012).

تولید خودبه‌خودی امولسیون یکی از روش‌های کم‌انرژی تولید نانوامولسیون است که در نتیجه تیتراسیون یک فاز آلی حاوی محلول هموزنیته روغن، سورفاکتانت هیدروفیل و حلال قابل امتزاج با آب در فاز آبی است (Guttoff *et al.*, 2015). تولید امولسیون به روش خودبه‌خودی توسط مکانیزم‌های مختلفی مثل انتشار مواد موجود در محلول بین دو فاز، آشفتگی بین سطحی، گرادیان کشش سطحی، مکانیزم پراکندگی و مکانیزم کندانس شدن انجام می‌گیرد که احتمالاً

<sup>2</sup> Miglyol<sup>3</sup> Resveratrol<sup>1</sup> Nutricritical

توزیع اندازه ذرات نیز با استفاده از رابطه (۲) محاسبه شد:

$$Spem = \frac{D(90\%) - D(10\%)}{D(50\%)}$$

در رابطه (۲)، (۹۰ درصد): قطر که حجم ذرات کوچکتر از آن، ۹۰ درصد حجم کل ذرات موجود در سیستم؛ (۵۰ درصد): قطر که حجم ذرات کوچکتر از آن، ۵۰ درصد حجم کل ذرات موجود در سیستم (قطر میانه) و (۱۰ درصد): قطر که حجم ذرات کوچکتر از آن، ۱۰ درصد حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد.

#### تأثیر غلظت سورفاکتانت در تولید قطره‌های ریز نانوامولسیونی

تأثیر غلظت سورفاکتانت در تولید قطره‌های ریز نانوامولسیونی با تغییر نسبت سورفاکتانت به امولسیون (SER)<sup>۳</sup> و مقدار فاز آبی و ثابت نگه‌داشتن مقدار فاز روغنی (۱ گرم حاوی ۵ درصد ویتامین A و D + ۹۵ درصد میگلیول ۸۱۲) بررسی شد (رابطه ۳).

$$\%SER = 100 \times \frac{M_S}{M_S + M_O + M_W}$$

در رابطه (۳)،  $M_S$ : مقدار سورفاکتانت مورد استفاده،  $M_W$ : مقدار آب بافر مورد استفاده و  $M_O$ : مقدار فاز روغنی (۱ گرم حاوی ۵ درصد ویتامین A و D + ۹۵ درصد میگلیول ۸۱۲) در نانوامولسیون‌های تولیدشده، ۵ درصد متفاوت SER (۱۰، ۱۲/۵، ۱۵، ۱۷/۵ و ۲۰ درصد) بررسی شد.

#### تأثیر نوع سورفاکتانت در فرمولاسیون نانوامولسیون بهینه

جهت بررسی تأثیر نوع سورفاکتانت بر تولید قطره‌های ریز نانوامولسیون بهینه از ۳ نوع سورفاکتانت سنتزی غیریونی (تویین ۸۰، ۶۰ و ۸۵) استفاده شد. ساختار شیمیایی و خصوصیات فیزیکی این سورفاکتانت‌های سنتزی غیریونی در جدول (۱) آورده شده است.

به‌منظور استفاده از آن به‌عنوان مکمل غذایی در غنی‌سازی نوشیدنی‌های شفاف و شیر کم‌چرب است.

#### مواد و روش‌ها

مواد: آب دیونیزه، ویتامین A پالمیتات با درجه خلوص ۹۸ درصد (سیگما، آلمان)، میگلیول ۸۱۲ و ویتامین D<sub>3</sub> (ایران، شرکت داروسازی زهراوی)، روغن ذرت (سیگما، آلمان)، بافر فسفات، سورفاکتانت‌های غیریونی پلی‌سوربات (تویین ۸۰، ۶۰ و ۸۵) (سیگما، آلمان).

#### تولید نانوامولسیون به روش تشکیل خودبه‌خودی

نانوامولسیون حاوی ویتامین A و D با استفاده از روش کم‌انرژی تشکیل خودبه‌خودی امولسیون، با اضافه‌شدن قطره‌قطره محلول ویتامین A و D در روغن حامل به‌همراه سورفاکتانت غیریونی هیدروفیل روی آب دیونیزه تولید گردید (Anton & Vandamm, 2009). درحین تشکیل، امولسیون به‌طور مداوم توسط همزن مغناطیسی دارای سنسور تنظیم و حفظ دما (Hiedolph، مدل ۳۰۰۰، ساخت آلمان) با سرعت بهینه ۵۰۰ دور در دقیقه در دمای آزمایشگاه (۲۳ درجه سانتی‌گراد) هم‌زده شد. پس از اتمام ریختن فاز روغنی، به سیستم به مدت ۴۰ دقیقه فرصت داده شد در سرعت ۵۰۰ دور در دقیقه هم‌زده شود تا به تعادل برسد. متوسط اندازه قطره‌های نانوامولسیون‌های تولیدشده براساس میانگین قطر حجمی (رابطه ۱) و شاخص پخش‌پذیری (اسپن<sup>۱</sup>) از روی توزیع اندازه ذرات در دستگاه اندازه‌گیری اندازه ذرات (Shimodzu، مدل Sald-2101، ساخت ژاپن) تعیین گردید. این دستگاه براساس پراکنش نور لیزر عمل می‌کند. کلیه اندازه‌گیری‌ها در ۳ تکرار پس از گذشت ۲۴ ساعت از تولید نمونه و نگهداری آن در دمای محیط انجام شد. میانگین قطر حجمی (میانگین حجم معادل<sup>۲</sup>):

رابطه (۱)

$$\bar{D}[4,3] = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3}$$

در رابطه (۱)،  $n_i$ : تعداد ذرات،  $d_i$ : قطر میانگین ذرات می‌باشد.

<sup>۱</sup> Span

<sup>۲</sup> Debroukere Mean

<sup>۳</sup> Surfactant Emulsion Ratio

جدول ۱- ساختار شیمیایی و خصوصیات فیزیکی سورفاکتانت‌های غیریونی مورد استفاده در تولید نانومولسیون

وزن مولکولی (گرم/مول)	عدد HIB	ساختار شیمیایی	فرمول مولکولی	سورفاکتانت غیریونی
۱۲۳۷/۵۱	۱۶/۷	پلی‌اکسی‌اتیلن-۶۰-سوربیتان مونولورئات	C <sub>64</sub> H <sub>124</sub> O <sub>26</sub>	تویین ۶۰
۱۳۰۹/۶۵	۱۵	پلی‌اکسی‌اتیلن-۶۰-سوربیتان مونولورئات	C <sub>64</sub> H <sub>124</sub> O <sub>26</sub>	تویین ۸۰
۱۸۳۸/۵۴	۱۱	پلی‌اکسی‌اتیلن-۶۰-سوربیتان تری‌ولئات	C <sub>100</sub> H <sub>188</sub> O <sub>28</sub>	تویین ۸۵

HLB: نشانگر نسبت هیدروفیل به لیپوفیل سورفاکتانت و معیار اندازه‌گیری درجه هیدروفیلی آن است.

### تعیین پایداری نانومولسیون

پایداری بلندمدت نانومولسیون بهینه تولیدشده با اندازه‌گیری تغییرات در اندازه قطره‌های آن و همچنین ظاهر در طی نگهداری در دمای آزمایشگاه (تقریباً دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۳ ماه بررسی شد (Yang *et al.*, 2013). آزمون‌ها شامل اندازه‌گیری پایداری نانومولسیون‌های آزمایشی با اندازه‌گیری میانگین اندازه ذرات میزان کدورت نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر ماورای بنفش-مرئی (مدل ۲۰۰۰، Ultraspec، ساخت انگلستان) در طول موج ۶۰۰ نانومتر با رقیق‌سازی نمونه به وسیله بافر فسفات (pH=۷) تا غلظت‌های روغن ۰/۱۵، ۰/۱۰، ۰/۰۷ و ۰/۰۳ درصد بود (Gonnet *et al.*, 2010).

### اندازه‌گیری خواص رئولوژیکی پایا

خصوصیات جریان‌پذیری فرمولاسیون بهینه نانومولسیون در مقدار ۱۰ گرم آب، در دمای محیط توسط رئومتر Anton Paar Physica (مدل MCR 301، ساخت اتریش) مجهز به استوانه‌های هم‌مرکز (Concentric cylinder geometry, CC27) ارزیابی شد. مقادیر تنش برشی و ویسکوزیته به صورت تابعی از سرعت برشی (۱۰۰-۰/۰۱ در ثانیه) برای تعیین رفتار جریان‌ی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. آزمون پایا در محدوده نرخ برش ۰/۰۱ تا ۱۰۰ بر ثانیه انجام شد (Yang *et al.*, 2012).

### طرح آماری

طرح آماری آزمایش براساس آزمون فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی اپتیمم‌سازی<sup>۲</sup> و با ۳ تکرار انجام پذیرفت. برای تحلیل داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون مقایسه میانگین‌های دانکن در

### تأثیر ترکیب فاز روغنی روی اندازه قطره‌های

#### نانومولسیون‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر فاز روغنی بر تولید قطره‌های ریز نانومولسیونی با به‌کارگیری فرمولاسیون بهینه از نانومولسیون (درصد بهینه از سورفاکتانت در امولسیون و سورفاکتانت هیدروفیل بهینه)، از فازهای روغنی میگیلیول ۸۱۲، روغن ذرت و غلظت‌های مختلف ویتامین D و A استفاده شد.

#### پتانسیل زتا

برای مشخص‌شدن نحوه عمل نیروهای دافعه الکتروستاتیک بین قطره‌های نانومولسیون و میزان پایداری سیستم حاصل از نتایج تحرک الکتروفوریتیک و پتانسیل زتا با استفاده از دستگاه زتاسایزر (Nano-ZS Malvern، ساخت انگلستان) در طی ۹۰ روز نگهداری استفاده شد. برای این‌منظور، هریک از نمونه‌ها ابتدا با استفاده از آب مقطر ۱۰ برابر رقیق شدند. سپس نمونه‌ها توسط سرنگی داخل لوله موئین منتقل و لوله موئین در محل مخصوص در داخل دستگاه قرار گرفت. اندازه‌گیری پتانسیل زتا در ۷/۴ pH= در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و توان ۱۴۹ وات انجام شد (Fatouros & Antimisiaris, 2002).

### مورفولوژی نانومولسیون با استفاده از میکروسکوپ

#### الکترونی عبوری (TEM)<sup>۱</sup>

نمونه نانومولسیون بهینه با استفاده از دستگاه میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) (Leo 906، مدل Zeiss 100 KV، ساخت آلمان) تصویربرداری شد (Klang *et al.*, 2012).

<sup>2</sup> Optimazation

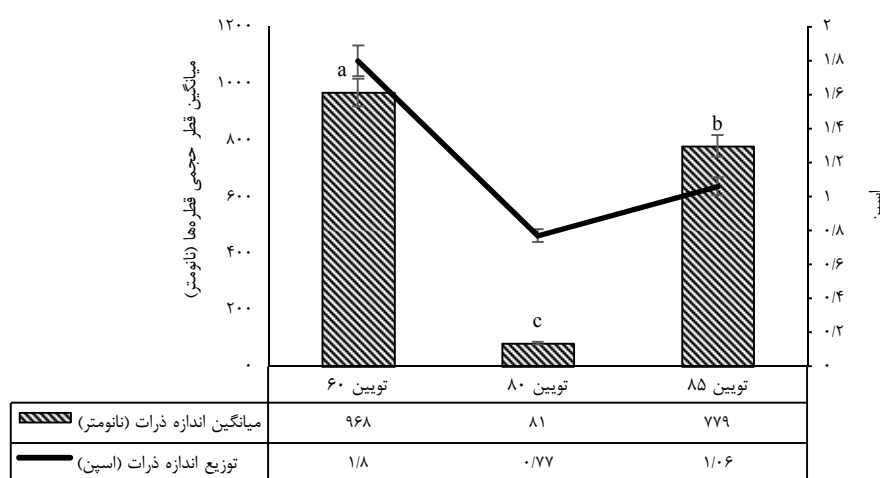
<sup>1</sup> Transmission Electron Microscopy

تویین ۶۰، ۸۰ و ۸۵) بررسی شد (شکل ۱). با استفاده از تویین ۸۵ و ۶۰ اندازه قطره‌ها بیش از ۷۰۰ نانومتر به دست آمد، همچنین توزیع اندازه ذرات وسیع و گسترده بود که نشان از عدم یکنواختی در اندازه قطره‌ها و تک‌مد بودن پراکنش قطره‌هاست. با استفاده از تویین ۸۰ به عنوان سورفاکتانت غیریونی، اندازه قطره‌ها در حد نانومتر (۸۱ نانومتر) با توزیع یکنواخت باریک و تک‌مد به دست آمد. از این سورفاکتانت به عنوان سورفاکتانت بهینه در سایر آزمایش‌ها استفاده شد.

سطح ۵ درصد و نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۹ استفاده شد.

### نتایج و بحث

اثر نوع سورفاکتانت بر اندازه و توزیع اندازه قطره‌ها اثر نوع سورفاکتانت بر اندازه و توزیع اندازه قطره‌های نانوامولسیون با تهیه یکسری از امولسیون‌ها با ترکیب ثابت فاز روغن حامل (۱ گرم حاوی ۵ درصد ویتامین A و D + ۹۵ درصد میگلیول ۸۱۲) و با استفاده از SER ۱۷/۵ درصد و با انواع متفاوت سورفاکتانت



نوع سورفاکتانت غیریونی

شکل ۱ - تأثیر نوع سورفاکتانت بر اندازه قطره‌ها (span) در نانوامولسیون‌های تهیه‌شده با استفاده از فاز روغنی میگلیول ۸۱۲ حاوی ۵ درصد ویتامین A و D و غلظت سورفاکتانت یونی (SER) ۱۷/۵ درصد، در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد

انتخاب امولسیفایر مناسب یا ترکیبی از امولسیفایرها یکی از مهم‌ترین فاکتورها در طراحی فرمولاسیون امولسیون است و می‌توان با به‌کارگیری استراتژی‌های مختلف، اعم از اضافه کردن ممانعت‌کننده‌های رسیدگی استوالد و نیز تغییر دادن امولسیفایر، از ادغام قطره‌ها ممانعت کرد (نیک‌نیا و همکاران، ۱۳۹۲). در این پژوهش نوع سورفاکتانت‌های غیریونی استفاده‌شده تأثیر قابل توجهی روی متوسط قطر قطره‌ها و توزیع اندازه آنها در سیستم‌های تشکیل‌شده داشت. بررسی ساختار مولکولی سورفاکتانت‌ها، وجود تفاوت در زنجیره آب‌گریز آنها را نشان می‌دهد (جدول ۱). تویین ۶۰، ۱ دم مونولورات<sup>۱</sup>

تویین ۸۰، ۱ دم مونولورات<sup>۲</sup> (C<sub>۱۸</sub>=۱) و تویین ۸۵، ۱ دم تری‌ولرات<sup>۳</sup> (C<sub>۱۸</sub>×۳) دارد (Ostertag et al., 2012). تویین ۸۰ با HLB برابر ۱۵ کوچک‌ترین قطره‌ها را تولید کرد، درحالی‌که با استفاده از T<sub>۶</sub> با HLB برابر ۱۶/۷ (که نشان‌دهنده بالاتر بودن درجه هیدروفیلی آن است)، قطره‌های درشت‌تری تولید شد. در ساختار زنجیره آب‌گریز تویین ۸۰ پیوند دوگانه از استروائات وجود دارد که سبب تحرک بیشتر آن نسبت به تویین‌هایی با زنجیره اشباع مانند تویین ۶۰ می‌شود (Guttoff et al., 2015). تویین‌هایی با وزن مولکولی بالا (مانند تویین ۸۵) نیز که سرعت حرکت سورفاکتانت از فاز آلی به

<sup>۲</sup> Mono Oleat

<sup>۳</sup> Tri Oleat

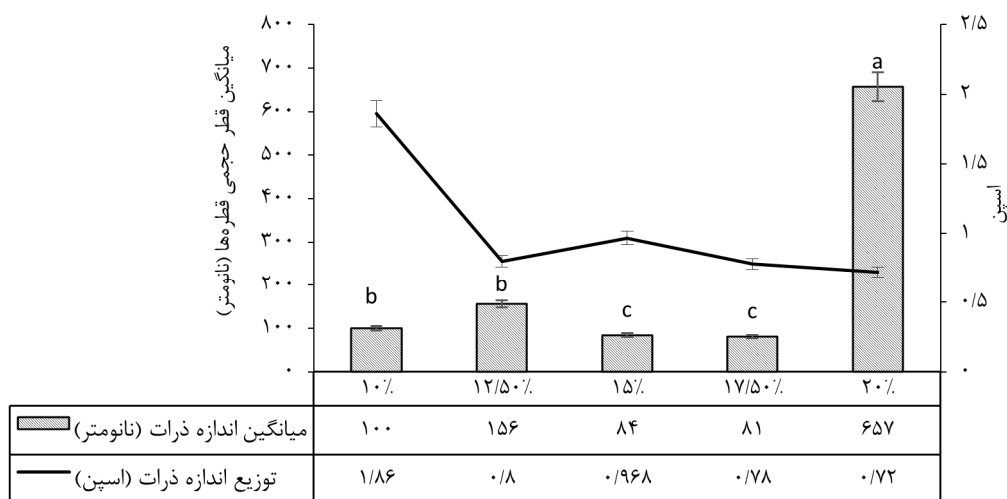
<sup>۱</sup> Mono Lurat

آبی را کاهش می‌دهند، خاصیت امولسیفایری ضعیفی از خود نشان می‌دهند (پزشکی و همکاران، ۱۳۹۴). مشابه با نتیجه به دست آمده در این تحقیق، پزشکی و همکاران (۱۳۹۴) در تولید نانوامولسیون حاوی ویتامین A پالمیتات، Guttoff و همکاران (۲۰۱۵) در تولید نانوامولسیون حاوی ویتامین D، Saberi و همکاران (۲۰۱۳) در تولید نانوامولسیون حاوی ویتامین E، حسنی (۱۳۹۴) در تولید نانوامولسیون حاوی بتاکاروتن و فامیان (۱۳۹۵) در تولید نانوامولسیون حاوی کنژوگه لینولئیک اسید، نتایج مشابه با اندازه قطره‌ها زیر ۱۰۰ نانومتر با تولید امولسیون به روش تشکیل خودبه‌خودی و استفاده از توپین ۸۰ به عنوان سورفاکتانت غیریونی هیدروفیل، گزارش کردند.

**اثر غلظت سورفاکتانت بر اندازه و توزیع اندازه قطره‌ها**

اثر غلظت سورفاکتانت بر اندازه و توزیع اندازه قطره‌های نانوامولسیون با تهیه تعدادی از امولسیون‌ها با ترکیب ثابت فاز روغن حامل (۱ گرم حاوی ۵ درصد ۰/۰۵) مخلوط ویتامین A و D + ۹۵ درصد

(۰/۹۵ گرم) میگیلپول) و با استفاده از سورفاکتانت غیریونی توپین ۸۰، اما با نسبت‌های متفاوت میزان سورفاکتانت به امولسیون (SER) بررسی شد (شکل ۲). مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح ۵ درصد، اثر غلظت‌های مختلف سورفاکتانت بر اندازه قطره‌ها را معنی‌دار نشان داد. با وجود اینکه میانگین قطری اندازه قطره‌ها در SER ۱۰ درصد برابر ۱۰۰ نانومتر بود ولی توزیع اندازه قطره‌ها وسیع و دومد<sup>۱</sup> بود. با افزایش غلظت سورفاکتانت در سیستم یعنی SERهای ۱۵ و ۱۷/۵ درصد اندازه قطره‌ها زیر ۱۰۰ نانومتر به دست آمد که تقریباً اندازه مشابهی داشتند، با این تفاوت که توزیع اندازه قطره‌ها در SER ۱۵ درصد، دومد بود. در حالی که توزیع اندازه قطره‌ها در SER ۱۷/۵ درصد، تک‌مد<sup>۲</sup> بود. با افزایش غلظت سورفاکتانت تا ۲۰ درصد اندازه قطره‌ها به بیشتر از ۶۰۰ نانومتر رسید. مکانیسم این اثر را می‌توان در افزایش ویسکوزیته سطح و ایجاد مشکل در انتقال سورفاکتانت به داخل فاز آبی و در ادامه مشکل در متصل شدن آن به لایه بین‌سطحی روغن-آب دانست (جدول ۲).



درصد نسبت سورفاکتانت به امولسیون

شکل ۲- تأثیر غلظت سورفاکتانت به امولسیون بر اندازه و توزیع اندازه قطره‌ها (span) در نانوامولسیون‌های تهیه شده با استفاده از فاز روغنی میگیلپول ۸۱۲ حاوی ۵ درصد ویتامین A و D و سورفاکتانت غیریونی توپین ۸۰ در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد

<sup>1</sup> Bimodal

<sup>2</sup> Monomodal

جدول ۲- مقدار اجزاء مورد استفاده در تولید فرمولاسیون‌های مختلف نانومولسیون با تغییر غلظت سورفاکتانت

فرمولاسیون	سورفاکتانت (گرم)	روغن حامل (گرم)	گرم آب	میانگین قطر حجمی (نانومتر)	میانگین پراکنش قطرها (span)
SER ۱۰ درصد	۱	۱ (ثابت)	۸	۱۰۰	۱/۸۶
SER ۱۲/۵ درصد	۱/۲۵	۱ (ثابت)	۷/۷۵	۱۵۶	۰/۸
SER ۱۵ درصد	۱/۵	۱ (ثابت)	۷/۵	۸۴	۰/۹۶۸
SER ۱۷/۵ درصد	۱/۷۵	۱ (ثابت)	۷/۲۵	۸۱	۰/۷۸
SER ۲۰ درصد	۲	۱ (ثابت)	۷	۶۵۷	۰/۷۲

شد، اندازه قطره‌ها از حدود ۵۵ نانومتر به ۱۶۰ نانومتر تغییر یافت. دلیل افزایش اندازه ذرات را می‌توان به این علت دانست که با وارد شدن نیروی برشی در راستای سطح روغن-آب پوشانده شده با امولسیفایر، مولکول‌های امولسیفایر از محلی که امولسیفایر زیادی در آنجا وجود دارد و با توجه به لایه‌های زیاد سورفاکتانت در آن محل، به موازات لایه بین‌سطحی کشیده می‌شوند و تعدادی از آنها از لایه بین‌سطحی جدا می‌شوند و این ناحیه امکان خالی شدن از سورفاکتانت را دارد. زمانی که قطره‌ها به هم برخورد می‌کنند اگر این مناطق خالی از امولسیفایر، به اندازه کافی به هم نزدیک شوند، می‌توانند با هم ادغام شده و قطر قطره‌ها افزایش یابد. این پدیده زمانی اتفاق می‌افتد که سرعت جذب امولسیفایر کمتر از طول مدت زمانی که تنش اعمال می‌شود، باشد و نیز سرعت برخورد قطره‌ها بیشتر از سرعت جذب امولسیفایر به لایه بین‌سطحی باشد (McClements, 2005). دلیل دیگری را که می‌توان علت افزایش اندازه قطره‌ها در غلظت‌های بالای سورفاکتانت دانست انبوهش ناشی از خالی شدن است. با افزایش زیاد غلظت سورفاکتانت، بخشی از آنها به جای قرار گرفتن 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 قطره‌ها به این مکان منتقل می‌گردد و موجب انبوهش (فلاکولاسیون<sup>۱</sup>)، ناشی از خالی شدن فاز پیوسته بین ۲ قطره می‌گردد (قنبرزاده، ۱۳۸۶). Wulff-Perez و همکاران (۲۰۰۹) نیز ناپایداری شدن نانومولسیون‌ها در بالاتر از یک غلظت سورفاکتانت را به مکانیسم خالی شدن-فلاکولاسیون<sup>۲</sup> میسل‌های سورفاکتانت جذب شده مرتبط دانستند.

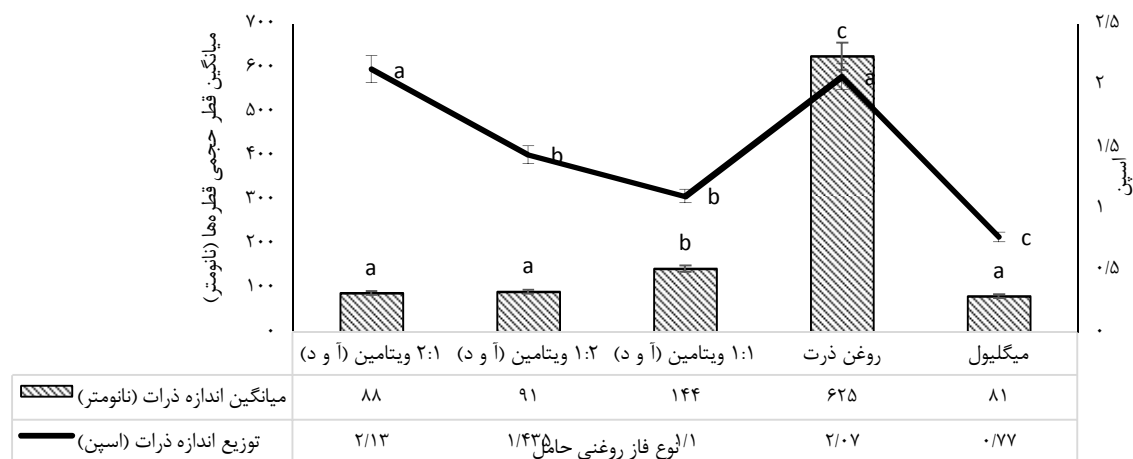
در تهیه نانومولسیون ترکیب اجزاء و نسبت سورفاکتانت به امولسیون (SER) بر توزیع اندازه ذرات تأثیرگذار است (Komaiko & McClements, 2014). اگر غلظت امولسیفایر در سیستم برای پوشاندن کامل لایه بین‌سطحی روغن-آب کم باشد، درهم‌آمیختن و تجمع قطره‌ها رخ می‌دهد. دلیل کاهش اندازه قطره‌ها با افزایش غلظت سورفاکتانت را می‌توان در افزایش جذب مولکول‌های سورفاکتانت به سطح روغن-آب و در نتیجه کاهش بیشتر کشش سطحی بیان نمود. همچنین افزایش غلظت سورفاکتانت موجب می‌شود تا تعداد مولکول‌های بیشتری از سورفاکتانت از فاز روغنی به فاز آبی پخش شوند و تولید قطره‌ها ریزامولسیون آسان‌تر گردد (Saber et al., 2013; Guttoff et al., 2015). مساح و همکاران (۱۳۹۲) نیز در تحقیق خود روی تولید نانومولسیون حاوی ویتامین E گزارش کردند در غلظت‌های بالاتر سورفاکتانت (SER ۱۶/۵ درصد) اندازه قطره‌ها کاهش می‌یابد با این حال اندازه قطره‌ها در بالاتر از یک سطح مشخص سورفاکتانت افزایش می‌یابد و با افزایش بیشتر غلظت سورفاکتانت، برخلاف انتظار، در این تحقیق افزایش در قطر و توزیع اندازه قطره‌ها مشاهده شد که در مطالعه‌های دیگر نیز گزارش شده است (پزشکی و همکاران، ۱۳۹۴؛ مساح و همکاران، ۱۳۹۲؛ نیک‌نیا و همکاران، ۱۳۹۲؛ Najafi-Taher & Amani, 2017). Saberi و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند با افزایش غلظت سورفاکتانت از حد آستانه، فاز کریستالی ویسکوزی به وجود می‌آید که شکست خودبه‌خودی دیواره سطح روغن-آب را جهت جوانه‌زنی مشکل می‌سازد. در پژوهشی که آنها روی تولید نانومولسیون ویتامین E استات به همراه میگلیول در حضور توپین ۸۰ به عنوان ترکیب فعال سطحی با روش خودبه‌خودی انجام دادند، مشاهده کردند وقتی غلظت سورفاکتانت از ۱۰ درصد به ۱۷/۵ درصد افزایش داده

<sup>1</sup> Flocculation<sup>2</sup> Depletion-flocculation

مشخص است استفاده از روغن حامل میگلیول با حصول اندازه قطره‌ها در مقیاس نانو و پراکنش باریک، نسبت به سایر فرمولاسیون‌ها بهتر بوده و فرمولاسیون نانومولسیون با مشخصات SER ۱۷/۵ درصد، توپین ۸۰ به‌عنوان سورفاکتانت فاز آبی و میگلیول ۸۱۲ به‌عنوان فاز روغنی حامل حاوی ۵ درصد ویتامین A و D به‌عنوان فرمولاسیون بهینه برای انجام سایر آزمایش‌ها (مورفولوژی، پتانسیل زتا، کدورت و رئولوژی) و تست پایداری انتخاب شد.

### اثر نوع فاز روغنی حامل بر اندازه و توزیع اندازه قطره‌ها

با انجام آزمایش‌های قبلی، SER ۱۷/۵ درصد به‌عنوان غلظت بهینه سورفاکتانت و توپین ۸۰ به‌عنوان سورفاکتانت غیریونی هیدروفیل شناخته شد. به‌منظور بررسی تأثیر فاز روغنی از انواع روغن‌ها (میگلیول ۸۱۲، روغن ذرت و غلظت‌های مختلف ویتامین D و A) استفاده شد تا بهترین فاز روغنی در تولید قطره‌های نانو با توزیع یکنواخت گردد (شکل ۳). همان‌طورکه



شکل ۳- تأثیر نوع فاز روغنی حامل حاوی ۵ درصد ویتامین A و D بر اندازه و توزیع اندازه قطره‌ها در نانومولسیون‌های تهیه‌شده با استفاده از توپین ۸۰ به‌عنوان سورفاکتانت غلظت سورفاکتانت به امولسیون ۱۷/۵ درصد، در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد

روغن‌های اسانسی قطبیت نسبتاً بالا، کشش بین‌سطحی و ویسکوزیته پایینی دارند که تمام این مشخصات برای تولید نانومولسیون با روش‌های انرژی بالا مناسب است؛ در کاربردهای غذایی معمولاً از تری‌آسیل گلیسرول‌ها مانند روغن ذرت، سویا، آفتاب‌گردان، زیتون، بذر کتان و روغن ماهی که هم از لحاظ اقتصادی مقرون‌به‌صرفه‌اند و هم به فراوانی یافت می‌شوند، استفاده می‌شود. اکثر این روغن‌ها عمدتاً از تری‌آسیل گلیسرول‌های بلندزنجیر (LCT)<sup>۱</sup> تشکیل شده‌اند. سایر تری‌آسیل گلیسرول‌ها با زنجیر متوسط (MCT)<sup>۲</sup> و کوتاه‌زنجیر (SCT)<sup>۳</sup> نیز در صنایع غذایی استفاده می‌شوند که البته به‌علت ویسکوزیته بالا، قطبیت بسیار پایین و کشش بین‌سطحی پایین، تولید نانومولسیون‌ها با آنها دشوار است؛ با این‌وجود

میگلیول یک مارک تجاری برای بخش‌های تقطیرشده گوناگون از روغن نارگیل است. میگلیول ۸۱۲ مایع بی‌رنگ مایل به زرد روشن، متشکل از ۵۵ درصد تری‌گلیسیرید با اسید چرب ۸ کربنه و ۴۵ درصد تری‌گلیسیرید با اسید چرب ۱۰ کربنه است. دانسیته و ویسکوزیته این روغن در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد، به‌ترتیب ۹۵ گرم بر سانتی‌مترمکعب و ۳۰ میلی‌پاسکال در ثانیه است. در طی نگهداری تجزیه نمی‌شود و هیچ واکنش خطرناکی هم برای آن معرفی نشده است (پزشکی و همکاران، ۱۳۹۴).

تشکیل، پایداری و خصوصیات نانومولسیون‌ها اغلب به خصوصیات فیزیکی‌شیمیایی توده‌ای فاز روغن (قطبیت، حلالیت در آب، کشش سطحی، اندیس رفرکتیو، ویسکوزیته، رفتار فازی و پایداری) بستگی دارد. اگرچه تعدادی از روغن‌های خوراکی برای تولید نانومولسیون با قطره‌های ریز مناسب هستند، ولی این روغن‌ها از پایداری اندکی برخوردارند. برای مثال

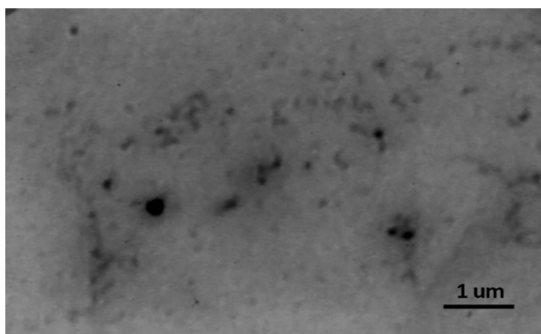
<sup>۱</sup> Long-chain Triacylglycerols

<sup>۲</sup> Medium-chain Triacylglycerols

<sup>۳</sup> Short-chain Triacylglycerols



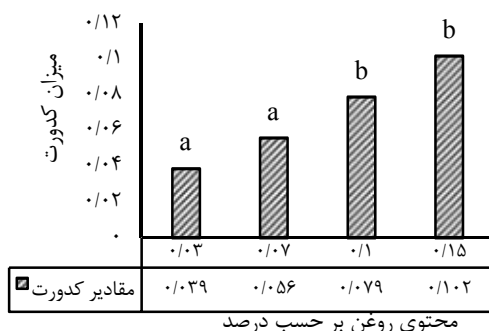
(SEM)، قطره‌های کروی شکل در سیستم نانوامولسیون بهینه، بدون رخ دادن تجمع و انبوهش و همچنین جدایی فاز، در اندازه نانو را نشان داد که تأییدی بر نتایج به دست آمده از دستگاه اندازه‌گیری ذرات بود (شکل ۴).



شکل ۴- تصویر میکروسکوپی الکترونی روبشی از سیستم نانوامولسیون بهینه (SER ۱۷/۵ درصد، توپین ۸۰ به عنوان سورفاکتانت غیریونی و میگلیول ۸۱۲ به عنوان فاز روغنی حامل حاوی ۵ درصد ویتامین A و D)

#### بررسی ویژگی‌های نوری و کدورت سیستم نانوامولسیون

نتایج مربوط به ویژگی‌های نوری فرمولاسیون بهینه نانوامولسیون در ایجاد کدورت محلول‌های آبی، با اندازه‌گیری جذب نور در طول موج ۶۰۰ نانومتر تا ۴ سطح متفاوت مقدار روغن (۰/۱۵، ۰/۱۰، ۰/۰۷ و ۰/۰۳) در شکل (۵) نشان داده شده است. نتایج نشان داد ارتباط خطی میان جذب و محتوای روغن برای نمونه مطالعه شده وجود دارد.



#### شکل ۵- بررسی میزان کدورت فرمولاسیون نانوامولسیون بهینه

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در ۵ درصد آزمون دانکن می‌باشد.

نانوامولسیون‌های تولید شده با روغن‌های LCT و MCT، از پایداری فیزیکی بسیار بالایی برخوردار هستند (حسنی، ۱۳۹۴). ویسکوزیته روغن بر سرعت مولکول‌های سورفاکتانت غیریونی، در حرکت از فاز آلی به فاز آبی، مؤثر است و می‌توان انتظار داشت با کاهش ویسکوزیته روغن، مولکول‌های سورفاکتانت سریع‌تر حرکت کرده و بنابراین، قطره‌های کوچک‌تر تولید شود (Najafi-Taher & Amani, 2017). همچنین کاهش کشش بین‌سطحی باعث تحرک بیشتر بین سطح شده و تشکیل قطره‌های ریز محتمل‌تر می‌شود؛ علاوه بر این کشش بین‌سطحی می‌تواند تخریب قطره‌ها را تحت تأثیر قرار دهد (Yang *et al.*, 2013).

در تحقیق صورت گرفته توسط Saberi و همکاران (۲۰۱۳) ترکیب فاز روغنی (نسبت ویتامین E به MCT) تأثیر زیادی روی سایز قطره‌ها داشت. تعیین نسبت قسمت هیدروفیل به لیپوفیل (HLD)<sup>۱</sup> معیاری جهت تعیین تمایل نسبی سورفاکتانت به فازهای هیدروفیل و لیپوفیل است و خصوصیات فاز روغن (مانند نوع روغن)، نوع فاز آبی (مانند حضور نمک و الکترولیت) و نیز فاکتورهای محیطی (مانند دما) بر تمایل نسبی مولکول‌های سورفاکتانت به فاز روغن و آب تأثیرگذار است (Rao & McClements, 2012). خواص مخلوط‌های سورفاکتانت-روغن-آب، در اندازه قطره‌های حاصل شده مهم‌تر از ویژگی‌های روغن خالص است. خصوصیات فاز روغن (مانند نوع روغن)، نوع فاز آبی (مانند حضور نمک و الکترولیت) و نیز فاکتورهای محیطی (مانند دما) روی تمایل نسبی مولکول‌های سورفاکتانت به فاز روغن و آب مؤثر هستند؛ بنابراین، تغییر در ماهیت فاز روغن می‌تواند ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی سورفاکتانت را تغییر دهد. همان‌طور که کشش سورفاکتانت به فاز آبی به صفر میل کند، کشش بین‌سطحی روغن-آب در سیستم سورفاکتانت-روغن-آب کاهش می‌یابد و تشکیل خودبه‌خودی قطره‌های ریز روغن آسان می‌شود (Salager *et al.*, 2004).

#### مورفولوژی قطره‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی

تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی

<sup>1</sup> Hydrophil- Lipophil- Deviation

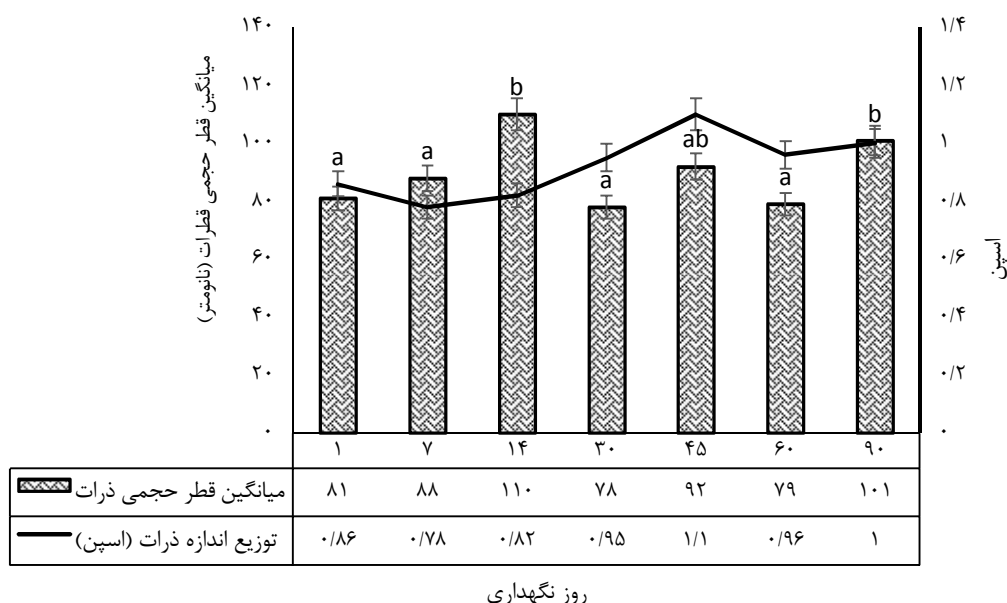
### پتانسیل زتای نمونه‌های نانوامولسیون با فرمولاسیون SER ۱۰ و ۱۷/۵ درصد

پتانسیل زتا معیاری از بار کلی روی سطح ذرات است، هر اندازه بارهای هم‌نام روی سطح قطره‌ها و ذرات موجود در سیستم بیشتر باشد، نیروی دافعه بین آنها بیشتر می‌شود. سیستم SER ۱۰ درصد دارای پتانسیل زتای ۳/۳۲- و سیستم SER ۱۷/۵ درصد دارای پتانسیل زتای ۲۷/۹- است. سطح ذرات و قطره‌ها در سیستم‌های کلوئیدی، به دلیل ماهیت ذاتی و یا جذب لایه سورفاکتانت یونی، دارای بار الکتریکی است. بار الکتریکی قطره‌ها به عواملی چون نوع و غلظت سورفاکتانت مورد استفاده روی سطح قطره‌ها و شرایط محیطی (pH، دما و قدرت یونی) بستگی دارد.

افزایش غلظت و ظرفیت الکترولیت‌ها (بیشتر یون‌های نمکی) و ترکیبات باردار یونیزه موجود در محیط باعث افزایش قدرت یونی محیط می‌شود که این افزایش، باعث کاهش نیروی‌های دفعی الکترواستاتیک و در نتیجه باعث افزایش ناپایداری می‌شود و احتمال انبوهش قطره‌ها افزایش می‌یابد.

### پایداری اندازه قطره‌های فرمولاسیون نانوامولسیون بهینه در طی مدت ماندگاری ۹۰ روز

همان‌طور که در شکل (۶) مشخص است بین روزهای مختلف نگهداری تفاوت معنی‌داری در اندازه و پراکنش اندازه قطره‌های فرمولاسیون بهینه مشاهده نشد و همواره قطره‌ها در اندازه نانو بودند.



شکل ۶- اندازه و توزیع اندازه ذرات فرمولاسیون بهینه نانوامولسیون (SER ۱۷/۵ درصد، توپین ۸۰ به‌عنوان سورفاکتانت و میگلیول ۸۱۲ به‌عنوان فاز روغنی حامل حاوی ۵ درصد ویتامین A و D) در طی مدت نگهداری (روزهای ۱، ۷، ۱۴، ۳۰، ۴۵، ۶۰ و ۹۰ پس از تولید)

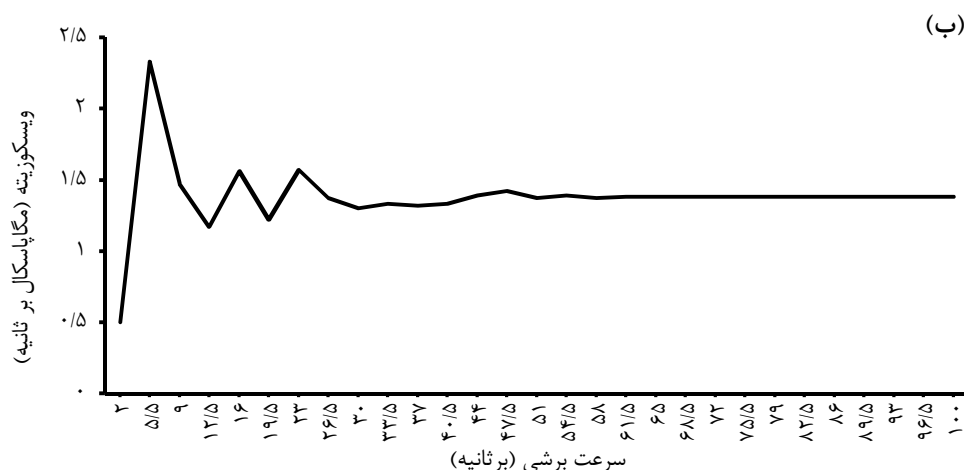
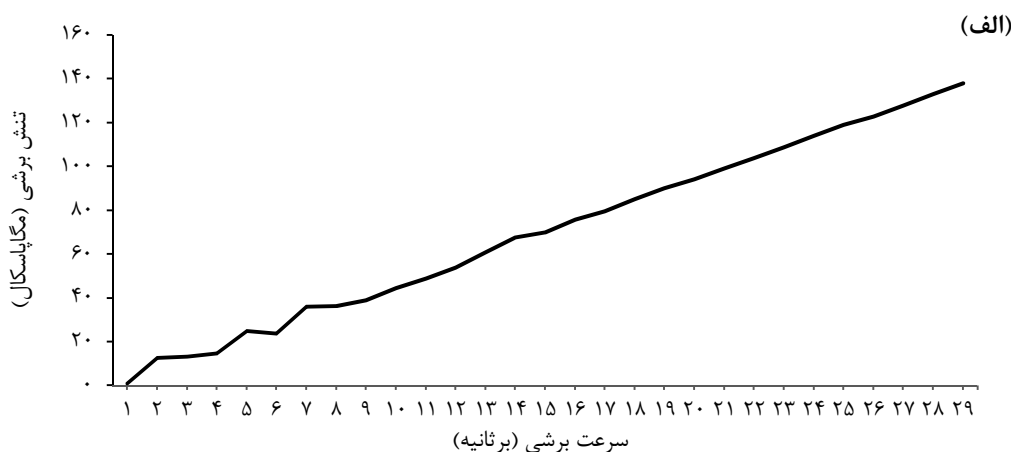
از طریق فاز آبی به قطره‌های درشت‌تر انتشار می‌یابند. به این ترتیب قطره‌های کوچک، کوچک‌تر و قطره‌های بزرگ، بزرگ‌تر می‌شوند و به تدریج در طول زمان، اندازه متوسط قطره‌ها در امولسیون یا نانوامولسیون افزایش می‌یابد. در عمل مهم‌ترین عاملی که پایداری نانوامولسیون به رسیدگی استوالد را تعیین می‌کند، حلالیت روغن در فاز آبی است (McClements, 2005). اگر نانوامولسیون با روغن‌هایی تولید شود که عمدتاً متشکل از تری‌آسیل گلیسرول‌های زنجیر کوتاه باشد، نسبت به رسیدگی استوالد مقاوم نخواهد بود. با انتشار

پایداری امولسیون‌ها (سنتیکی یا ترمودینامیکی) بسیار مهم بوده و مهم‌ترین روش برای پایدار کردن امولسیون‌ها، از طریق جذب سورفاکتانت در سطح بین ذرات و محیط دیسپرسیون و کاهش کشش بین‌سطحی است. پایداری سیستم نانوامولسیون تولیدی در این تحقیق نسبت به تفکیک گرانشی هم می‌تواند به اندازه کوچک قطره‌ها نسبت داده شود، زیرا سرعت خامه‌بستن یک قطره لیپیدی با افزایش شعاع قطره افزایش می‌یابد (Yang et al., 2012). در رسیدگی استوالد، مولکول‌های روغن از قطره‌های کوچک،

### خواص رئولوژیکی پایا در فرمولاسیون نانوامولسیون بهینه

ارتباط تنش برشی و ویسکوزیته به صورت تابعی از سرعت برشی، برای تعیین نوع رفتار جریانی نمونه‌ها در فاصله زمانی ۱۰ دقیقه و سرعت برشی ( $S^{-1}$ ) ۱۰۰-۲ اندازه‌گیری شد. همان‌طور که در شکل (۷) مشاهده می‌شود، بین تنش برشی و سرعت برشی رابطه نسبتاً خطی وجود دارد و این رفتار نشان می‌دهد که محلول دارای ساده‌ترین رفتار جریانی، یعنی رفتار نزدیک به نیوتنی است. در این سیالات، شیب خط نمودار تنش برشی-سرعت برشی، ویسکوزیته را نشان می‌دهد، به طوری که با افزایش ویسکوزیته محلول، شیب منحنی نیز افزایش می‌یابد.

مولکول‌های فاز پراکنده از قطره‌های ریز به درشت، به تدریج غلظت این ترکیبات درون قطره‌های ریز افزایش می‌یابد. (Ostertag *et al.*, 2012). سرعت خامه‌بستن یک قطره لیپیدی با افزایش قطر قطره‌ها افزایش می‌یابد. بنابراین امولسیون‌های حاوی قطره‌های بزرگ‌تر سریع‌تر از آنهایی که حاوی قطره‌های کوچک‌تر هستند، خامه خواهند بست (McClements, 2005). در نتیجه نمونه‌هایی که حاوی قطره‌های بزرگ‌تر بوده‌اند و یا پس از گذشت زمان دچار افزایش در میانگین قطر قطره‌ها شده‌اند که این امر به احتمال زیاد متأثر از کاهش غلظت سورفاکتانت در آنهاست، می‌توانند نسبت به خامه‌بستن ناپایدار باشند.



شکل ۷- نمودار تنش برشی-سرعت برشی (الف) و نمودار ویسکوزیته-سرعت برشی فرمولاسیون بهینه نانوامولسیون (ب) (فرمولاسیون بر پایه تویین ۸۰ به عنوان سورفاکتانت، میگلیول ۸۱۲ به عنوان روغن حامل ۵ درصد ویتامین A و D و غلظت سورفاکتانت ۱۷/۵ درصد)

تأثیر چندانی بر ویسکوزیته نانوامولسیون تولیدی ندارد. باتوجه به نیوتنی بودن رفتار امولسیون تولیدی، می‌توان

باتوجه به شکل (۷) مشاهده می‌شود ویسکوزیته به سرعت برشی وابسته نیست و افزایش سرعت برشی،

گیرافتاده و کسر حجمی مؤثر افزایش می‌یابد، در نتیجه ویسکوزیته افزایش می‌یابد (پزشکی و همکاران، ۱۳۹۴).

در پژوهشی که نیک‌نیا و همکاران (۱۳۹۲) روی تولید نانوامولسیون‌های حاوی ویتامین E انجام دادند، نیز رفتار نزدیک به رفتار نیوتنی در اکثر نمونه‌های حاوی سورفاکتانت ریزمولکول مشاهده شد و رفتار سودوپلاستیک بیشتر در امولسیون‌های با اندازه قطره‌های بزرگ، لخته‌شده و غلیظ مشاهده شد. در واقع، کوچک‌بودن قطره‌ها، پایداری سیستم (عدم انبوهش وسیع) و پایین‌بودن کسر حجمی قطره‌ها، موجب نیوتنی‌بودن نانوامولسیون گردید.

### نتیجه‌گیری

فاکتورهای فیزیکوشیمیایی مختلفی روی تولید، خواص فیزیکوشیمیایی، رئولوژی و پایداری قطره‌های امولسیون مؤثر بوده و ویژگی‌های آنها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. با استفاده از سورفاکتانت غیر یونی توپین ۸۰ و فاز روغنی میگلیول ۸۱۲، اندازه قطره‌های زیر ۹۰ نانومتر به دست آمد. در غلظت‌های پایین SER نیز اندازه قطره‌های بالاتر از ۱۰۰ نانومتر تولید شد و تولید بهینه نانوامولسیون در غلظت‌های SER برابر با ۱۵ و ۱۷/۵ درصد با اندازه قطره‌های زیر ۱۰۰ نانومتر انجام شد که غلظت ۱۷/۵ درصد با پراکنش بهتر ۰/۷۷، میانگین قطر قطره‌ها ۸۱ نانومتر و تک‌مدبودن نمودار توزیع قطره‌ها، به‌عنوان بهترین غلظت معرفی شد. نانوامولسیون بهینه تولیدشده از نتایج پتانسیل زتا، کدورت و پایداری قابل‌قبولی طی ۳ ماه نگهداری برخوردار بود و حتی کاهش قطر قطره‌ها نیز مشاهده شد. فرمولاسیون بهینه نانوامولسیون دارای رفتار نیوتنی بود.

به این نتیجه رسید که محلول فوق، محلولی رقیق بوده و هنوز به غلظت و کسر حجمی بحرانی نرسیده تا شاهد افزایش یکباره ویسکوزیته و ظهور رفتار سودوپلاستیک (روان‌شونده با برش) در آن باشیم. لخته‌شدن قطره‌ها در امولسیون می‌تواند علاوه بر افزایش اندازه قطره‌ها، موجب افزایش ویسکوزیته در کسر حجمی ثابت گردد. چون، مقادیری از فاز پیوسته در بین قطره‌ها گیر می‌افتند. ضخامت و ساختار فیلم تشکیل‌شده توسط سورفاکتانت، در لایه سطحی نیز می‌تواند در مقادیر ویسکوزیته امولسیون مؤثر باشد. رئولوژی امولسیون‌ها علاوه بر کسر حجمی فاز پراکنده، به عواملی نظیر رئولوژی فازهای تشکیل‌دهنده، اندازه و توزیع اندازه قطره‌ها، برهم‌کنش بین قطره‌ها، میزان انبوهش (فلاکولاسیون) قطره‌ها، نوع و ضخامت لایه سورفاکتانت و قدرت یونی فاز پیوسته نیز وابسته است (Najafi-Taher & Amani, 2017). نتایج این تحقیق نشان می‌دهد نوع سورفاکتانت و نسبت آن به فاز پراکنده، تأثیر زیادی در ویسکوزیته نانوامولسیون دارد. در سرعت‌های برشی پایین، به دلیل تغییر شکل قطره‌ها و شکسته‌شدن پیوندهای ضعیف (هیدروژنی) و تفکیک قطره‌های انبوهش‌شده، ویسکوزیته به صورت ناگهانی کاهش می‌یابد. در سرعت‌های برشی بالاتر، ویسکوزیته به سرعت برشی وابسته نیست و با افزایش سرعت برشی، ویسکوزیته در تمام سرعت‌های اعمال‌شده، ثابت می‌ماند (نیک‌نیا و همکاران، ۱۳۹۲). هر چقدر اندازه ذرات (در کسر حجمی ثابت) کوچک‌تر باشد، ویسکوزیته سیستم بالاتر می‌شود. پتانسیل زتا بالاتر قطره‌ها نیز باعث افزایش کسر حجمی مؤثر و در نتیجه ویسکوزیته بیشتر می‌شود. در مقابل توزیع غیریکنواخت و گسترده ذره (اسپن بالاتر) منجر به نزدیک‌شدن بیشتر ذرات به یکدیگر و در نتیجه ویسکوزیته پایین‌تر می‌گردد. همچنین با تشکیل لخته و ادغام ذرات (فلاکولاسیون)، سیال فاز پیوسته بیشتر

### منابع

- ۱- پزشکی، الف، قنبرزاده، ب، همیشه‌کار، ح، مقدم، م. و فتح‌اللهی، ع. ۱۳۹۴. تهیه نانوامولسیون‌های حامل ویتامین A پالمیتات به روش خودبه‌خودی: بررسی تأثیر سورفاکتانت و فاز روغنی بر اندازه قطرات و پایداری. پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، ۴(۴): ۲۹۹-۳۱۴.
- ۲- حسنی، ف. ۱۳۹۴. تولید و بهینه‌سازی فرمولاسیون نانوامولسیون حاوی بتاکاروتن (به روش تشکیل خودبه‌خودی). پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد ممقان.
- ۳- فامیان، ح. ۱۳۹۵. غنی‌سازی شیر کم‌چرب پاستوریزه با استفاده از نانوامولسیون حاوی لپنولنیک اسید کونژوگه (CLA). پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد ممقان.

- ۴- قنبرزاده، ب.، الماسی، ه. و نیکنیا، ن. ۱۳۹۲. شیمی و فیزیک سیستم‌های کلوئیدی و محلول‌های بیوپلیمری غذایی. مؤسسه انتشارات علمی دانشگاه صنعتی شریف.
- ۵- مساح، م.، قنبرزاده، ب.، همیشه‌کار، ح. و صوتی‌خیابانی، م. ۱۳۹۲. بررسی اثر ترکیب فاز روغن در تولید نانومولسیون‌های حاوی آلفاتوکوفرول با استفاده از روش کم‌انرژی. بیست و یکمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی، ۹-۷ آبان ماه، شیراز.
- ۶- نیکنیا، ن.، قنبرزاده، ب.، همیشه‌کار، ح. و صوتی‌خیابانی، م. ۱۳۹۲. تهیه و ارزیابی نانومولسیون خوراکی ویتامین E با روش خودبه‌خودی. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۴(۸): ۶۵-۵۱.
- 7- Anton, N., & Vandamm, T. 2009. Low energy nano- emulsifications: overview and potentials in microencapsulation, P. 1-4. XVII International Conference on Bioencapsulation, 24-26 September. 2009. Groningen, Netherland.
- 8- Champagne, C.P., & Fustier, P. 2007. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Current Opinion in Biotechnology*, 18(2):184-190.
- 9- Davidov-Pardo, G., & 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.
- 10- Fathi, M., Mozafari M.R., & Mohebbi, M. 2012. Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. *Trends in Food Science & Technology*, 23(1):13-27.
- 11- Fatouros, D.G., & Antimisiaris, S.G. 2002. Effect of amphiphilic drugs on the stability and zeta-potential of their liposome formulations: a study with prednisolone, diazepam, and griseofulvin. *Journal of Colloid and Interface Science*, 251(2):271-277.
- 12- Ghanbarzadeh, B., Babazadeh, A., & Hamishekar, H. 2016. Nano-phytosome as a potential food-grade delivery system. *Food Bioscience*, 15:126-135.
- 13- Gonnet, M., Lethuaut, L., & Boury, F. 2010. New trends in encapsulation of liposoluble vitamins. *Journal of Controlled Release*, 146(3):276-290.
- 14- Guttoff, M., Saberi, A.H., & McClements, D.J. 2015. Formation of vitamin D nanoemulsion-based delivery systems by spontaneous emulsification: factors affecting particle size and stability. *Food Chemistry*, 171:117-122.
- 15- Klang, V., Matsko, N.B., Valenta, C., & Hofer, F. 2012. Electron microscopy of nanoemulsions: an essential tool for characterisation and stability assessment. *Micron*, 43(2-3):85-103.
- 16- Komaiko, J., & McClements, D.J. 2014. Optimization of isothermal low-energy nanoemulsion formation: Hydrocarbon oil, non-ionic surfactant, and water systems. *Journal of Colloidal and Interface Science*, 425:59-66.
- 17- Li, Y., Zheng, J., Xiao, H., & McClements, D.J. 2012. Nanoemulsion-based delivery systems for poorly water-soluble bioactive compounds: Influence of formulation parameters on polymethoxyflavone crystallization. *Food Hydrocolloids*, 27(2):517-528.
- 18- McClements, D.J. 2005. *Food Emulsions: Principles, Practice and Technology*. CRC Press: Boca Raton, Florida.
- 19- Najafi-Taher, R., & Amani, A. 2017. Nanoemulsions: colloidal topical delivery systems for antiacne agents- a mini-review. *Nanomedicine Research Journal*, 2(1):49-56.
- 20- 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.
- 21- Rao, R., & McClements, D.J. 2012. Food-grade microemulsions and nanoemulsions: role of oil phase composition on formation and stability. *Food Hydrocolloids*, 29(2):326-334.
- 22- Saberi, A.H., 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- Salager, J.L., Forgiarini, A., Marquez, L., Pena, A., Pizzino, A., Rodriguez, M.P., & Rondon-Gonzalez, M. 2004. Using emulsion inversion in industrial processes. *Advances in Colloid Interface Science*, 108-109:259-272.
- 24- Silva, H.D., Cerqueira, M.A., & Vicente, A.A. 2012. Nanoemulsions for food applications: development and characterization. *Food and Bioprocess Technology*, 5(3):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- Wulff-Perez, M., Torcello-Gomez, A., Galvez-Ruiz, M.J., & Rodriguez-Martin, A. 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(4):1096-1102.
- 27- Yang, Y., Leser, M.E., Sher, A.A., & McClements, D.J. 2013. Formation and stability of emulsions using a natural small molecule surfactant: quillaja saponin (q-naturale®). *Food Hydrocolloids*, 30(2):589-596 .
- 28- Yang, Y., Marshall-Breton, C., 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(2):398-406.

## Factors Affecting the Production and Stability of Optimal Formulation of Nanoemulsion Containing Vitamin A and D by Spontaneous Production

Akram Pezeshky Najafabadi<sup>1\*</sup>, Fattemeh sadat Hashemi<sup>2</sup>, Afra Marandi<sup>3</sup>,  
Khadije Gharedaghi<sup>4</sup>, Seyed Hosein Jalali<sup>5</sup>

1- Assistant Professor of Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

\* Corresponding author (akram.pezeshki@tabrizu.ac.ir)

2- Instructor of Department of Food Science and Technology of Samin Nan Sahar, Tehran, Iran

3-MS Graduated of Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

4- Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Azad University of Shahriar, Shahrak Ghods, Tehran, Iran

5- Instructor of Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

### Abstract

Due to their unique functional properties, using nanoemulsions for the enrichment of many hydrophobic compounds in beverages is beneficial. In this study, vitamins A and D nano emulsions produced by spontaneous formation using various surfactants (tween 60, 80 and 85) and corn oil and miglyol 812 as carrier oils; various types of vitamins A and D (2:1, 1:1 and 1:2) and various surfactant emulsion ratios (SER). Measurement of the average diameter of the droplets, zeta potential, rheology, turbidity and stability of system during storage time were done. Analysis of the results by laser light dispersion in completely randomized design showed the particle size in formulation with SER=17.5%, using tween 80 and miglyol 812 including 5% vitamin A and D, was equal to 81 nm with -27.9 mv zeta potential was gained. The optimum sample was stable at a temperature of 23 °C during storage time (3 months). The images of the electron microscopy also confirmed the results of measuring the size of droplets by particle size analyzer. The study of the rheological behavior of optimum nano emulsion also indicated the Newtonian behavior and the non-dependence viscosity by shear-shear rates.

**Keywords:** Miglyol 812, Nanoemulsion, Stability, Tween, Vitamin A & D