

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

اکرم پزشکی نجف‌آبادی<sup>1\*</sup>، فاطمه‌السادات هاشمی<sup>2</sup>، افرا مرندی<sup>3</sup>، خدیجه قره‌داغی<sup>4</sup>، سیدحسین جلالی<sup>5</sup>

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

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

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

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

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

تاریخ دریافت: 1396/06/23

تاریخ پذیرش: 1397/02/05

### 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 میگلیول 812؛ نسبت‌های مختلف ویتامین A و D (1:1، 2:1 و 1:2)، 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 90 روز نگهداری انجام گرفت. تجزیه واریانس داده‌های پراکنش نور لیزر کمترین اندازه ذرات را مربوط به فرمولاسیون با SER 17/5 درصد و با استفاده از تویین 80 در میگلیول 812 (حاوی 5 درصد ویتامین A و D) نشان داد که برابر 81 نانومتر و پتانسیل زتای 27/9- بود. این فرمولاسیون بهینه در طی مدت زمان نگهداری (3 ماه) در دمای 23 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.

### واژه‌های کلیدی

پایداری

تویین

میگلیول

نانومولسیون

ویتامین A و D

### مقدمه

پتانسیل محبوب‌شدن 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>1</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، 1394؛ 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>2</sup> 812 و امولسیفایر توپین 80 (پزشکی و همکاران، 1394)، 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، 1392)، نانوامولسیون حاوی بتاکاروتن (حسنی، 1394)، تولید نانوامولسیون حاوی کنژوگه لینولئیک اسید (فامیان، 1395)، نانوامولسیون حاوی رزوراترول<sup>3</sup> بر پایه روغن بادام‌زمینی (Davidov-Pardo & McClements, 2014) و نانوامولسیون حاوی آلفاتوکوفرول (مساح و همکاران، 1392) 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، 1394؛ Champagne & Fustier, 2007). استفاده از نانوحامل‌های لیپیدی برای ترکیبات غذا-داروی آب‌گریز (نوتریسیستیکال<sup>1</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 100-20 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 هموژنیزه 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 (2) محاسبه شد:

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

در رابطه (2)، (90 درصد): قطر که حجم ذرات کوچکتر از آن، 90 درصد حجم کل ذرات موجود در سیستم؛ (50 درصد): قطر که حجم ذرات کوچکتر از آن، 50 درصد حجم کل ذرات موجود در سیستم (قطر میانه) و (10 درصد): قطر که حجم ذرات کوچکتر از آن، 10 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>3</sup> و مقدار فاز آبی و ثابت نگه‌داشتن مقدار فاز روغنی (1 گرم حاوی 5 درصد ویتامین A و 95 + D درصد میگلیول 812) بررسی شد (رابطه 3).

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

در رابطه (3)،  $M_S$ : مقدار سورفاکتانت مورد استفاده،  $M_W$ : مقدار آب بافر مورد استفاده و  $M_O$ : مقدار فاز روغنی (1 گرم حاوی 5 درصد ویتامین A و 95 + D درصد میگلیول 812) در نانوامولسیون‌های تولیدشده، 5 درصد متفاوت SER (10، 12/5، 15، 17/5 و 20 درصد) بررسی شد.

**تأثیر نوع سورفاکتانت در فرمولاسیون نانوامولسیون بهینه**

جهت بررسی تأثیر نوع سورفاکتانت بر تولید قطره‌های ریز نانوامولسیون بهینه از 3 نوع سورفاکتانت سنتزی غیریونی (توین 80، 60 و 85) استفاده شد. ساختار شیمیایی و خصوصیات فیزیکی این سورفاکتانت‌های سنتزی غیریونی در جدول (1) 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 98 درصد (سیگما، آلمان)، میگلیول 812 و ویتامین D<sub>3</sub> (ایران، شرکت داروسازی زهراوی)، روغن ذرت (سیگما، آلمان)، بافرسفات، سورفاکتانت‌های غیریونی پلی‌سوربات (توین 80، 60 و 85) (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 3000، ساخت آلمان) با سرعت بهینه 500 دور در دقیقه در دمای آزمایشگاه (23 درجه سانتی‌گراد) هم‌زده شد. پس از اتمام ریختن فاز روغنی، به سیستم به مدت 40 دقیقه فرصت داده شد در سرعت 500 دور در دقیقه هم‌زده شود تا به تعادل برسد. متوسط اندازه قطره‌های نانوامولسیون‌های تولیدشده براساس میانگین قطر حجمی (رابطه 1) و شاخص پخش‌پذیری (اسپن<sup>1</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 3 تکرار پس از گذشت 24 ساعت از تولید نمونه و نگهداری آن در دمای محیط انجام شد. میانگین قطر حجمی (میانگین حجم معادل<sup>2</sup>):

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

در رابطه (1)،  $n_i$ : تعداد ذرات،  $d_i$ : قطر میانگین ذرات می‌باشد.

<sup>1</sup> Span

<sup>2</sup> Debroukere Mean

<sup>3</sup> Surfactant Emulsion Ratio

جدول 1- ساختار شیمیایی و خصوصیات فیزیکی سورفاکتانت‌های غیریونی مورد استفاده در تولید نانومولسیون

وزن مولکولی (گرم/مول)	عدد HIB	ساختار شیمیایی	فرمول مولکولی	سورفاکتانت غیریونی
1237/51	16/7	پلی‌اکسی‌اتیلن-60-سوربیتان مونولورئات	C <sub>64</sub> H <sub>124</sub> O <sub>26</sub>	تویین 60
1309/65	15	پلی‌اکسی‌اتیلن-60-سوربیتان مونولورئات	C <sub>64</sub> H <sub>124</sub> O <sub>26</sub>	تویین 80
1838/54	11	پلی‌اکسی‌اتیلن-60-سوربیتان تری‌ولئات	C <sub>100</sub> H <sub>188</sub> O <sub>28</sub>	تویین 85

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

### تعیین پایداری نانومولسیون

پایداری بلندمدت نانومولسیون بهینهٔ تولیدشده با اندازه‌گیری تغییرات در اندازهٔ قطره‌های آن و همچنین ظاهر در طی نگهداری در دمای آزمایشگاه (تقریباً دمای 23 درجهٔ سانتی‌گراد) به مدت 3 ماه بررسی شد (Yang et al., 2013). آزمون‌ها شامل اندازه‌گیری پایداری نانومولسیون‌های آزمایشی با اندازه‌گیری میانگین اندازهٔ ذرات میزان کدورت نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر ماورای بنفش-مرئی (مدل Ultraspec, 2000، ساخت انگلستان) در طول موج 600 نانومتر با رقیق‌سازی نمونه به وسیلهٔ بافر فسفات (pH=7) تا غلظت‌های روغن 0/15، 0/10، 0/07 و 0/03 درصد بود (Gonnet et al., 2010).

### اندازه‌گیری خواص رئولوژیکی پایا

خصوصیات جریان‌پذیری فرمولاسیون بهینهٔ نانومولسیون در مقدار 10 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 (100-0/01 در ثانیه) برای تعیین رفتار جریان‌ی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. آزمون پایا در محدودهٔ نرخ برش 0/01 تا 100 بر ثانیه انجام شد (Yang et al., 2012).

### طرح آماری

طرح آماری آزمایش براساس آزمون فاکتوریل بر پایهٔ طرح کاملاً تصادفی اپتیمیم‌سازی<sup>2</sup> و با 3 تکرار انجام پذیرفت. برای تحلیل داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون مقایسهٔ میانگین‌های دانکن در

### تأثیر ترکیب فاز روغنی روی اندازهٔ 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 812، روغن ذرت و غلظت‌های مختلف ویتامین D و A استفاده شد.

#### پتانسیل زتا

برای مشخص‌شدن نحوهٔ عمل نیروهای دافعهٔ الکتروستاتیک بین قطره‌های نانومولسیون و میزان پایداری سیستم حاصل از نتایج تحرک الکتروفورتیک و پتانسیل زتا با استفاده از دستگاه زتاسایزر (Nano-ZS Malvern، ساخت انگلستان) در طی 90 روز نگهداری استفاده شد. برای این‌منظور، هریک از نمونه‌ها ابتدا با استفاده از آب مقطر 10 برابر رقیق شدند. سپس نمونه‌ها توسط سرنگی داخل لولهٔ موئین منتقل و لولهٔ موئین در محل مخصوص در داخل دستگاه قرار گرفت. اندازه‌گیری پتانسیل زتا در 7/4 pH= در دمای 25 درجهٔ سانتی‌گراد و توان 149 وات انجام شد (Fatouros & Antimisiaris, 2002).

### مورفولوژی نانومولسیون با استفاده از میکروسکوپ

#### الکترونی عبوری (TEM)<sup>1</sup>

نمونهٔ 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

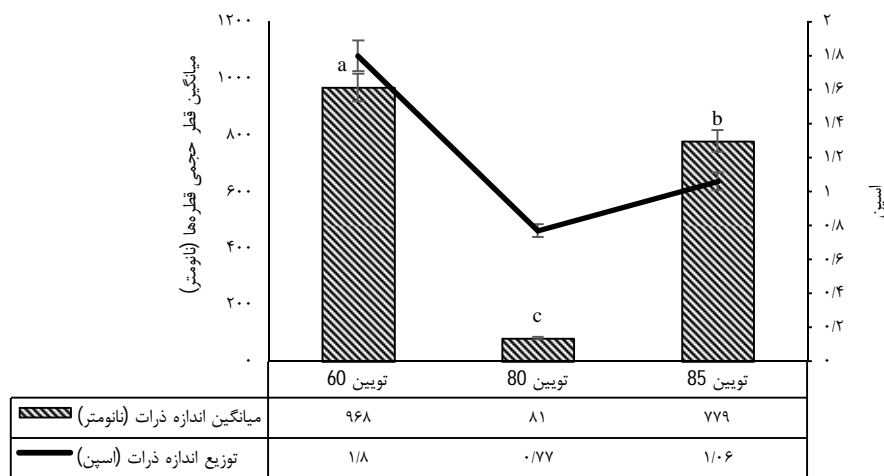
<sup>1</sup> Transmission Electron Microscopy

(تویین 60، 80 و 85) بررسی شد (شکل 1). با استفاده از تویین 85 و 60 اندازه قطره‌ها بیش از 700 نانومتر به دست آمد، همچنین توزیع اندازه ذرات وسیع و گسترده بود که نشان از عدم یکنواختی در اندازه قطره‌ها و تک‌مدبودن پراکنش قطره‌هاست. با استفاده از تویین 80 به عنوان سورفاکتانت غیریونی، اندازه قطره‌ها در حد نانومتر (81 نانومتر) با توزیع یکنواخت باریک و تک‌مد به دست آمد. از این سورفاکتانت به عنوان سورفاکتانت بهینه در سایر آزمایش‌ها استفاده شد.

سطح 5 درصد و نرم‌افزار آماری SPSS نسخه 19 استفاده شد.

### نتایج و بحث

اثر نوع سورفاکتانت بر اندازه و توزیع اندازه قطره‌ها اثر نوع سورفاکتانت بر اندازه و توزیع اندازه قطره‌های نانومولسیون با تهیه یکسری از مولسیون‌ها با ترکیب ثابت فاز روغن حامل (1 گرم حاوی 5 درصد ویتامین A و D + 95 درصد میگیلول 812) و با استفاده از SER 17/5 درصد و با انواع متفاوت سورفاکتانت



نوع سورفاکتانت غیریونی

شکل 1 - تأثیر نوع سورفاکتانت بر اندازه قطره‌ها (span) در نانومولسیون‌های تهیه‌شده با استفاده از فاز روغنی میگیلول 812 حاوی 5 درصد ویتامین A و D و غلظت سورفاکتانت یونی (SER) 17/5 درصد، در دمای 23 درجه سانتی‌گراد

( $C_{12}=0$ )، تویین 80، 1 دم مونوولئات<sup>2</sup> ( $C_{18}=1$ ) و تویین 85، 1 دم تری‌ولئات<sup>3</sup> ( $3 \times C_{18}=1$ ) دارد (Ostertag et al., 2012). تویین 80 با HLB برابر 15 کوچک‌ترین قطره‌ها را تولید کرد، درحالی‌که با استفاده از  $T_{60}$  با HLB برابر 16/7 (که نشان‌دهنده بالاتر بودن درجه هیدروفیلی آن است)، قطره‌های درشت‌تری تولید شد. در ساختار زنجیره آب‌گریز تویین 80 پیوند دوگانه از استراولئات وجود دارد که سبب تحرک بیشتر آن نسبت به تویین‌هایی با زنجیره اشباع مانند تویین 60 می‌شود (Guttoff et al., 2015). تویین‌هایی با وزن مولکولی بالا (مانند تویین 85) نیز که سرعت حرکت سورفاکتانت از فاز آلی به

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، 1392). 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 1). تویین 60، 1 دم مونولورات<sup>1</sup>

<sup>2</sup> Mono Oleat

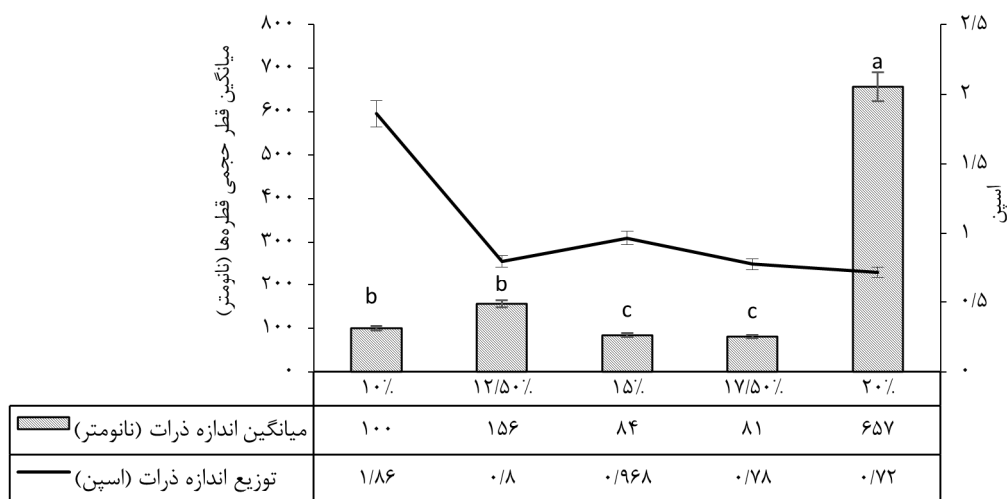
<sup>3</sup> Tri Oleat

<sup>1</sup> Mono Lurat

آبی را کاهش می‌دهند، خاصیت امولسیفایری ضعیفی از خود نشان می‌دهند (پزشکی و همکاران، 1394). مشابه با نتیجه به دست آمده در این تحقیق، پزشکی و همکاران (1394) در تولید نانوامولسیون حاوی ویتامین A پالمیتات، Guttoff و همکاران (2015) در تولید نانوامولسیون حاوی ویتامین D، Saberi و همکاران (2013) در تولید نانوامولسیون حاوی ویتامین E، حسنی (1394) در تولید نانوامولسیون حاوی بتاکاروتن و فامیان (1395) در تولید نانوامولسیون حاوی کنژوگه لینولئیک اسید، نتایج مشابه با اندازه قطره‌ها زیر 100 نانومتر با تولید امولسیون به روش تشکیل خودبه‌خودی و استفاده از توپین 80 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 (1 گرم حاوی 5 درصد 0/05 گرم) مخلوط ویتامین A و D + 95 درصد



درصد نسبت سورفاکتانت به امولسیون

شکل 2- تأثیر غلظت سورفاکتانت به امولسیون بر اندازه و توزیع اندازه قطره‌ها (span) در نانوامولسیون‌های تهیه شده با استفاده از فاز روغنی میگلیول 812 حاوی 5 درصد ویتامین A و D و سورفاکتانت غیریونی توپین 80 در دمای 23 درجه سانتی‌گراد

<sup>1</sup> Bimodal

<sup>2</sup> Monomodal



جدول 2- 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)
10 SER درصد	1	1 (ثابت)	8	100	1/86
12/5 SER درصد	1/25	1 (ثابت)	7/75	156	0/8
15 SER درصد	1/5	1 (ثابت)	7/5	84	0/968
17/5 SER درصد	1/75	1 (ثابت)	7/25	81	0/78
20 SER درصد	2	1 (ثابت)	7	657	0/72

شد، اندازه قطره‌ها از حدود 55 نانومتر به 160 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>1</sup>)، ناشی از خالی شدن فاز پیوسته بین 2 قطره می‌گردد (قنبرزاده، 1386). Wulff-Perez و همکاران (2009) نیز ناپایداری شدن نانومولسیون‌ها در بالاتر از یک غلظت سورفاکتانت را به مکانیسم خالی شدن-فلاکولاسیون<sup>2</sup> میسل‌های سورفاکتانت جذب شده مرتبط دانستند.

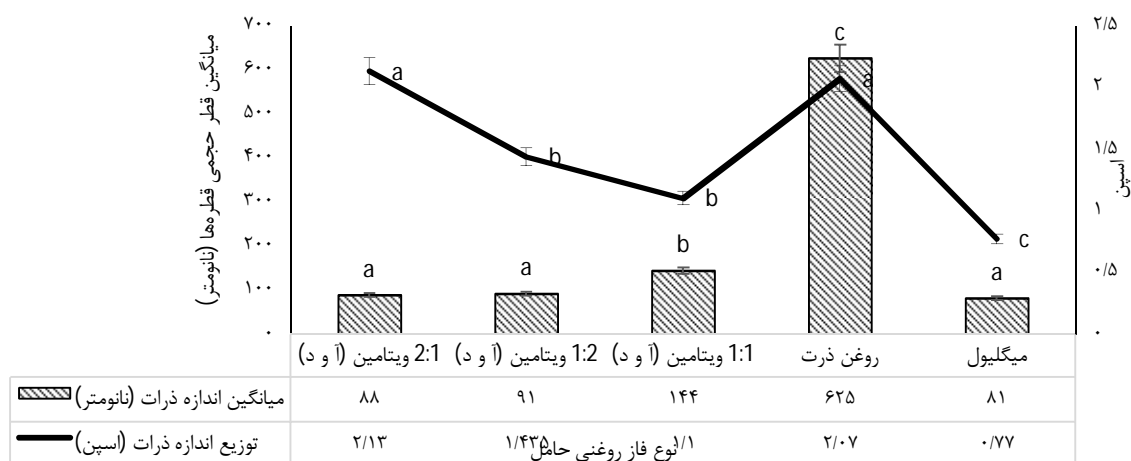
در تهیه نانومولسیون ترکیب اجزاء و نسبت سورفاکتانت به امولسیون (SER) بر توزیع اندازه ذرات تأثیرگذار است (Komaiko & McClements, 2014). اگر غلظت امولسیفایر در سیستم برای پوشاندن کامل لایه بین‌سطحی روغن-آب کم باشد، درهم‌آمیختن و تجمع قطره‌ها رخ می‌دهد. دلیل کاهش اندازه قطره‌ها با افزایش غلظت سورفاکتانت را 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 (Saberi et al., 2013; Guttoff et al., 2015). مساح و همکاران (1392) نیز در تحقیق خود روی تولید نانومولسیون حاوی ویتامین E گزارش کردند در غلظت‌های بالاتر سورفاکتانت (16/5 SER 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، 1394؛ مساح و همکاران، 1392؛ نیک‌نیا و همکاران، 1392؛ Najafi-Taher & Amani, 2017). Saberi و همکاران (2013) 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 80 به عنوان ترکیب فعال سطحی با روش خودبه‌خودی انجام دادند، مشاهده کردند وقتی غلظت سورفاکتانت از 10 درصد به 17/5 درصد افزایش داده

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

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

با انجام آزمایش‌های قبلی، 17/5 SER درصد به‌عنوان غلظت بهینه سورفاکتانت و توپین 80 به‌عنوان سورفاکتانت غیریونی هیدروفیل شناخته شد. به‌منظور بررسی تأثیر فاز روغنی از انواع روغن‌ها (میگلیول 812، روغن ذرت و غلظت‌های مختلف ویتامین D و A) استفاده شد تا بهترین فاز روغنی در تولید قطره‌های نانو با توزیع یکنواخت گردد (شکل 3). همان‌طورکه

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 17/5 SER درصد، توپین 80 به‌عنوان سورفاکتانت فاز آبی و میگلیول 812 به‌عنوان فاز روغنی حامل حاوی 5 درصد ویتامین A و D به‌عنوان فرمولاسیون بهینه برای انجام سایر آزمایش‌ها (مورفولوژی، پتانسیل زتا، کدورت و رئولوژی) و تست پایداری انتخاب شد.



شکل 3- تأثیر نوع فاز روغنی حامل حاوی 5 درصد ویتامین A و D بر اندازه و توزیع اندازه قطره‌ها در نانومولسیون‌های تهیه‌شده با استفاده از توپین 80 به‌عنوان سورفاکتانت غلظت سورفاکتانت به امولسیون 17/5 درصد، در دمای 23 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>1</sup> تشکیل شده‌اند. سایر تری‌آسیل گلیسرول‌ها با زنجیر متوسط (MCT)<sup>2</sup> و کوتاه‌زنجیر (SCT)<sup>3</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 812 مایع بی‌رنگ مایل به زرد روشن، متشکل از 55 درصد تری‌گلیسیرید با اسید چرب 8 کربنه و 45 درصد تری‌گلیسیرید با اسید چرب 10 کربنه است. دانسیته و ویسکوزیته این روغن در دمای 20 درجه سانتی‌گراد، به‌ترتیب 95 گرم بر سانتی‌مترمکعب و 30 میلی‌پاسکال در ثانیه است. در طی نگهداری تجزیه نمی‌شود و هیچ واکنش خطرناکی هم برای آن معرفی نشده است (پزشکی و همکاران، 1394).

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

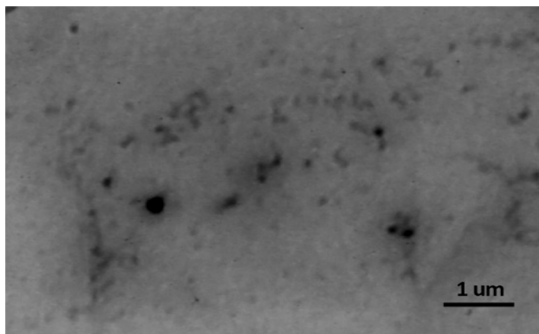
<sup>1</sup> Long-chain Triacylglycerols

<sup>2</sup> Medium-chain Triacylglycerols

<sup>3</sup> Short-chain Triacylglycerols



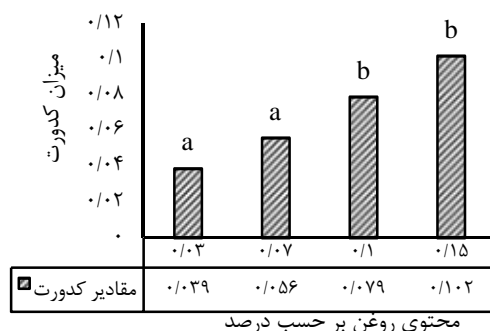
(SEM)، قطره‌های کروی شکل در سیستم نانوامولسیون بهینه، بدون رخ دادن تجمع و انبوهش و همچنین جدایی فاز، در اندازه نانو را نشان داد که تأییدی بر نتایج به دست آمده از دستگاه اندازه‌گیری ذرات بود (شکل 4).



شکل 4- تصویر میکروسکوپی الکترونی روبشی از سیستم نانوامولسیون بهینه (SER 17/5 درصد، توپین 80 به عنوان سورفاکتانت غیریونی و میگلیول 812 به عنوان فاز روغنی حامل حاوی 5 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 600 نانومتر تا 4 سطح متفاوت مقدار روغن (0/15، 0/10، 0/07 و 0/03) در شکل (5) نشان داده شده است. نتایج نشان داد ارتباط خطی میان جذب و محتوای روغن برای نمونه مطالعه شده وجود دارد.



شکل 5- بررسی میزان کدورت فرمولاسیون نانوامولسیون بهینه

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در 5 درصد آزمون دانکن می‌باشد.

نانوامولسیون‌های تولید شده با روغن‌های LCT و MCT، از پایداری فیزیکی بسیار بالایی برخوردار هستند (حسنی، 1394). 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 بین‌سطح 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 (2013) ترکیب فاز روغنی (نسبت ویتامین E به MCT) تأثیر زیادی روی سایز قطره‌ها داشت. تعیین نسبت قسمت هیدروفیل به لیپوفیل (HLD)<sup>1</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

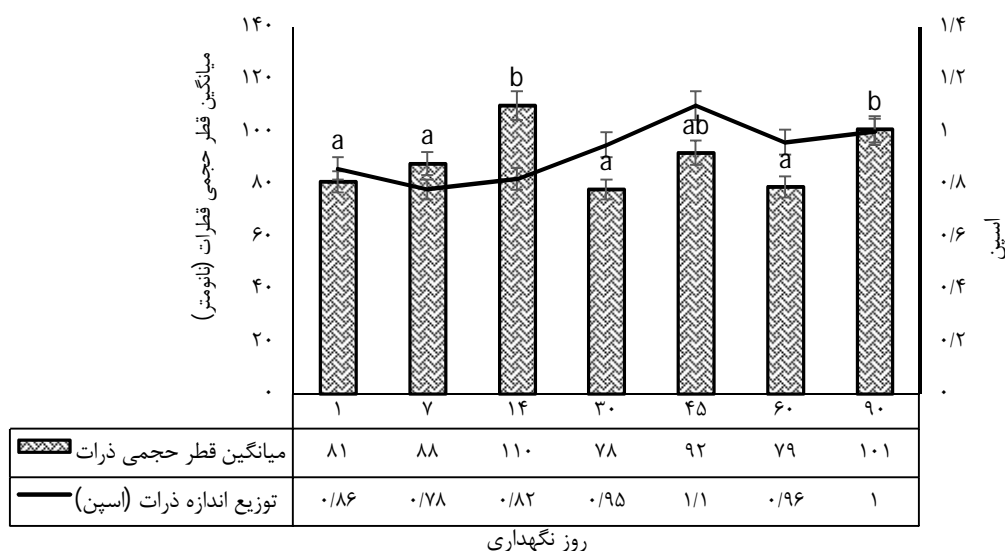
**پتانسیل زتای نمونه‌های نانوامولسیون با فرمولاسیون 10 و 17/5 درصد**

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 10 SER درصد دارای پتانسیل زتای 3/32- و سیستم 17/5 SER درصد دارای پتانسیل زتای 27/9- 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 90 روز**

همان‌طور که در شکل (6) 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 6- اندازه و توزیع اندازه ذرات فرمولاسیون بهینه نانوامولسیون (17/5 SER درصد، توپین 80 به‌عنوان سورفاکتانت و میگلپول 812 به‌عنوان فاز روغنی حامل حاوی 5 درصد ویتامین A و D) در طی مدت نگهداری (روزهای 1، 7، 14، 30، 45، 60 و 90 پس از تولید)

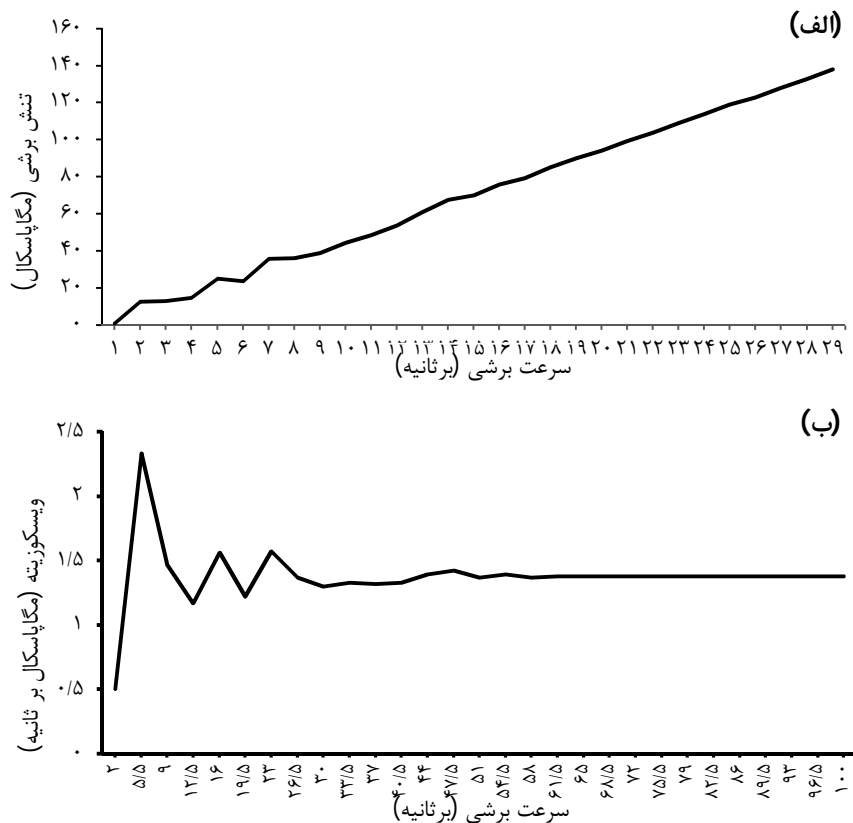
به این ترتیب قطره‌های کوچک، کوچک‌تر و قطره‌های بزرگ، بزرگ‌تر می‌شوند و به تدریج در طول زمان، اندازه متوسط قطره‌ها در امولسیون یا نانوامولسیون افزایش می‌یابد. در عمل مهم‌ترین عاملی که پایداری نانوامولسیون به رسیدگی استوالد را تعیین می‌کند، حلالیت روغن در فاز آبی است (McClements, 2005). اگر نانوامولسیون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

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، از طریق فاز آبی به قطره‌های درشت‌تر انتشار می‌یابند.

ارتباط تنش برشی و ویسکوزیته به صورت تابعی از سرعت برشی، برای تعیین نوع رفتار جریان نمونه‌ها در فاصله زمانی 10 دقیقه و سرعت برشی  $(S^{-1})$  2-100 اندازه‌گیری شد. همان‌طور که در شکل (7) 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.

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.

خواص رئولوژیکی پایا در فرمولاسیون نانومولسیون بهینه



شکل 7- نمودار تنش برشی-سرعت برشی (الف) و نمودار ویسکوزیته-سرعت برشی فرمولاسیون بهینه نانومولسیون (ب) (فرمولاسیون بر پایه تویین 80 به عنوان سورفاکتانت، میکلیول 812 به عنوان روغن حامل 5 درصد ویتامین A و D و غلظت سورفاکتانت 17/5 درصد)

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

باتوجه به شکل (7) مشاهده می‌شود ویسکوزیته به سرعت برشی وابسته نیست و افزایش سرعت برشی، تأثیر چندانی بر ویسکوزیته نانومولسیون تولیدی ندارد. باتوجه به نیوتنی بودن رفتار امولسیون تولیدی، می‌توان به این نتیجه رسید که محلول فوق، محلولی رقیق بوده و هنوز به غلظت و کسر حجمی بحرانی نرسیده تا شاهد افزایش یکباره

همکاران (1392) 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 غیریونی توپین 80 و فاز روغنی میگلیول 812، اندازه قطره‌های زیر 90 نانومتر به دست آمد. در غلظت‌های پایین SER، نیز اندازه قطره‌های بالاتر از 100 نانومتر تولید شد و تولید بهینه نانوامولسیون در غلظت‌های SER برابر با 15 و 17/5 درصد با اندازه قطره‌های زیر 100 نانومتر انجام شد که غلظت 17/5 درصد با پراکنش بهتر 0/77، میانگین قطر قطره‌ها 81 نانومتر و تک‌مدبودن نمودار توزیع قطره‌ها، به‌عنوان بهترین غلظت معرفی شد. نانوامولسیون بهینه تولیدشده از نتایج پتانسیل زتا، کدورت و پایداری قابل‌قبولی طی 3 ماه نگهداری برخوردار بود و حتی کاهش قطر قطره‌ها نیز مشاهده شد. فرمولاسیون بهینه نانوامولسیون دارای رفتار نیوتنی بود.

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 به‌صورت 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، 1392). هر چقدر اندازه ذرات (در کسر حجمی ثابت) کوچک‌تر باشد، ویسکوزیته سیستم بالاتر می‌شود. پتانسیل زتای 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 گیرافتاده و کسر حجمی مؤثر افزایش می‌یابد، در نتیجه ویسکوزیته افزایش می‌یابد (پزشکی و همکاران، 1394). در پژوهشی که نیک‌نیا و

### منابع

- پزشکی، الف.، قنبرزاده، ب.، همیشه‌کار، ح.، مقدم، م. و فتح‌الهی، ع. 1394. 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، 4(4)، 299-314. doi: <http://dx.doi.org/10.22101/jrifst.2016.01.30.442>
- حسینی، ف. (1394). تولید و بهینه‌سازی فرمولاسیون نانوامولسیون حاوی بتاکاروتن (به روش تشکیل خودبه‌خودی). (پایان‌نامه کارشناسی ارشد)، دانشگاه آزاد ممقان.
- فامیان، ح. (1395). غنی‌سازی شیر کم‌چرب پاستوریزه با استفاده از نانوامولسیون حاوی لینولئیک اسید کونژوگه (CLA). (پایان‌نامه کارشناسی ارشد)، دانشگاه آزاد ممقان.
- قنبرزاده، ب.، الماسی، ه. و نیک‌نیا، ن. (1392). شیمی و فیزیک سیستم‌های کلئیدی و محلول‌های بیوپلیمری غذایی. مؤسسه انتشارات علمی دانشگاه صنعتی شریف.
- مساح، م.، قنبرزاده، ب.، همیشه‌کار، ح. و صوتی‌خیابانی، م. (1392). آبان. بررسی اثر ترکیب فاز روغن در تولید نانوامولسیون‌های حاوی آلفاتوکوفرول با استفاده از روش کم‌انرژی. بیست و یکمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی، شیراز.
- نیک‌نیا، ن.، قنبرزاده، ب.، همیشه‌کار، ح. و صوتی‌خیابانی، م. (1392). تهیه و ارزیابی نانوامولسیون خوراکی ویتامین E با روش خودبه‌خودی. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، 4(8)، 51-65.
- Anton, N., & Vandamm, T. (2009, September). Low energy nano-emulsifications: overview and potentials in microencapsulation, (pp. 1-4). XVII International Conference on Bioencapsulation, Groningen, Netherland.
- Champagne, C.P., & Fustier, P. (2007). Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Current Opinion in Biotechnology*, 18(2), 184-190. doi: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2007.03.001>

- 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. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.05.003>
- Famian, H. (2016). *Enrichment of low-fat pasteurized milk by conjugated linoleic acid nano emulsion*. (Unpublished master's thesis), Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Mamaghan Branch. (in Persian)
- 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. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.08.003>
- 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. doi:<https://doi.org/10.1006/jcis.2002.8432>
- Ghanbarzadeh, B. (2013). *Handbook of Physics chemistry and physical of colloidal systems and biopolymer of Food*. Academic publications of Industrial Sharif Uniniversity. (in Persian)
- Ghanbarzadeh, B., Babazadeh, A., & Hamishekar, H. (2016). Nano-phytosome as a potential food-grade delivery system. *Food Bioscience*, 15, 126-135. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2016.07.006>
- Gonnet, M., Lethuaut, L., & Boury, F. (2010). New trends in encapsulation of liposoluble vitamins. *Journal of Controlled Release*, 146(3), 276-290. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.01.037>
- 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. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.087>
- Hasani, F. (2015). *Production and optimization of nanoemulsion formulation containing beta carotene (by spontaneous emulsification method)*. (Unpublished master's thesis), Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Mamaghan Branch. (in Persian)
- 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. doi:<https://doi.org/10.1016/j.micron.2011.07.014>
- 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. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2014.03.035>
- 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), 17-528. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.08.017>
- Masah, M., Ghanbarzadeh, B., Hamishekar, H., & Sowti Khiabani, M. (2013, October). The effect of oil phase composition on the production of nanoemulsions containing alfaticophorol using low energy method. *21<sup>st</sup> National Congress of Food Science and Technology*, Shiraz. (in Persian)
- McClements, D.J. (2005). *Food Emulsions: Principles, Practice and Technology*. CRC Press: Boca Raton, Florida.
- Najafi-Taher, R., & Amani, A. (2017). Nanoemulsions: colloidal topical delivery systems for antiacne agents- a mini-review. *Nanomedicine Research Journal*, 2(1), 49-56. doi:<https://doi.org/10.22034/NMRJ.2017.23532>
- Niknia N., Ghanbarzadeh B., Hamishekar H., Rezayi Mokarramm R., & Mortazaviyan, A. (2014). Production and evaluation of vitamin e based nanoemulsion by spontaneous method. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 8(4), 51-65. (in Persian)
- 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. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.07.089>
- Pezeshki, A., Ghanbarzadeh, B., Hamishekar, H., Moghadam, M., & Fathollahi, I. (2016). Vitamin A palmitate-loaded nanoemulsions produced by spontaneous emulsification method: effect of surfactant and oil on droplet size and stability. *Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology*, 4(4), 299-314. doi:<http://dx.doi.org/10.22101/jrifst.2016.01.30.442> (in Persian)
- 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. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.04.008>
- 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. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.08.069>
- 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. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cis.2003.10.008>
- 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. doi:<https://doi.org/10.1007/s11947-011-0683-7>
- 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. doi:<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.09.030>
- 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. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.09.017>
- 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. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.08.008>
- 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. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.04.009>

## 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