

بررسی ویژگی‌های ساختاری و رهایش د-لیمونن نانوپوشانی شده با صمغ دانه قدومه شیرازی به روش الکترواسپری

خدیجه خوش‌اخلاق^۱، محبت محبی^{۲*}، آرش کوچکی^۲

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۲- استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
* نویسنده مسئول (m-mohebbi@um.ac.ir)

چکیده

در این پژوهش نانوکپسول‌های صمغ دانه قدومه شیرازی حاوی د-لیمونن به روش الکترواسپری تولید شد. به این منظور امولسیون د-لیمونن (۱۰ و ۲۰ درصد) در محلول آبی صمغ دانه قدومه شیرازی (۵/۰ درصد) تهیه گردید. ویژگی‌های امولسیون‌ها شامل خواص رئولوژیکی، کشش سطحی، هدایت الکتریکی و توزیع اندازه ذرات ارزیابی شد و ارتباط آنها با مورفولوژی نانوکپسول‌ها بررسی گردید. نتایج نشان داد غلظت د-لیمونن بر هدایت الکتریکی و اندازه قطره‌های امولسیون بیشترین تأثیر را داشت. بر همین اساس، مورفولوژی و اندازه ذرات کپسول‌ها نیز تحت تأثیر غلظت لیمونن بود. تصاویر FE-SEM موفقیت روش الکترواسپری در تولید نانوکپسول‌های کروی، هموار و با توزیع اندازه ذرات یکنواخت را تأیید کردند. کارایی انکپسولاسیون بالا (بیش از ۸۷ درصد) از دیگر مزایای روش مورد استفاده بود. آزمون‌های پایداری نشان دادند حداکثر آفت د-لیمونن نانوپوشانی شده پس از ۳ ماه نگهداری، ۱۱/۶۷ درصد بود. در بررسی‌های رهایش طعم، آزادسازی سریع، کامل و تقریباً یکنواخت د-لیمونن به دلیل اندازه ذرات کوچک و یکنواخت نانوکپسول‌ها مشاهده شد. با بررسی کینتیکی رهایش مشاهده گردید مدل کورسمیر-پاس از نظر ریاضی بهترین توصیف را برای رهایش لیمونن در دو محیط آب دیونیزه و بزاق مصنوعی فراهم آورد.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۶/۲۹

واژه‌های کلیدی

الکترواسپری
رهایش
صمغ دانه قدومه شیرازی
مدل‌سازی کینتیکی
نانوپوشانی

مقدمه

پلیمری از لوله موئینه‌ای خارج و تحت میدان الکتریکی قوی باردار می‌شود. زمانی که نیروی الکترواستاتیک ایجاد شده در محلول از کشش سطحی آن قوی‌تر باشد، قطره سیال در نوک لوله موئینه به سرعت به سمت صفحه جمع‌کننده حرکت کرده-که به آن جت سیال^۱ گفته می‌شود- طی برخورد با مولکول‌های هوا، حلال تبخیر می‌شود. بر اثر تبخیر حلال، ذرات کوچک‌تر شده، در نتیجه بار الکتریکی آنها افزایش می‌یابد. افزایش دانسیته بارهای الکتریکی

در دهه اخیر استفاده از فناوری نانو در پوشینه‌داری ترکیبات زیست‌فعال به جهت ویژگی‌های منحصربه‌فرد نانوحامل‌ها بسیار مورد توجه قرار گرفته است. با کاهش اندازه حامل از میکرومتر به نانومتر، نسبت سطح به حجم به شدت افزایش یافته، منجر به افزایش راندمان ریزپوشانی، بهبود دسترسی زیستی ماده کپسوله‌شده و رهایش سریع‌تر و یکنواخت‌تر می‌شود (Ghorani & Tucker, 2015). فرایند الکترواسپری از فناوری‌های نوین در تولید نانوساختارها و نانوپوشانی ترکیبات فعال است. در این فرایند، محلول

^۱ Fluid jet

زیرا در صورتی که ویسکوزیتهٔ محلول خیلی کم باشد، ساختارهای کپسول شکل تشکیل نمی‌شود و از طرف دیگر، ویسکوزیتهٔ بسیار بالا مانع از تشکیل جت الکترواسپری می‌شود (Rocio Pérez-Masiá, Lagaron, & López, 2014). همچنین به دلیل ماهیت آنیونی این صمغ (Rubio, 2014). همچنین به دلیل ماهیت آنیونی این صمغ (Hesarinejad, Razavi, & Koocheki, 2015)، به نظر می‌رسد محلول آن با فراهم کردن دانسیته بار زیاد در میدان الکتریکی، فرایند تولید نانوذرات را تسهیل کند. علاوه بر این، صمغ دانهٔ قدومه شیرازی صمغی بی‌رنگ و بی‌بو است که قابلیت استفاده به عنوان حامل ترکیبات فعال را بدون ایجاد تغییر در خواص حسی محصول دارد.

د-لیمون ترکیب اصلی اسانس مرکبات است. این ماده به دلیل داشتن عطر مطبوع، به عنوان یک افزودنی ایمن به طور گسترده در محصولات آرایشی و غذایی استفاده می‌گردد علاوه بر این، لیمون دارای فعالیت‌های بیولوژیکی متعددی از جمله فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد سرطانی می‌باشد (Sun, 2007). با این حال، ماهیت چربی دوست لیمون منجر به کاهش زیست‌فراهمی آن و نیز محدودیت استفاده از آن در غنی‌سازی مواد غذایی می‌شود. همچنین حساسیت زیاد لیمون به اکسیداسیون در شرایط نگهداری معمول، استفاده از آن را مشکل می‌سازد (Zahi, Liang, & Yuan, 2015). ریزپوشانی روش مناسبی برای افزایش پایداری و حلالیت این عامل طعم‌دهندهٔ شناخته شده است.

بنابراین ذکر شد، هدف این پژوهش نانوپوشانی د-لیمون به روش الکترواسپری امولسیون با استفاده از صمغ دانهٔ قدومه شیرازی و همچنین مطالعهٔ اثر نانوپوشانی بر پایداری و رهایش آن در شرایط محیطی مختلف بود.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه

د-لیمون (۹۷ درصد) و توئین ۲۰ (HLB=۱۶/۷) به ترتیب از شرکت‌های سیگما آلدریج (ساخت آمریکا)، و مرک (ساخت آلمان) تهیه شد. دانهٔ قدومه شیرازی از عطاری در شهر اصفهان تهیه و استخراج و خالص‌سازی صمغ به روش بهینه شده توسط Koocheki و همکاران (۲۰۱۰) انجام شد. صمغ استخراج شده با استفاده از خشک‌کن انجمادی (Christ Alpha LD، ساخت آلمان) خشک شد و پس از

قطره منجر به انفجار آن و تولید قطره‌های ریزتر می‌شود (Tapia-Hernández *et al.*, 2015). از مزایای این روش نسبت به روش‌های متداول ریزپوشانی، ساده بودن فرایند، راندمان بالا و تولید نانوذرات در شرایط معمول بدون نیاز به اعمال دماهای بالا برای حذف حلال یا دمای پایین برای تشکیل ذرات می‌باشد (López-Rubio & Lagaron, 2012).

تاکنون طیف وسیعی از پلیمرهای طبیعی و سنتزی در فرایند الکترواسپری استفاده شده است اما در کاربردهای غذایی تنها پلیمرهای ایمن شناخته شده^۱ قابل استفاده هستند. از مهم‌ترین بیوپلیمرهای مورد استفاده به عنوان حامل در ریزپوشانی ترکیبات زیست‌فعال غذایی به روش الکترواسپری می‌توان به ژئین (Gómez-Estaca, Balaguer, Gavara, & Hernandez-Munoz, 2012; Torres-Giner, Martinez-Abad, Ocio, & Lagaron, 2010)، پروتئین آب‌پنیر (Fabra, López-Rubio, & Lagaron, 2016; López-Rubio & Lagaron, 2012; Rocio Pérez-Masiá *et al.*, 2015) و نشاسته (Rocío Pérez-Masiá *et al.*, 2015) اشاره کرد.

هیدروکلونیدها بیوپلیمرهایی عمدتاً خوراکی، ارزان، با وزن مولکولی بالا و دارای حلالیت زیاد در آب هستند که به سبب ویژگی‌های عملکردی متعددشان در فرمولاسیون‌های غذایی کاربرد گسترده‌ای دارند (Dickinson, 2003). قدومه شیرازی^۲ یکی از منابع تولید هیدروکلونیدهای گیاهی است؛ به طوری که دانه‌های قدومه شیرازی پس از قرارگرفتن در آب، سریعاً آب را جذب کرده و لعابی چسبنده و کدر تولید می‌کنند. تحقیق‌های اخیر نشان داده است که موسیلاژ حاصل از دانه‌های قدومه شیرازی می‌تواند به عنوان یک افزودنی قوام‌دهنده و تثبیت‌کنندهٔ امولسیون در صنعت غذا استفاده شود (Koocheki, Kadkhodae, Mortazavi, Shahidi, & Taherian, 2009). با این وجود تاکنون کاربرد این صمغ بومی به عنوان مادهٔ حامل در سیستم‌های ریزپوشانی بررسی نشده است.

نتایج Koocheki و همکاران (۲۰۰۹) حاکی از ویسکوزیتهٔ بالای محلول موسیلاژ دانهٔ قدومه شیرازی در سرعت‌های برشی کم بود. این ویژگی می‌تواند صمغ قدومه شیرازی را برای فرایند الکترواسپری مناسب سازد

¹ Generally Recognized as Safe (GRAS)

² *Alyssum homolocarpum*

³ Bioavailability

خواص رئولوژیکی پایا

بررسی خواص رئولوژیکی مستقل از زمان امولسیون‌های حاوی ۱۰ و ۲۰ درصد د-لیمونن به وسیله دستگاه رئومتر چرخشی پارفیزیکا (مدل Paar Physica, MCR 300, Anton Paar GmbH, ساخت اتریش) با هندسه مخروط-صفحه و مجهز به سیستم تنظیم دما و چرخش آب، در دامنه درجه برش $100-0.1 \text{ s}^{-1}$ انجام شد. به منظور توصیف رفتار جریان پایای امولسیون‌ها، داده‌های آزمون (سرعت برشی-تنش برشی) با مدل قانون توان (رابطه ۱) برازش شد:

رابطه (۱)

$$\tau = k\dot{\gamma}^n$$

در رابطه (۱)، τ تنش برشی (Pa)، $\dot{\gamma}$ درجه برش (s^{-1})، k ضریب قوام ($\text{Pa}\cdot\text{s}^n$) و n شاخص رفتار جریان (بدون بُعد) می‌باشد.

کشش سطحی

کشش سطحی امولسیون‌های لیمونن در محلول صمغ با استفاده از دستگاه تنسیومتر (مدل Dataphysics DCAT 21، ساخت آلمان)، مجهز به سیرکولاتور حرارتی (Julabo, F12-MC، ساخت آلمان)، تعیین شد. روش صفحه ویلهلمی^۲ با تیغه‌ای از جنس پلاتینیوم-ایریدیوم به طول ۱۰، عرض ۱۹/۹ و ضخامت ۰/۲ میلی‌متر در اندازه‌گیری فعالیت سطحی نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. قبل از هر اندازه‌گیری، پلیت دستگاه با استون و سپس توسط شعله کاملاً تمیز شد. کالیبراسیون دستگاه با آب دیونیزه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد (۷۵/۵۲ میلی‌نیوتن بر میلی‌متر) انجام شد.

هدایت الکتریکی

برای شروع شدن فرایند الکترواسپری، محلول پلیمری باید بار الکتریکی کافی را بر غلبه بر کشش سطحی را به دست آورد. هدایت الکتریکی معیاری از چگالی بارهای الکتریکی حمل‌شده توسط جت سیال است. به منظور اندازه‌گیری هدایت الکتریکی امولسیون‌ها از دستگاه کنداکتیومتر (4510, Jenway، ساخت انگلستان) استفاده شد.

آسیاب و الک‌کردن (مش ۱ میلی‌متر) در ظرف بسته در مکان خشک و خنک به منظور انجام آزمایش‌ها نگهداری شد. هگزان (خلوص ۹۷ درصد)، بی‌کربنات سدیم، کلرید سدیم، سدیم آزید، کلرید پتاسیم، کلسیم کلرید دی‌هیدرات، آنزیم آلفا-آمیلاز^۱ (با منشأ پانکراس) و موسین (با منشأ معده) از شرکت سیگما آلدریج (ساخت آمریکا) تهیه گردیدند. پتاسیم فسفات دی‌بازیک سه‌آبه از شرکت مرک آلمان خریداری شد.

آماده‌سازی امولسیون‌ها

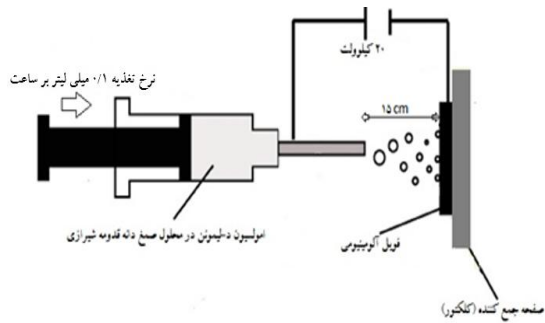
بر اساس آزمون‌های مقدماتی، امولسیون‌های د-لیمونن در محلول صمغ دانه قدومه شیرازی تهیه گردیدند (Khoshakhlagh, Koocheki, Mohebbi, & Allafchian, 2017; Khoshakhlagh, Mohebbi, Koocheki, & Allafchian, 2018) به طور خلاصه، محلول صمغ با غلظت ۰/۵ درصد وزنی/وزنی در آب دیونیزه تهیه شد و پس از انحلال کامل با استفاده از هم‌زن مغناطیسی، به مدت یک شب برای تکمیل جذب آب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس توئین ۲۰ به میزان ۰/۱ درصد (نسبت به وزن محلول) و پس از آن، د-لیمونن به میزان ۱۰ و ۲۰ درصد بر اساس وزن صمغ اولیه، به محلول اضافه و با هم‌زن مغناطیسی مخلوط‌شده و سپس با استفاده از هم‌زنایزر اولتراتوراکس (T25 digital, IKA، ساخت آلمان) به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه هم‌زن شده. هم‌گن‌سازی نهایی امولسیون با استفاده از هم‌زنایزر با سرعت برشی بالا (Heidolph, Silent Crusher M، ساخت آلمان) با دور ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۳ دقیقه استفاده شد. برای جلوگیری از افزایش دمای امولسیون طی فرایند هم‌گن‌سازی از حمام یخ استفاده شد.

بررسی ویژگی‌های امولسیون

به منظور بررسی ارتباط ویژگی‌های فیزیکی امولسیون‌ها با رفتار آنها در فرایند الکترواسپری، امولسیون‌ها بلافاصله پس از تولید، از نظر خواص رئولوژیکی، فعالیت سطحی، هدایت الکتریکی و توزیع اندازه ذرات ارزیابی شدند. کلیه این آزمون‌ها با سه تکرار و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد، انجام شد.

² Wilhelmy plate

¹ α -Amylase



شکل ۱- شمای کلی فرایند الکترواسپری

مورفولوژی نانو ساختارها

به منظور بررسی شکل و اندازه نانوذرات تولید شده از میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی FE-SEM (مدل TESCAN MIRA-3-XMU، ساخت چک) با بزرگنمایی ۷۰۰۰۰۰ برابر استفاده شد. تصاویر پس از انجام پوشش دهی نمونه با طلا (به مدت ۵ دقیقه) و در ولتاژ ۲۰ کیلوولت تهیه شد. میانگین قطر ذرات با استفاده از نرم افزار Image J نسخه ۱.۴ و برای حدود ۱۰۰ نقطه از هر تصویر تعیین گردید.

کارایی نانوپوشانی، لیمونن سطحی و ظرفیت بارگذاری

برای اندازه گیری مقدار د-لیمونن نانوپوشانی شده و بررسی حضور آن در سطح نانوحاملها از روش به کار گرفته شده توسط Kaushik و Roos (۲۰۰۷) با ایجاد کمی اصلاحات استفاده شد. به منظور تعیین مقدار د-لیمونن انکپسوله شده، حدود ۳۰ میلی گرم نانوکپسول با ۲ میلی لیتر آب دیونیزه و ۱ میلی لیتر هگزان مخلوط گردید و پس از هم زدن مخلوط به مدت ۱ دقیقه با ورتکس، ۱۵ دقیقه در حمام آب گرم ۴۵ درجه سانتی گراد در حال هم زدن قرار داده شد. پس از آن برای جدا کردن فاز آلی از فاز آبی از سانتریفیوژ (Hettich EBA 270، ساخت آلمان) با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه استفاده شد. محلول رویی-هگزان حاوی لیمونن-۲۰ برابر با هگزان رقیق شده، جذب آن در طول موج ۲۵۲ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتری (UNICO-2100 UV-Visible Spectrophotometer، ساخت آمریکا) اندازه گیری شد.

برای تعیین میزان لیمونن سطحی، حدود ۳۰ میلی گرم نانوکپسول با ۲ میلی لیتر هگزان مخلوط شد و پس از ۵ دقیقه هم زدن با استفاده از هم زن مغناطیسی با سرعت ۲۵۰ دور بر دقیقه، محلول از فیلتر سرسرنگی ۰/۱

اندازه ذرات امولسیون

توزیع اندازه ذرات امولسیونها با استفاده از دستگاه آنالیزکننده ذرات لیزر^۱ (مدل Horiba LA-930، ساخت ژاپن)، مجهز به پرتو لیزر ۵ میلی ولت هلیوم/نئون (۶۳۵ نانومتر) اندازه گیری شد. برای جلوگیری از فلوکولاسیون ذرات چربی و جلوگیری از اثر پراکندگی چندگانه نور، نمونهها قبل از تزریق به دستگاه به نسبت ۱ به ۱۰ با آب دیونیزه رقیق شدند.

قطر متوسط ذرات براساس سطح به حجم ($D_{3,2}$) تحت عنوان عدد ساتر^۲ با استفاده از رابطه (۲) تعیین شد:

رابطه (۲)

$$D_{3,2} = \frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i d_i^2}$$

در رابطه (۲)، n_i تعداد قطرهها با قطر d_i است.

فرایند الکترواسپری

جهت تولید نانوکپسولهای صمغ دانه قدومه شیرازی به روش الکترواسپری، امولسیون تهیه شده در سرنگ ۱ سی سی با سوزن ۲۳ گیج (قطر داخلی ۰/۳۴ میلی متر) ریخته شد. سرنگ به صورت افقی روی پمپ تغذیه (-MS Medifusion، 2200، ساخت کره جنوبی) قرار گرفت و قطب مثبت دستگاه به سرنگ حاوی محلول و قطب منفی به صفحه جمع کننده که یک صفحه فویل آلومینیومی (با ابعاد ۱۰×۳۰ سانتی متر) بود، متصل گردید (شکل ۱). باتوجه به آزمونهای مقدماتی، فرایند الکترواسپری در نرخ تغذیه ۰/۱ میلی لیتر بر ساعت، ولتاژ ۲۰ کیلوولت و در فاصله نوک سوزن تا صفحه جمع کننده ۱۵ سانتی متر انجام شد.

مدت زمان انجام فرایند برای بررسی مورفولوژیکی نمونه حدود ۱۵ دقیقه بود. برای سایر آزمونها جهت تولید ۳۰ میلی گرم نانوکپسول، فرایند الکترواسپری حدود ۸ ساعت به طول انجامید. جمع آوری نمونه با استفاده از خراشیدن صفحه جمع کننده به کمک کاردک مخصوصی انجام شد.

¹ Laser particle Analyzer

² Sauter

شبهه‌سازی شده بررسی گردید. برای تولید بزاق مصنوعی از روش Van Ruth، Roozen و Cozijnsen (۱۹۹۴) استفاده شد. در این روش، ۵/۲۰۸ گرم بی‌کربنات سدیم، ۱/۳۶۹ گرم پتاسیم فسفات دی‌بازیک سه آب، ۰/۸۷۷ گرم کلرید سدیم، ۰/۵۰۰ گرم سدیم آزید، ۰/۴۷۷ گرم کلرید پتاسیم، ۰/۴۴۱ گرم کلسیم کلرید دی‌هیدرات، ۲/۱۶۰ گرم موسین و ۲۰۰۰۰ واحد آنزیم آلفا-آمیلاز به ۱ لیتر آب مقطر اضافه شد و pH آن با استفاده از محلول‌های سود و اسید کلریدریک روی ۷ تنظیم گردید. برای حذف هرگونه مواد نامحلول، سانتریفیوژ کردن به مدت ۵ دقیقه با ۶۰۰۰ دور بر دقیقه انجام شد.

به منظور تعیین پروفیل رهایش لیمون، ۲۰ میلی‌گرم نانوکپسول بارگذاری شده (۱۰ و ۲۰ درصد لیمون) به ۵ میلی‌لیتر از محیط رهایش (بزاق مصنوعی و یا آب دیونیزه) اضافه شد و به‌طور مداوم در دور ۱۰۰ (۱ بر ثانیه) با استفاده از همزن مغناطیسی هم‌زده شد. طی آزمون دمای محیط رهایش در 37 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد ثابت حفظ شد. به تعداد نمونه‌برداری‌ها در طی رهایش (۱۱ بار)، بشرهای ۵ میلی‌لیتری از مخلوط نانوکپسول و محلول رهایش (بزاق مصنوعی یا آب دیونیزه) با نسبت ذکر شده تهیه گردید و هریک از آنها به یکی از زمان‌های نمونه‌برداری اختصاص یافت. بعد از گذشت ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵، ۳، ۵، ۷، ۹، ۱۲ و ۱۵ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر از محلول محیط رهایش برداشته شده، با ۱ میلی‌لیتر هگزان شده، پس از سانتریفیوژ کردن با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه، محلول رویی-هگزان حاوی لیمون-جدا شده، جذب آن در طول موج ۲۵۲ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری قرائت شد. براساس منحنی کالیبراسیون مقدار لیمون موجود در هر میلی‌لیتر هگزان محاسبه شد و براساس وزن دقیق نانوکپسول استفاده شده در آزمون و مقدار لیمون بارگذاری اولیه آن، درصد لیمون آزاد شده در زمان‌های مختلف رهایش تعیین شد. درصد رهایش تجمعی لیمون مطابق رابطه (۶) از تقسیم مقدار کل لیمون آزاد شده از ابتدا تا زمان t (M_t) به وزن اولیه لیمون بارگذاری شده در نانوکپسول (M_0) محاسبه شد:

رابطه (۶)

$$\text{درصد رهایش تجمعی} = \sum_{t=0}^t \frac{M_t}{M_0} \times 100$$

میکرون (millipore ساخت آمریکا) عبور داده شده، جذب محلول صاف شده در طول موج ۲۵۲ نانومتر قرائت شد. در هر دو آزمایش اندازه‌گیری لیمون کل و سطحی، برای آزمون شاهد، از نمونه نانوکپسول فاقد لیمون استفاده شد و روش اندازه‌گیری مشابه با نمونه اصلی بود، سپس عدد جذب شاهد از مقدار جذب نمونه کم شد.

برای تبدیل میزان جذب به غلظت لیمون، منحنی کالیبراسیون براساس غلظت‌های مختلف لیمون در حلال هگزان رسم شد. کارایی انکپسولاسیون با استفاده از رابطه (۳) محاسبه شد. درصد لیمون سطحی به‌صورت نسبت لیمون ریزپوشانی نشده به مقدار کل لیمون موجود در نانوکپسول‌ها گزارش گردید. ظرفیت بارگذاری با استفاده از رابطه (۴) محاسبه شد:

رابطه (۳)

$$100 \times \frac{\text{لیمون اندازه گیری شده}}{\text{لیمون استفاده شده در تولید امولسیون}} = \text{کارایی انکپسولاسیون}$$

رابطه (۴)

$$100 \times \frac{\text{وزن لیمون محبوس شده در نانوکپسول}}{\text{وزن نانوکپسول}} = \text{ظرفیت بارگذاری}$$

پایداری د-لیمون نانوپوشانی شده طی نگهداری

برای مطالعه پایداری د-لیمون موجود در نانوکپسول‌ها، حدود ۳۰ میلی‌گرم نانوکپسول در ویال‌های شیشه‌ای پوشانده شده با فویل آلومینیومی توزین و به مدت ۳ ماه در انکوباتور (Wisecube WIG-105، ساخت کره جنوبی) با دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در فواصل زمانی مشخص (روزهای ۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰)، مقدار لیمون حفظ شده در کپسول‌ها به روش اسپکتروفتومتری ذکر شده در آزمون تعیین کارایی، مشخص گردید. پایداری د-لیمون در نانوکپسول‌ها طی نگهداری با استفاده از رابطه (۵) محاسبه شد:

رابطه (۵)

= طعم حفظ شده

$$100 \times \left[1 - \left(\frac{\text{مقدار لیمون روز آزمایش} - \text{مقدار لیمون روز صفر}}{\text{مقدار لیمون روز صفر}} \right) \right]$$

بررسی رهایش د-لیمون

در این تحقیق پروفیل رهایش د-لیمون از نانوکپسول‌های صمغ دانه قدومه شیرازی در دو محیط آب خالص و بزاق

مدل سازی کینتیکی رهائش

بررسی کینتیک آزادسازی د-لیمون از نانوکپسول‌ها، با استفاده از برازش داده‌های رهائش با مدل‌های کینتیکی مختلف شامل کورسمیر-پپاس^۱، هیگوچی^۲، درجه صفر و درجه اول (به ترتیب رابطه‌های ۷ تا ۱۰) انجام گرفت.

رابطه (۷)

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_{KP} t^n$$

رابطه (۸)

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_H t^{0.5}$$

رابطه (۹)

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_0 t$$

رابطه (۱۰)

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - e^{-k_1 t}$$

در رابطه‌های (۷) تا (۱۰)، M_t مقدار ماده آزاد شده در زمان t ، M_∞ مقدار کل ماده رهائش یافته، t زمان رهائش و k ثابت کینتیک است. در مدل کورسمیر-پپاس n توان نفوذ بوده که مشخص کننده مکانیسم رهائش بوده و وابسته به هندسه سیستم رسانش است (Korsmeyer, Lustig, & Peppas, 1986).

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمون‌ها در قالب فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی و با حداقل سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها توسط آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) انجام شد و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح معنی دار ۹۵ درصد ($P < 0.05$) در نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ استفاده گردید. به منظور برازش مدل‌های کینتیکی با داده‌های تجربی رهائش، از تولباکس cftool در نرم افزار MATLAB R2016b استفاده شد. ضریب تعیین (R^2) به عنوان شاخص ارزیابی اعتبار مدل‌های برازش شده بود.

نتایج و بحث

بررسی ویژگی‌های امولسیون‌ها

خواص رئولوژیک پایا

داده‌های آزمون رئولوژیکی مستقل از زمان (سرعت برشی -

تنش برشی)، با مدل قانون توان (رابطه ۱) برازش شدند. در هر دو نمونه ضریب تعیین بالا ($R^2 > 0.99$) نشان دهنده مناسب بودن مدل استفاده شده در توصیف رفتار جریان امولسیون‌ها بود (جدول ۱).

شاخص رفتار جریان هر دو امولسیون (n) کمتر از ۱ بود که بیانگر رفتار سودوپلاستیک (تضعیف شونده با برش) آنهاست. کاهش شدید ویسکوزیته امولسیون‌ها با افزایش سرعت برشی، مؤید رفتار سودوپلاستیک قوی صمغ دانه قدومه شیرازی بود (شکل‌ها در مقاله نشان داده نشده است). وزن مولکولی بالا و درگیری‌ها و تجمعات زنجیره‌های پلیمری از طریق پیوندهای هیدروژنی از دلایل رفتار سودوپلاستیک صمغ‌ها می‌باشد (Vardhanabhuti & Ikeda, 2006). مطابق با داده‌های جدول (۱) غلظت لیمون بر میزان سودوپلاستیته امولسیون صمغ دانه قدومه شیرازی اثر معنی دار نداشت.

میزان ضریب قوام (به عنوان شاخص ویسکوزیته) امولسیون‌ها نیز تحت تأثیر غلظت د-لیمون قرار نگرفت. بنابراین، براساس نتایج به دست آمده خصوصیات جریان دو امولسیون مورد مطالعه تفاوت معنی داری نداشتند.

جدول ۱- پارامترهای مدل قانون توان امولسیون‌های د-لیمون در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد

نمونه	k (Pa.s ⁿ)	n	R^2
امولسیون ۱۰ درصد د-لیمون	0.64 ± 0.02^a	0.40 ± 0.03^a	۰/۹۹
امولسیون ۲۰ درصد د-لیمون	0.66 ± 0.03^a	0.40 ± 0.01^a	۰/۹۹

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف متفاوت از لحاظ آماری با یکدیگر اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ دارند.

کشش سطحی

به طور کلی، کشش سطحی محلول‌های آبی پلیمرها به دلیل کشش سطحی زیاد حلال آب بالا می‌باشد و استفاده از آنها در فرایند الکترواسپری/الکترورسی دشوار است (Rocio Pérez-Masiá et al., 2014).

از طرف دیگر، بسیاری از هیدروکلوئیدها از جمله صمغ دانه قدومه شیرازی به دلیل ماهیت آب دوستی زیاد و انعطاف پذیری مولکولی کم، فعالیت سطحی قابل توجهی از خود نشان نمی‌دهند. باین حال در این مطالعه به دلیل استفاده از سورفاکتانت غیریونی توئین ۲۰ به عنوان امولسیفایر، کشش سطحی امولسیون‌ها نسبتاً پایین بود (جدول ۲). براساس نتایج جدول (۲)، غلظت د-لیمون بر کشش سطحی امولسیون‌ها اثر معنی داری نداشت.

¹ Korsmeyer-Peppas

² Higuchi

جدول ۲- کشش سطحی، هدایت الکتریکی و اندازه ذرات امولسیون‌های لیمون در محلول صمغ دانه قدومه شیرازی

نمونه	قطر متوسط ذرات (میکرومتر)	کشش سطحی (میلی نیوتن بر متر)	هدایت الکتریکی (میکروزیمنس)
امولسیون ۱۰ درصد د-لیمون	$5/99 \pm 0/70^a$	$42/75 \pm 0/01^a$	$143/77 \pm 1/03^a$
امولسیون ۲۰ درصد د-لیمون	$8/20 \pm 0/55^b$	$40/56 \pm 0/00^a$	$130/54 \pm 1/52^b$

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف متفاوت از لحاظ آماری با یکدیگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ دارند.

هدایت الکتریکی

مقادیر هدایت الکتریکی امولسیون‌های د-لیمون در محلول صمغ دانه قدومه شیرازی در **جدول (۲)** ارائه شده است. هدایت الکتریکی نمونه‌ها به دلیل ماهیت آنیونی صمغ مورد استفاده، نسبتاً بالا بود. با افزایش غلظت د-لیمون از ۱۰ به ۲۰ درصد، کاهش معنی‌دار هدایت الکتریکی امولسیون مشاهده شد. در مطالعه‌ای توسط Lević و همکاران (۲۰۱۵) نیز کاهش هدایت الکتریکی محلول آلژینات با افزودن د-لیمون مشاهده شد. این محققین بیان کردند لیمون قادر به کاهش نیروی دافعه میان مولکول‌های پلی‌آنیونی صمغ است.

اندازه ذرات

اندازه ذرات فاز پراکنده از خصوصیات مهم امولسیون‌هاست که بر بسیاری از خواص امولسیون از جمله پایداری آن تأثیر زیادی دارد. براساس **جدول (۲)** با افزایش غلظت د-لیمون به ۲۰ درصد، قطر متوسط ذرات امولسیون ($D_{3,2}$) به طور معنی‌داری افزایش یافت. به طور معمول استفاده از غلظت بیشتر روغن در امولسیون منجر به افزایش تعداد برخورد بین قطره‌ها و نزدیک شدن آنها به هم و در نتیجه تولید قطره‌های بزرگ‌تر می‌شود (Sun & Gunasekaran, 2009).

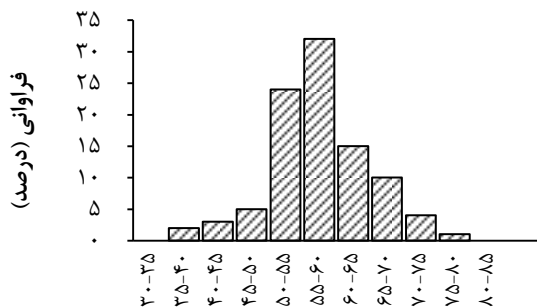
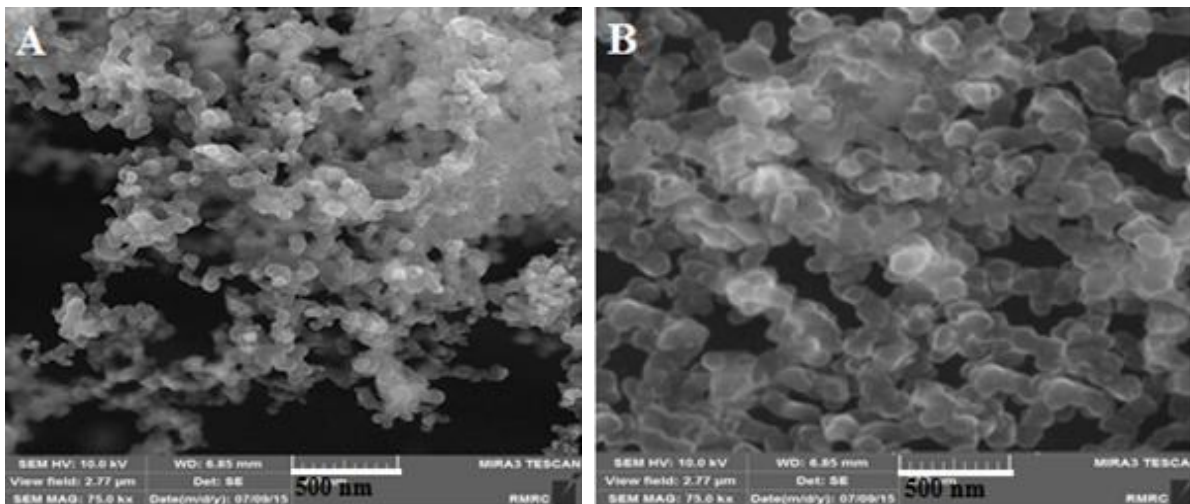
مورفولوژی نانوذرات

تصاویر FE-SEM نانوکپسول‌های صمغ دانه قدومه شیرازی حاوی ۱۰ و ۲۰ درصد لیمون همراه با نمودار توزیع اندازه ذرات آنها در **شکل (۲)** نشان داده شده است. براساس این تصاویر هر دو امولسیون قادر به تولید ذرات کروی و متراکم بودند. بنابراین وجود درگیری‌های زنجیره‌ای پلیمری کافی در محلول ۰/۵ درصد صمغ دانه قدومه شیرازی برای تشکیل ساختارهای متراکم و با مورفولوژی مناسب تأیید شد.

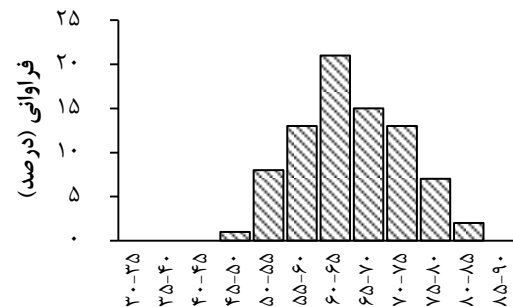
از الکترواسپری امولسیون حاوی ۱۰ درصد لیمون، ذرات تقریباً کروی اما با حالت توده‌ای و چروکیدگی کمی حاصل شد. محدوده اندازه ذرات این نانوکپسول‌ها ۸۰-۳۵ نانومتر و قطر متوسط آنها ۵۴/۱۳ نانومتر بود (**شکل ۲-الف**). نانوکپسول‌های ۲۰ درصد بارگذاری شده شکل منظم‌تر، کروی و هموارتری داشتند و حالت توده‌ای در آنها دیده نشد (**شکل ۲-ب**). دلیل این امر می‌تواند هدایت الکتریکی بالاتر امولسیون حاوی ۱۰ درصد لیمون نسبت به امولسیون ۲۰ درصد باشد (**جدول ۲**) (Alborzi, Lim, & Kakuda, 2013).

با افزایش غلظت د-لیمون در امولسیون به ۲۰ درصد، نمودار توزیع اندازه نانوکپسول‌ها نسبت به ذرات ۱۰ درصد بارگذاری شده کمی به سمت راست منتقل شد (۸۵-۴۵ نانومتر). میانگین قطر کپسول‌های حاوی ۲۰ درصد لیمون ۶۵/۶۸ نانومتر بود. افزایش قطر نانوکپسول‌ها با افزایش غلظت د-لیمون احتمالاً به تفاوت در ویژگی‌های این امولسیون‌ها مربوط است. از آنجاکه ویژگی‌های رئولوژیکی و نیز کشش سطحی این امولسیون‌ها تفاوت معنی‌داری نشان نداد، فاکتورهای دیگر شامل هدایت الکتریکی و اندازه ذرات امولسیون‌ها را باید مورد بررسی قرار داد. Bock, Dargaville و Woodruff (۲۰۱۲) گزارش کرده‌اند که هرچه هدایت الکتریکی محلول بیشتر باشد تجزیه محلول در میدان الکتریکی آسان‌تر و تولید ذرات کوچک‌تر تسهیل می‌شود. براین اساس، قطر بیشتر ذرات حاصل از امولسیون ۲۰ درصد لیمون که هدایت الکتریکی کمتری نسبت به امولسیون ۱۰ درصد داشت، قابل توجیه است.

از طرف دیگر، افزایش قطر نانوکپسول با افزایش غلظت لیمون در امولسیون اولیه، می‌تواند به دلیل اندازه قطره‌های بزرگ‌تر امولسیون ۲۰ درصد د-لیمون نسبت به امولسیون ۱۰ درصد باشد (**جدول ۲**) (Hosseini et al., 2013).



قطر کپسول (نانومتر)



قطر کپسول (نانومتر)

شکل ۲- تأثیر غلظت د-لیمون بر مورفولوژی و نمودار توزیع اندازه ذرات نانوذرات صمغ دانه قدومه شیرازی الکترواسپری شده: الف) ۱۰ درصد و ب) ۲۰ درصد د-لیمون

امولسیون‌ها ثابت بود (۱/۰ درصد)، کاهش راندمان انکپسولاسیون و افزایش روغن سطحی با افزایش غلظت لیمون، می‌تواند نشان‌دهنده ناکافی بودن امولسیفایر برای پوشش کامل قطره‌های بیشتر روغن و در نتیجه امولسیون شدن ناکامل و وجود روغن امولسیفیه نشده باشد. براساس نتایج به دست آمده، کارایی نانوپوشانی در این تحقیق بالاتر از مطالعه‌های گزارش شده برای انکپسولاسیون د-لیمون با استفاده از دیگر روش‌های ریزپوشانی همچون خشک کردن انجمادی و خشک کردن پاششی بود (Kaushik & Roos, 2007; Ordoñez & Herrera, 2014). دلیل این مسئله می‌تواند پایداری د-لیمون در امولسیون تهیه شده با صمغ دانه قدومه شیرازی و نیز انجام فرایند الکترواسپری در شرایط دمایی محیط و یا عدم استفاده از حلال‌های شیمیایی طی تولید نانوکپسول باشد.

کارایی نانوپوشانی، لیمون سطحی و ظرفیت بارگذاری مطابق جدول (۳) کارایی انکپسولاسیون در نانوکپسول‌های حاوی ۱۰ درصد لیمون (نسبت لیمون به دیواره: ۱ به ۱۰)، ۹۳/۲۴ درصد اندازه‌گیری شد که از این مقدار لیمون منتقل شده به کپسول، تنها ۱/۰۷ درصد آن در سطح کپسول قرار گرفته است. این راندمان بالا به این معنی است که بخش اعظم لیمون افزوده شده به امولسیون به‌طور کارآمدی وارد کپسول شده است. با افزایش غلظت لیمون به ۲۰ درصد (نسبت هسته به دیواره: ۲ به ۱۰)، راندمان انکپسولاسیون کاهش و مقدار لیمون سطحی نانوکپسول‌ها افزایش معنی‌داری یافت. دلیل این مسئله می‌تواند ناکافی بودن مواد دیواره برای پوشش ماده انکپسوله‌شونده در صورت بالابودن نسبت هسته به دیواره باشد (Eltayeb, Stride, & Edirisinghe, 2015). علاوه بر این، از آنجاکه غلظت توئین ۲۰ در هر دو

جدول ۳- اثر غلظت د-لیمونن بر کارایی انکپسولاسیون، د-لیمونن سطحی و ظرفیت بارگذاری

نمونه	کارایی انکپسولاسیون (درصد)	لیمونن سطحی (درصد)	ظرفیت بارگذاری (درصد)
نانوکپسول ۱۰ درصد د-لیمونن	۹۳/۲۴±۲/۰۶ ^a	۱/۰۷±۰/۸۲ ^a	۹/۲۱±۲/۵۱ ^a
نانوکپسول ۲۰ درصد د-لیمونن	۸۷/۳۸±۴/۷۶ ^b	۶/۱۹±۱/۵۵ ^b	۱۶/۰۴±۲/۲۰ ^b

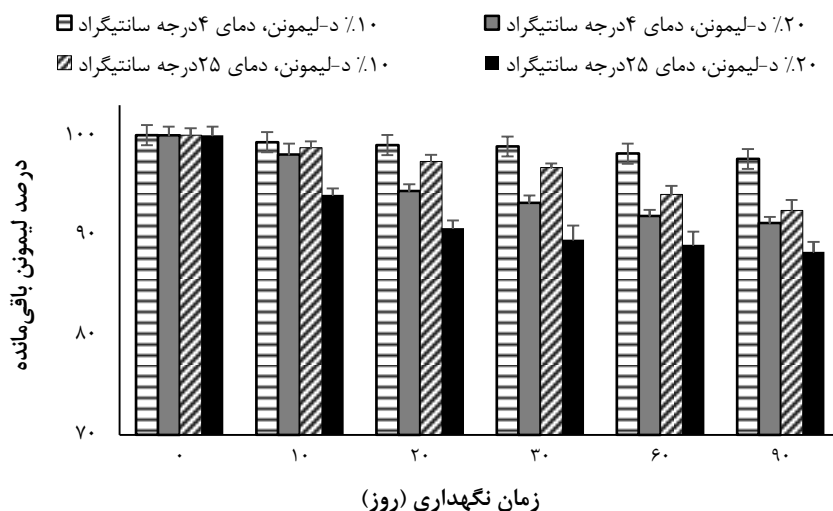
در هر ستون میانگین‌های دارای حروف متفاوت از لحاظ آماری با یکدیگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ دارند.

نگهداری، مربوط به کپسول‌های ۱۰ درصد بارگذاری شده در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد (۹۷/۶۱ درصد) و کمترین میزان پایداری د-لیمونن در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد مربوط به نانوکپسول‌های ۲۰ درصد (۸۷/۳۳ درصد) بود. پایداری کمتر نانوکپسول‌های حاوی ۲۰ درصد لیمونن می‌تواند با میزان لیمونن سطحی بیشتر در این نمونه‌ها نسبت به کپسول‌های ۱۰ درصد لیمونن و در نتیجه اکسیداسیون سریع آن در مجاورت با هوا مرتبط باشد. از طرف دیگر نسبت مادهٔ دیواره به هسته، در نانوکپسول‌های ۱۰ درصد بیشتر از ۲۰ درصد بوده و در نتیجه نفوذ لیمونن در مادهٔ دیواره را کاهش داده است. سومین عامل پایداری بیشتر نانوکپسول‌های ۱۰ درصد نسبت به ۲۰ درصد ممکن است با مورفولوژی نانوذرات مرتبط باشد. باتوجه به تصاویر FE-SEM (شکل ۲) نانوکپسول‌های ۱۰ درصد تا حدی توده‌ای و چسبیده به هم بودند. این ویژگی ممکن است منجر به کاهش سطح در معرض هوای نانوذرات و حتی بسته شدن منافذ احتمالی موجود در سطح آنها و در نتیجه کاهش خروج لیمونن شده باشد.

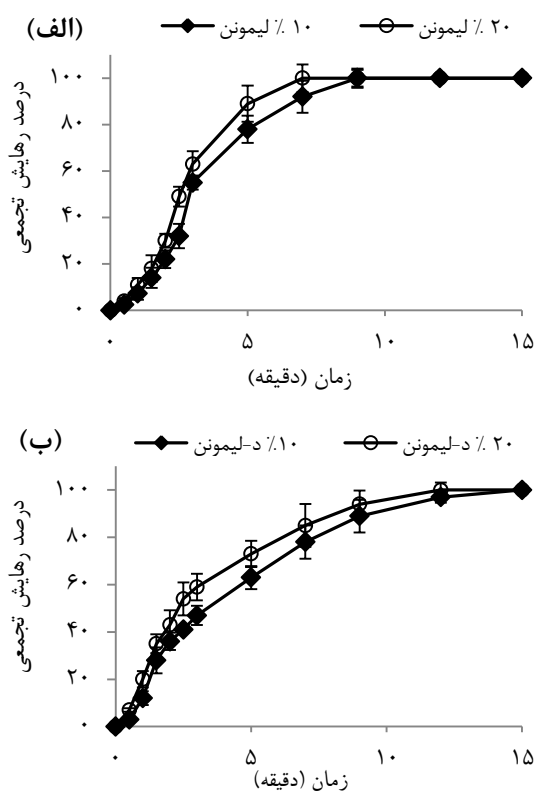
در جدول (۳) ظرفیت بارگذاری نانوکپسول‌ها که از نسبت لیمونن محصور شده در کپسول به وزن نانوکپسول تعیین شد، مشاهده می‌شود. باتوجه به داده‌های جدول (۳)، با افزایش غلظت لیمونن در امولسیون، ظرفیت بارگذاری انکپسولاسیون نیز افزایش یافت. البته ظرفیت بارگذاری اندازه‌گیری شده در نانوکپسول‌های ۲۰ درصد لیمونن از میزان تئوری آن کمتر بود (۱۶/۰۴ درصد در برابر ۲۰ درصد)، که دلیل آن افزایش لیمونن انکپسوله نشده در سطح نانوکپسول، با افزایش غلظت اولیهٔ هسته است.

ارزیابی پایداری د-لیمونن نانوپوشانی شده طی نگهداری

میزان طعم حفظ شده در نانوکپسول‌های حاوی ۱۰ و ۲۰ درصد د-لیمونن طی ۹۰ روز نگهداری در شکل (۳) نشان داده شده است. براساس شکل (۳)، در هر دو نانوکپسول مقدار د-لیمونن حفظ شده با سرعت کمی طی نگهداری کاهش یافت. کاهش د-لیمونن کپسوله شده احتمالاً ناشی از دو مکانیسم فرایند نفوذ طعم از دیوارهٔ کپسول و اکسیداسیون لیمونن در معرض هواست (Soottitantawat *et al.*, 2004). بیشترین میزان حفظ لیمونن طی ۳ ماه



شکل ۳- اثر دمای نگهداری (۴ و ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد) و میزان بارگذاری هسته (۱۰ و ۲۰ درصد) بر پایداری د-لیمونن ریزپوشانی شده طی ۹۰ روز نگهداری



شکل ۴- پروفیل رهایش د-لیمون از نانوکپسول‌های صمغ دانهٔ قدومه شیرازی در محیط آب دیونیزه (الف) و بزاق مصنوعی (ب) با دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد

در هر ۴ آزمون انجام‌شده، در زمان‌های اولیهٔ رهایش سرعت آزادشدن لیمون نسبتاً کم بود. مقدار کم لیمون در سطح نانوکپسول‌ها می‌تواند دلیل سرعت کم در ابتدای رهایش باشد. علاوه بر این، براساس نتایج آزمون گرماسنجی روبشی تفاضلی (DSC) در مطالعهٔ قبلی (Khoshakhlagh et al., 2017)، دمای انتقال شیشه‌ای نانوکپسول‌های صمغ دانهٔ قدومه شیرازی نسبتاً بالا (بیش از ۴۷ درجهٔ سانتی‌گراد) برآورد گردید. از آنجاکه دمای محیط رهایش (۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد) پایین‌تر از دمای انتقال شیشه‌ای نانوکپسول‌ها بود، ماتریس کپسول در ابتدای رهایش حالت شیشه‌ای داشته و حجم آزاد محدودی برای نفوذ لیمون به خارج و ورود مولکول‌های آب به داخل ماتریس موجود بوده است که منجر به کندشدن سرعت رهایش و ایجاد فاز تأخیری در ابتدای فرایند گردیده است (Lee & Peppas, 1987).

با گذشت زمان و جذب آب توسط صمغ، دمای انتقال شیشه‌ای ماتریس کپسول کاهش می‌یابد، تاجایی‌که

رهایش د-لیمون

پروفیل‌های رهایش لیمون از نانوکپسول‌های حاوی ۱۰ و ۲۰ درصد لیمون در محیط‌های رهایش آب دیونیزه و بزاق مصنوعی در شکل (۴) نمایش داده شده است. در هر ۴ آزمون، رهایش کامل و نسبتاً سریع لیمون مشاهده شد به طوری‌که پس از حداکثر ۱۵ دقیقه، کل طعم بارگذاری‌شده به محیط رهایش آزاد گردید. این مشاهده‌ها می‌تواند ناشی از آب‌دوستی زیاد صمغ دانهٔ قدومه شیرازی و حل‌شدن آن در محیط‌های آبی باشد.

در هر دو محیط آب و بزاق مصنوعی، شاهد سرعت رهایش کمتر لیمون از نانوکپسول‌های ۱۰ درصد بارگذاری‌شده در مقایسه با نانوکپسول‌های ۲۰ درصد بودیم. از آنجاکه اندازهٔ ذرات نانوکپسول‌های ۱۰ درصد کوچک‌تر از ذرات حاوی ۲۰ درصد لیمون بود (شکل ۲)، انتظار می‌رفت نانوکپسول‌های ۱۰ درصد به دلیل نسبت سطح به حجم بیشتر و طول مسیر کوتاه‌تر برای نفوذ لیمون به محیط رهایش، سرعت رهایش بیشتری نسبت به نانوکپسول‌های ۲۰ درصد داشته باشند.

سرعت کمتر رهایش لیمون از نانوکپسول‌های حاوی ۱۰ درصد لیمون، احتمالاً با نسبت هسته به دیوارهٔ کمتر در این نانوکپسول‌ها (۱ به ۱۰) نسبت به نمونه‌های ۲۰ درصد لیمون (۲ به ۱۰) مرتبط است؛ به طوری‌که سهم بیشتر صمغ در ترکیب کپسول ۱۰ درصد در مقایسه با نمونهٔ ۲۰ درصد، ممانعت بیشتری نسبت به خروج لیمون ایجاد کرده است. همچنین به دلیل نسبت وزنی بالاتر صمغ در نانوکپسول‌های ۱۰ درصد لیمون، زمان لازم برای بازشدن زنجیره‌های پلیمری افزایش و به تبع آن سرعت تخریب ماتریس کاهش می‌یابد. علاوه بر این، افزایش سرعت رهایش با افزایش میزان بارگذاری لیمون می‌تواند به گرادیان غلظت بیشتر مولکول‌های طعم در داخل و خارج نانوکپسول‌های ۲۰ درصد نسبت داده شود (Hosseini et al., 2013).

باتوجه به عدم ارتباط اندازهٔ ذرات و طول مسیر انتشار لیمون با سرعت رهایش احتمال داده شد که مکانیسم رهایش پیچیده بوده و نفوذ به تنهایی عامل رهایش لیمون در هر دو محیط بزاق و آب نمی‌باشد.

کینتیکی مختلفی با داده‌های آزمون‌های رهایش برآزش شدند. پارامترهای مربوط به هر یک از این مدل‌ها در **جدول (۴)** ارائه شده است. در بین مدل‌های کینتیکی مورد استفاده، مدل کورسمیر-پپاس بالاترین ضریب تعیین ($R^2 \geq 0.96$) را با داده‌های ۴ پروفیل رهایش نشان داد. از آنجاکه مدل کورسمیر-پپاس هر دو فرایند انتشار ترکیب فعال و فرسایش پلیمر را توصیف می‌کند، بالاتر بودن ضریب تعیین این مدل در برآزش با داده‌های آزمایشگاهی قابل انتظار بود.

به منظور تعیین مکانیسم رهایش، توان رهایش (n) در مدل کورسمیر-پپاس بررسی شد. در یک ژئومتری کروی اگر مقدار $n \leq 0.43$ باشد، نفوذ فیک مکانیسم غالب رهایش مادهٔ هسته است. در صورتی که $0.43 < n < 0.85$ تعیین شود انتقال از نوع غیرعادی یا غیرفیک^۱ بوده که در آن ترکیب مکانیسم‌های نفوذ و فرسایش زنجیره‌های پلیمری در رهایش هسته تأثیرگذار است. در شرایطی که $n > 0.85$ باشد انتقال از نوع دو بوده که به معنی غالب بودن اثر انحلال و فرسایش پلیمر بر حرکت نفوذی مولکول‌های مادهٔ زیست‌فعال در ماتریس است (Korsmeyer et al., 1986).

بر اساس **جدول (۴)** مقدار n در همهٔ آزمون‌ها بزرگ‌تر از 0.43 محاسبه شد که نشان می‌دهد در هیچ یک از شرایط رهایش لیمونن از نانوکپسول‌های صمغ دانهٔ قدومه شیرازی، مکانیسم نفوذ فیک غالب نبوده است. به‌طور کلی، زمانی رهایش هسته از کپسول صرفاً توسط انتشار کنترل می‌شود که سیستم غیرقابل تجزیه بوده و یا نفوذ آب در آن قابل صرف نظر کردن است که در این صورت مولکول‌های مادهٔ بیواکتیو تنها بر اساس گرادیان غلظت به محیط رهایش انتشار می‌یابند (Arifin et al., 2006).

مقدار n در رهایش لیمونن از نانوکپسول‌های ۱۰ و ۲۰ درصد در محیط آب بزرگ‌تر از 0.85 بود که به معنی غالب بودن نفوذ آب به ماتریس پلیمر بر فرایند نفوذ مولکول‌های لیمونن در ماتریس هیدروکلوئیدی است. در مقابل، مقدار n در مورد رهایش در بزاق، برای هر دو نوع نانوکپسول $0.43 < n < 0.85$ محاسبه شد که نشان‌دهندهٔ

ماتریس هیدروکلوئیدی به حالت لاستیکی و منعطف در خواهد آمد و حجم آزاد کافی برای انتشار لیمونن در ماتریس نانوکپسول ایجاد می‌کند. با این حال، با نفوذ آب و هیدراته شدن صمغ، نانوکپسول‌ها شروع به تورم کرده و منجر به افزایش اندازهٔ ذرات می‌شود، در نتیجه طول مسیر نفوذ لیمونن به محیط افزایش و سرعت خروج آن کاهش می‌یابد (Arifin, Lee, & Wang, 2006). بنابراین به دلیل آب‌دوستی صمغ دانهٔ قدومه شیرازی، با قرار گرفتن نانوکپسول‌ها در محیط آبی چندین پدیدهٔ فیزیکی پیچیده بروز می‌نماید.

با گذشت زمان بیشتر و جذب آب تا حد اشباع توسط ماتریس هیدروکلوئیدی، فرایند تورم پایان یافته و مرحلهٔ جدیدی به نام فرسایش نانوکپسول آغاز می‌شود. در این مرحله در اثر هیدرولیز، پیوندهای ماتریس پلیمری شکسته شده، زنجیره‌های کوتاه‌تر و با درجهٔ درهم‌تنیدگی کمتر ایجاد می‌شود. زنجیره‌های کوچک‌تر از ماتریس به محیط رهایش خارج شده و شبکهٔ پلیمری به‌طور دینامیک بازتر شده و لیمونن باقی‌مانده در اثر تخریب نانوکپسول آزاد می‌شود (Siepmann, Kranz, Bodmeier, & Peppas, 1999).

علاوه بر تأثیر میزان بارگذاری هسته، نوع محیط رهایش نیز بر سرعت رهایش مؤثر بود. به‌طوری‌که در محیط آب دیونیزه شیب تندتر منحنی و خروج ناگهانی لیمونن مشاهده شد. در صورتی که آزاد شدن لیمونن در بزاق مصنوعی به صورت تدریجی و پیوسته رخ داد. رهایش ناگهانی و سریع لیمونن در آب دیونیزه نشان‌دهندهٔ جذب سریع‌تر آب توسط ماتریس هیدروکلوئیدی و سرعت تخریب زیاد نانوکپسول‌ها در این محیط نسبت به بزاق مصنوعی است (Arifin et al., 2006). دلیل این امر احتمالاً ویسکوزیتهٔ بالاتر بزاق مصنوعی به دلیل حضور موسین بوده که تحرک کمتر مولکول‌های آب و در نتیجه سرعت نفوذ آب کمتر و فرسایش کندتر نانوکپسول را در این محیط نسبت به آب خالص به دنبال داشته است.

بررسی کینتیکی رهایش د-لیمونن

به منظور بررسی مکانیسم رهایش لیمونن از نانوکپسول‌های صمغ دانهٔ قدومه شیرازی، مدل‌های

^۱ Anomalous or non-Fickian diffusion

انحراف زیاد و ضریب تعیین کمی نشان دادند زیرا مدل هیگوجی در شرایط رهایش کنترل شده با انتشار فیک بهترین همبستگی را دارد.

براساس ضریب تعیین، مدل درجه صفر داده‌های مربوط به رهایش لیمون از هر دو نانوکپسول ۱۰ و ۲۰ درصد را در محیط آب دیونیزه بهتر از رهایش طعم در بزاق مصنوعی مدل‌سازی کرد. درحالی‌که مدل درجه اول با داده‌های رهایش در بزاق همبستگی بالاتری نسبت به رهایش در آب نشان داد. به‌طور کلی، مدل درجه صفر با شرایط رهایش مبتنی بر انحلال ماتریس کپسول مرتبط بوده، درحالی‌که مدل درجه اول در شرایطی که مکانیسم ترکیبی انحلال و نفوذ غالب باشد، همبستگی بالایی با داده‌های تجربی نشان می‌دهد (Machín, Isasi, & Vélaz, 2013).

انتقال غیرعادی (غیرفیک) در محیط بزاق مصنوعی بود. این مکانیسم درمورد سیستم‌هایی با ویژگی‌های حدواسط سیستم‌های کنترل شده با نفوذ فیک و سیستم‌های دارای مکانیسم انحلال پلیمر مشاهده می‌شود و در آنها فرایندهای انتشار و انحلال به‌طور تقریباً هم‌زمان اتفاق می‌افتد. براساس آنچه در بخش رهایش د-لیمون نتیجه‌گیری شد سرعت جذب آب و به تبع آن سرعت فرسایش صمغ در بزاق نسبت به محیط آب دیونیزه کمتر است. این مسأله می‌تواند دلیل حاکم شدن مکانیسم ترکیبی انتشار و فرسایش بر رهایش لیمون در محیط بزاق باشد. برخلاف این، تخریب ناگهانی و سریع نانوکپسول‌ها در آب خالص باعث پیروی رهایش از مکانیسم انتقال نوع دو گردید. به‌همین دلیل پروفیل‌های رهایش طعم در محیط آب دیونیزه، از قانون هیگوجی

جدول ۴- پارامترهای مدل‌های کینتیکی برازش شده با پروفیل رهایش د-لیمون از نانوکپسول صمغ دانه قدومه شیرازی

نوع کپسول و محیط رهایش				پارامترهای رهایش	مدل
۲۰ درصد لیمون، بزاق مصنوعی	۲۰ درصد لیمون، آب دیونیزه	۱۰ درصد لیمون، بزاق مصنوعی	۱۰ درصد لیمون، آب دیونیزه		
0.11 ± 0.02^a	0.16 ± 0.05^b	0.09 ± 0.01^a	0.13 ± 0.03^a	$K_0 \text{ (min}^{-1}\text{)}$	درجه صفر
۰/۶۸۸	۰/۹۴۴	۰/۷۷۶	۰/۹۳۶	R^2	
0.28 ± 0.02^b	0.27 ± 0.04^b	0.21 ± 0.03^a	0.22 ± 0.02^a	$K_1 \text{ (min}^{-1}\text{)}$	درجه اول
۰/۹۹۲	۰/۸۹۸	۰/۹۸۸	۰/۸۹۷	R^2	
0.31 ± 0.02^{ab}	0.32 ± 0.02^b	0.27 ± 0.03^a	0.29 ± 0.02^a	$K_H \text{ (min}^{-1}\text{)}$	هیگوجی
۰/۹۵۹	۰/۸۱۱	۰/۹۵۳	۰/۸۰۴	R^2	
0.25 ± 0.00^d	0.10 ± 0.01^c	0.18 ± 0.01^b	0.05 ± 0.00^a	$K_{Kp} \text{ (min}^{-n}\text{)}$	کورسمیر-پپاس
0.72 ± 0.02^b	1.72 ± 0.04^c	0.81 ± 0.04^b	2.25 ± 0.02^a	n	
۰/۹۶۹	۰/۹۹۶	۰/۹۶۰	۰/۹۹۰	R^2	

در هر ردیف حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین ۴ نمونه می‌باشد ($P < 0.05$).

بافت و ظاهر محصولات غذایی دارند، رهایش سریع‌تر و یکنواخت‌تری نیز در مقایسه با ساختارهای بزرگ‌تر فراهم می‌کنند. کارایی انکپسولاسیون بالا (بیش از ۸۷ درصد) از دیگر مزایای استفاده از این روش برای نانوپوشانی د-لیمون بود. نانوکپسول‌های صمغ دانه قدومه شیرازی پایداری مناسبی طی نگهداری در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد نشان دادند، به‌طوری‌که حداکثر افت لیمون کپسوله‌شده پس از ۳ ماه نگهداری، ۱۱/۶۷ درصد بود. آزمون‌های رهایش طعم نشان داد لیمون کپسوله‌شده به‌طور سریع، کامل و تقریباً یکنواخت در دو محیط آب خالص و بزاق مصنوعی آزاد می‌گردد. این مشاهده‌ها ناشی

نتیجه‌گیری

این پژوهش با هدف نانوپوشانی د-لیمون با استفاده از صمغ بومی دانه قدومه شیرازی به روش فرایند الکترواسپری انجام گرفت. نتایج نشان داد صمغ دانه قدومه شیرازی در غلظت پایین (۰/۵ درصد) قادر به تولید نانوکپسول‌های مترکم و با مورفولوژی کروی و هموار است. در شرایط فرایند اعمال شده، نانوکپسول‌های صمغ دانه قدومه شیرازی قطر بسیار کم (۳۵-۸۵ نانومتر) و با توزیع اندازه باریک داشتند. تولید کپسول‌های با قطر بسیار کوچک و یکنواخت یکی از مزایای روش الکترواسپری است، زیرا نانوکپسول‌ها، علاوه بر اینکه حداقل تأثیر را بر

شرایط شبیه‌سازی شده دهانی، قابلیت استفاده از آنها را در محصولات غذایی همچون کیک‌ها و یا پودرهای نوشیدنی ممکن می‌کند. از این رو، در ادامه تحقیق‌ها، کاربرد نانوکپسول صمغ دانه قدومه شیرازی در محصولات غذایی و بررسی پروفیل رهایش لیمونن پیشنهاد می‌گردد.

از آب‌دوستی ماتریس هیدروکلوئیدی کپسول‌ها و همچنین اندازه ذرات کوچک و یکنواخت آنها بود. نتایج بررسی کینتیکی رهایش نشان داد دو مکانیسم نفوذ و فرسایش کپسول در آزادسازی لیمونن نقش دارند. رهایش سریع طعم از نانوکپسول‌های تولید شده در محیط آبی و

منابع

- Alborzi, S., Lim, L.-T., & Kakuda, Y. (2013). Encapsulation of folic acid and its stability in sodium alginate-pectin-poly (ethylene oxide) electrospun fibres. *Journal of microencapsulation*, 30(1), 64-71. doi:<https://doi.org/10.3109/02652048.2012.696153>
- Arifin, D. Y., Lee, L. Y., & Wang, C.-H. (2006). Mathematical modeling and simulation of drug release from microspheres: Implications to drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(12), 1274-1325. doi:<https://doi.org/10.1016/j.addr.2006.09.007>
- Bock, N., Dargaville, T. R., & Woodruff, M. A. (2012). Electrospaying of polymers with therapeutic molecules: State of the art. *Progress in Polymer Science*, 37(11), 1510-1551. doi:<https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2012.03.002>
- Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17(1), 25-39. doi:[https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(01\)00120-5](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00120-5)
- Eltayeb, M., Stride, E., & Edirisinghe, M. (2015). Preparation, characterization and release kinetics of ethylcellulose nanoparticles encapsulating ethylvanillin as a model functional component. *journal of functional foods*, 14, 726-735. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.02.036>
- Fabra, M. J., López-Rubio, A., & Lagaron, J. M. (2016). Use of the electrohydrodynamic process to develop active/bioactive bilayer films for food packaging applications. *Food Hydrocolloids*, 55, 11-18. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.10.026>
- Ghorani, B., & Tucker, N. (2015). Fundamentals of electrospinning as a novel delivery vehicle for bioactive compounds in food nanotechnology. *Food Hydrocolloids*, 51, 227-240. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.05.024>
- Gómez-Estaca, J., Balaguer, M. P., Gavara, R., & Hernandez-Munoz, P. (2012). Formation of zein nanoparticles by electrohydrodynamic atomization: Effect of the main processing variables and suitability for encapsulating the food coloring and active ingredient curcumin. *Food Hydrocolloids*, 28(1), 82-91. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.11.013>
- Hesarinejad, M. A., Razavi, S. M., & Koocheki, A. (2015). Alyssum homolcarpum seed gum: Dilute solution and some physicochemical properties. *International journal of biological macromolecules*, 81, 418-426. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.08.019>
- Hosseini, S. M., Hosseini, H., Mohammadifar, M. A., Mortazavian, A. M., Mohammadi, A., Khosravi-Darani, K., . . . Khaksar, R. (2013). Incorporation of essential oil in alginate microparticles by multiple emulsion/ionic gelation process. *International journal of biological macromolecules*, 62, 582-588. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.09.054>
- Kaushik, V., & Roos, Y. H. (2007). Limonene encapsulation in freeze-drying of gum Arabic-sucrose-gelatin systems. *LWT-Food Science and Technology*, 40(8), 1381-1391. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.10.008>
- Khoshakhlagh, K., Koocheki, A., Mohebbi, M., & Allafchian, A. (2017). Development and characterization of electrospayed Alyssum homolcarpum seed gum nanoparticles for encapsulation of d-limonene. *Journal of colloid and interface science*, 490, 562-575. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2016.11.067>
- Khoshakhlagh, K., Mohebbi, M., Koocheki, A., & Allafchian, A. (2018). Encapsulation of D-limonene in Alyssum homolcarpum seed gum nanocapsules by emulsion electrospaying: morphology characterization

- and stability assessment. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 16, 43-52. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2018.03.001>
- Koocheki, A., Kadkhodae, R., Mortazavi, S. A., Shahidi, F., & Taherian, A. R. (2009). Influence of *Alyssum homolocarpum* seed gum on the stability and flow properties of O/W emulsion prepared by high intensity ultrasound. *Food Hydrocolloids*, 23(8), 2416-2424. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.06.021>
- Koocheki, A., Mortazavi, S., Shahidi, F., Razavi, S., Kadkhodae, R., & Milani, J. (2010). Optimization of mucilage extraction from Qodume Shirazi seed (*Alyssum homolocarpum*) using response surface methodology. *Journal of Food Process Engineering*, 33, 861-882. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2008.00312.x>
- Korsmeyer, R. W., Lustig, S. R., & Peppas, N. A. (1986). Solute and penetrant diffusion in swellable polymers. I. Mathematical modeling. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 24(2), 395-408. doi:<https://doi.org/10.1002/polb.1986.090240214>
- Lee, P. I., & Peppas, N. A. (1987). Prediction of polymer dissolution in swellable controlled-release systems. *Journal of Controlled Release*, 6(1), 207-215. doi:[https://doi.org/10.1016/0168-3659\(87\)90077-0](https://doi.org/10.1016/0168-3659(87)90077-0)
- Lević, S., Pajić Lijaković, I., Đorđević, V., Rac, V., Rakić, V., Šolević Knudsen, T., . . . Nedović, V. (2015). Characterization of sodium alginate/d-limonene emulsions and respective calcium alginate/d-limonene beads produced by electrostatic extrusion. *Food Hydrocolloids*, 45, 111-123. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.10.001>
- López-Rubio, A., & Lagaron, J. M. (2012). Whey protein capsules obtained through electrospraying for the encapsulation of bioactives. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 13, 200-206. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2011.10.012>
- Machín, R., Isasi, J. R., & Vélaz, I. (2013). Hydrogel matrices containing single and mixed natural cyclodextrins. Mechanisms of drug release. *European polymer journal*, 49(12), 3912-3920. doi:<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2013.08.020>
- Ordoñez, M., & Herrera, A. (2014). Morphologic and stability cassava starch matrices for encapsulating limonene by spray drying. *Powder technology*, 253, 89-97. doi:<https://doi.org/10.1016/j.powtec.2013.11.005>
- Pérez-Masiá, R., Lagaron, J. M., & López-Rubio, A. (2014). Development and optimization of novel encapsulation structures of interest in functional foods through electrospraying. *Food and Bioprocess Technology*, 7(11), 3236-3245. doi:<https://doi.org/10.1007/s11947-014-1304-z>
- Pérez-Masiá, R., López-Nicolás, R., Periago, M. J., Ros, G., Lagaron, J. M., & López-Rubio, A. (2015). Encapsulation of folic acid in food hydrocolloids through nanospray drying and electrospraying for nutraceutical applications. *Food Chemistry*, 168, 124-133. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.051>
- Siepmann, J., Kranz, H., Bodmeier, R., & Peppas, N. (1999). HPMC-matrices for controlled drug delivery: a new model combining diffusion, swelling, and dissolution mechanisms and predicting the release kinetics. *Pharmaceutical research*, 16(11), 1748-1756. doi:<https://doi.org/10.1023/A:1018914301328>
- Soottitantawat, A., Yoshii, H., Furuta, T., Ohgawara, M., Forssell, P., Partanen, R., . . . Linko, P. (2004). Effect of water activity on the release characteristics and oxidative stability of D-limonene encapsulated by spray drying. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(5), 1269-1276. doi:<https://doi.org/10.1021/jf035226a>
- Sun, C., & Gunasekaran, S. (2009). Effects of protein concentration and oil-phase volume fraction on the stability and rheology of menhaden oil-in-water emulsions stabilized by whey protein isolate with xanthan gum. *Food Hydrocolloids*, 23(1), 165-174. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.12.006>
- Sun, J. (2007). D-Limonene: safety and clinical applications. *Alternative Medicine Review*, 12(3), 259.
- Tapia-Hernández, J. A., Torres-Chávez, P. I., Ramírez-Wong, B., Rascón-Chu, A., Plascencia-Jatomea, M., Barreras-Urbina, C. G., . . . Rodríguez-Félix, F. (2015). Micro-and nanoparticles by electrospray: advances and applications in foods. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(19), 4699-4707. doi:<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01403>

- Torres-Giner, S., Martinez-Abad, A., Ocio, M. J., & Lagaron, J. M. (2010). Stabilization of a nutraceutical omega-3 fatty acid by encapsulation in ultrathin electrosprayed zein prolamine. *Journal of food science*, 75(6), N69-N79. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01678.x>
- Van Ruth, S., Roozen, J., & Cozijnsen, J. (1994). Comparison of dynamic headspace mouth model systems for flavour release from rehydrated diced bell peppers. In D. G. v. d. H. H. Maarse (Ed.), *Flavour Release From Dried Vegetables* (pp. 59-64): Elsevier Science.
- Vardhanabhuti, B., & Ikeda, S. (2006). Isolation and characterization of hydrocolloids from monoi (Cissampelos pareira) leaves. *Food Hydrocolloids*, 20(6), 885-891. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2005.09.002>
- Zahi, M. R., Liang, H., & Yuan, Q. (2015). Improving the antimicrobial activity of D-limonene using a novel organogel-based nanoemulsion. *Food Control*, 50, 554-559. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.10.001>

The Evaluation of Structural Properties and Release Behavior of D-limonene Nanoencapsulated with *Alyssum Homolocarpum* Seed Gum Applying Electrospraying

Khadije Khoshakhlagh¹, Mohebbat Mohebbi^{2*}, Arash Koocheki²

1- PhD. Student, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2- Professor, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

* Corresponding author (m-mohebbi@um.ac.ir)

Abstract

In this study *alyssum homolocarpum* seed gum (AHSG) nanocapsules containing D-limonene were fabricated by electrospraying process. For this purpose, D-limonene emulsions with constant AHSG (0.5% w/w) and two different flavor concentrations (10 or 20% based on gum weight) were prepared. The effects of physical properties of emulsions (rheological properties, droplet size, surface tension and electrical conductivity) on the morphology of capsules were studied. The results indicated that the droplet size and electrical conductivity of emulsions was mainly affected by concentration of D-limonene. Consequently, morphology and particle size of nanocapsules obtained from two emulsions, were somewhat different due to their difference in flavor content. FE-SEM images confirmed the success of electrospraying process for production of round and smooth AHSG nanocapsules with narrow size distribution. AHSG nanocapsules showed high encapsulation efficiency (more than 87%). Stability assay revealed a relatively good storage stability of encapsulated D-limonene and the maximum loss in 90 days was 11.67%. The release of D-limonene from AHSG nanocapsules was performed quickly, completely and fairly uniform due to the small and uniform size of particles. The kinetic modeling indicated that the data of D-limonene release in both artificial saliva and deionized water media were well fitted to the Korsmeyer-Peppas models.

Keywords: *Alyssum homolocarpum* seed gum, Electrospraying, Kinetic modelling, Nanoencapsulation, Release