تعیین نانوساختار میکروامولسیون لیکوپن توسط هدایت‌سنجی و مطالعات رفتار جریانی

عاطفه امیری ریگی[1]، سلیمان عباسی[2*]

۱- دانشجوی دکتری، آزمایشگاه کلوئیدهای غذایی و رئولوژی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲- دانشیار، آزمایشگاه کلوئیدهای غذایی و رئولوژی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۷/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۲۵)

چکیده

میکروامولسیون‌ها سامانه‌های شفاف نوری و پایدار ترمودینامیکی هستند که قادر به استخراج انتخابی و ایمن ترکیبات مختلف (نظیر غذاداروها) از بافت‌های متفاوت (مانند بافت‌های گیاهی) می‌باشند. در ضمن، شناسایی نانوساختار میکروامولسیون (میسل نرمال، میسل معکوس و دوپیوسته) اطلاعات با ارزشی را در زمینه‌ی کاربرد این سامانه‌ها فراهم می‌کند. بنابراین، در مطالعه‌ی حاضر استخراج لیکوپن از پسماندهای صنعتی کارخانه‌های رب گوجه‌فرنگی با استفاده از سامانه‌ی میکروامولسیون تهیه شده با استفاده از سورفاکتانت طبیعی ساپونین و کمک‌سورفاکتانت پروپیلن گلیکول، صورت گرفت و انواع نانوساختارهای موجود در ناحیه‌ی تک فاز میکروامولسیون توسط هدایت‌سنجی الکتریکی و اندازه‌گیری ویژگی‌های جریانی تعیین شدند. نتایج نشان داد که روش تیتراسیون با آب و اندازه‌گیری هدایت الکتریکی و ویژگی‌های جریانی در راستای خطوط رقیق‌سازی در نمودار شبه-سه-فازی می‌توانند به عنوان روش‌های ساده و سریع برای تعیین نانوساختارهای گوناگون و مرز بین این ساختارها در ناحیه‌ی میکروامولسیون مورد استفاده قرار گیرند. همچنین مدل هرشل-بالکلی بهترین برازش را با داده‌های حالت بالا رونده‌ی تنش برشی-سرعت برشی حاصل از تمامی نمونه‌ها نشان داد.

کلید واژگان: رفتار جریانی، ریزساختار، لیکوپن، میکروامولسیون، هدایت الکتریکی

* مسئول مکاتبات: sabbasifood@modares.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

۱- مقدمه

لیکوپن یک کاروتنوئید محلول در چربی و مؤثرترین خنثی‌کننده‌ی اکسیژن فعال در میان تمامی کاروتنوئیدهای موجود در سامانه‌های زیستی است. نتایج مطالعات تغذیه‌ای و همه‌گیر شناسی[1] نیز نشان داده است که این کاروتنوئید طبیعی در کاهش خطر ابتلا به گرفتگی رگ‌ها، بیماری‌های قلبی-عروقی و انواع خاصی از سرطان بسیار مؤثر است. امروزه این ویژگی‌ها باعث شده است که تقاضا برای عرضه‌ی لیکوپن به شدت رشد کند [۱، ۲].

با توجه به اطلاعات موجود، بیش از ۸۵٪ لیکوپن مورد نیاز در رژیم غذایی انسان از طریق مصرف گوجه‌فرنگی و محصولات برپایه‌ی گوجه‌فرنگی تأمین می‌شود [۳]. در ضمن، لیکوپن حدود ۸۰-۹۰٪ کل کاروتنوئیدهای گوجه‌فرنگی را تشکیل می‌دهد [٤]. محتوای لیکوپن گوجه‌فرنگی نیز حدود mg/kg ٤۰-۹۰ (بر پایه وزن مرطوب) گزارش شده است که این مقدار بسته به گونه‌ی گوجه‌فرنگی، مرحله‌ی رسیدگی، روش کشت و شرایط رشد متغیر می‌باشد [۵، ٦].

پوست و دانه‌ی گوجه‌فرنگی محتوی بیشترین مقدار لیکوپن هستند به‌طوریکه ۷۰-۹۰٪ کل لیکوپن موجود در گوجه‌فرنگی را در خود جای می‌دهند و می‌توانند در مقایسه با بخش گوشتی (پالپ) گوجه‌فرنگی کامل تا ۵ برابر لیکوپن بیشتری داشته باشند [۵]. علاوه بر این، نتایج تحقیقات نشان می‌دهند که لیکوپن حاصل از محصولات فرایند شده‌ی بر پایه‌ی گوجه‌فرنگی نظیر آب گوجه‌فرنگی و رب گوجه‌فرنگی، که تحت تیمار حرارتی و مکانیکی قرار گرفته‌اند، نسبت به گوجه‌فرنگی تازه دسترسی زیستی بیشتری دارد [۵].

کشور ایران یکی از تولید کننده‌های بزرگ گوجه‌فرنگی در جهان با تولید سالانه‌ی نزدیک به ٤ میلیون تن است که بیشترین میزان آن در صنایع فراوری به‌ویژه تولید رب گوجه‌فرنگی استفاده می‌شود [۷]. تقریباً ۱۰-٤۰٪ وزن کل گوجه فرنگی فرایند شده در کارخانه‌های تولید رب گوجه‌فرنگی به صورت تفاله یا پسماند گوجه‌فرنگی[2] (عمدتا حاوی پوست و دانه‌ی گوجه‌فرنگی) است. پسماندهای گوجه‌فرنگی در حال حاضر در محیط زیست رها شده و یا به صورت محدود به مصرف خوراک دام می‌رسند. با توجه به اینکه این پسماندها محتوی بیشترین مقدار لیکوپن هستند و تحت تیمار حرارتی-مکانیکی قرار گرفته‌اند، لذا می‌توانند به‌عنوان منبعی ارزان و مناسب برای استخراج ترکیبات ارزشمندی نظیر لیکوپن در نظر گرفته شوند [۵، ۸].

تاکنون روش‌های گوناگونی برای سنتز شیمیایی لیکوپن پیشنهاد شده است اما تقریباً تمامی آنها از نظر اقتصادی برای تولید در مقیاس صنعتی توجیه‌پذیر نیستند [۹]. تولید میکروبی لیکوپن با استفاده از ریزاندامگان‌هایی نظیر *Blakeslea trispora* و *Rhodospirillum rubrum* نیز تقریباً به‌طور کامل محدود به مقیاس آزمایشگاهی بوده و از راندمان ویژه‌ی پایینی برخوردار است [۱۰]. استخراج لیکوپن توسط روش سیال فوق بحرانی با استفاده از دی‌اکسید کربن هم روش دیگری است که توانسته راندمان استخراج لیکوپن را افزایش و امکان انجام فرایند در شرایط دمایی متعادل‌تر را فراهم کند. با این وجود، استفاده از سیالات فوق بحرانی هزینه‌ی عملیاتی زیادی داشته و تولید در مقیاس صنعتی را از جنبه‌ی اقتصادی غیرممکن می‌سازد [۸].

بنابراین، در حال حاضر ساده‌ترین، کم هزینه‌ترین و کاراترین روش برای استخراج لیکوپن از منابع طبیعی، استفاده از حلال‌های آلی نظیر *n*-هگزان، اتانول، استون و اتیل استات می‌باشد که این روش نیز معایب گوناگونی نظیر دمای بالای فرایند، سمی بودن حلال، وجود باقیمانده‌ی حلال در محصول نهایی و مشکلات دفع حلال را دارد [۸]. به همین دلیل، امروزه تولیدکنندگان و سازمان‌های نظارتی به دنبال روش‌های کم خطرتر، سالم‌تر و دوستدار محیط زیست هستند که به نظر می‌رسد روش میکروامولسیون یکی از گزینه‌های مناسب برای این منظور باشد.

میکروامولسیون‌ها سامانه‌های همگرا (ایزوتروپیک) تشکیل شده از آب، روغن و سورفاکتانت هستند. البته در بیشتر مواقع علاوه بر ترکیبات اصلی تشکیل دهنده‌ی سامانه‌های میکروامولسیونی (آب، روغن و سورفاکتانت)، از کمک سورفاکتانت‌ها و کمک‌حلال‌های گوناگون نیز برای کاهش کشش بین‌سطحی، کاهش گرانروی، افزایش حلالیت و کمک به تشکیل میکروامولسیون استفاده می‌شود [۱۱].

علاقه‌ی رو به رشد در بکارگیری میکروامولسیون‌ها در حوزه‌ی فن‌آوری مواد غذایی بیشتر از همه به دلیل ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی کم‌نظیر آنها نظیر توانایی تشکیل پراکنش‌های[3]

1. Epidemiologic
2. Tomato pomace
3. Dispersions

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

شفاف نوری و پایدار ترمودینامیکی می‌باشد [١١، ١٢]. علاوه بر این، میکروامولسیون‌ها قادر به حل کردن مقادیر زیاد ترکیبات و افزودنی‌های غذایی چربی‌دوست و آب‌دوست، افزایش کارایی واکنش‌های آنزیمی و شیمیایی، استخراج انتخابی غذاداروها و ترکیبات زیستی آب‌دوست و آب‌گریز از یک مخلوط پیچیده و افزایش جذب و حفظ دسترسی زیستی غذاداروها در بدن می‌باشند [١١، ١٣].

میکروامولسیون‌ها قادر به حل کردن ترکیبات مورد نظر در فاز پراکنده می‌باشند. در برخی موارد ترکیب مورد نظر نه تنها در قطرات میکروامولسیون حل می‌شود، بلکه فاز میکروامولسیون را به توده حلال[1] ترجیح می‌دهد. در چنین موقعیت‌هایی می‌توان از سامانه‌های میکروامولسیونی با استفاده از سورفاکتانت‌ها برای استخراج ترکیبات از توده حلال استفاده کرد [١٤]. مولکول‌های سورفاکتانت در غلظت پایین قادر به کاهش مؤثر کشش بین‌سطحی تا مقدار $0/001\ mN\ m^{-1}$، تبدیل مولکول‌های آب‌گریز به آب‌دوست و استخراج ایمن و ارزان ترکیبات آب‌گریز و آب‌دوست هستند [١١، ١٥، ١٦].

میکروامولسیون‌ها در محدوده‌ی وسیعی از غلظت سورفاکتانت، نسبت آب به روغن، دما و غیره شکل می‌گیرند که بیانگر وجود نانوساختارهای متنوع در میکروامولسیون‌ها می‌باشد. اولین تصویر منتشر شده از نتایج مطالعات اولیه روی میکروامولسیون‌ها، قطرات کروی آب یا روغن پراکنده شده به ترتیب در روغن (W/O) و آب (O/W) را با شعاع ١٠٠ تا ١٠٠٠ آنگستروم نشان می‌دهد. علاوه بر ساختارهای شبیه قطره، حضور میکروامولسیون‌های با ساختار دوپیوسته[2] که در آن سورفاکتانت‌ها سطوح مشترکی را تشکیل می‌دهند که به سرعت انحنای آنها تغییر می‌کند و هر دو فاز آب و روغن فاز پیوسته هستند، بعدها به اثبات رسید [١٤].

یکی از روش‌های طبقه‌بندی شناخته شده برای میکروامولسیون‌ها توسط دانشمندی به نام وینسور[3] در سال ١٩٤٨ ارائه شده است. وی چهار نوع کلی از تعادل فازی را شناسایی کرد و آنها را وینسورهای I تا IV نامگذاری کرد:

در وینسورهای نوع I معمولا مولکول‌های سورفاکتانت ترجیح می‌دهند در فاز آبی حل شوند و در نتیجه میکروامولسیون‌های روغن در آب شکل می‌گیرند. در ضمن، در این سامانه‌های دوفازی، فاز غنی از سورفاکتانت (میکروامولسیون روغن در آب) در قسمت پائین و فاز محتوی غلظت کم منومرهای سورفاکتانت (فاز روغنی) در قسمت بالا به‌صورت مجزا قابل رویت هستند (Winsor I).

ولی در وینسورهای نوع II مولکول‌های سورفاکتانت عمدتاً در فاز روغن حل می‌شوند در نتیجه میکروامولسیون‌های آب در روغن تشکیل می‌شوند. در این حالت نیز فاز غنی از سورفاکتانت (میکروامولسیون آب در روغن) در قسمت بالا و فاز محتوی غلظت کم منومرهای سورفاکتانت (فاز آبی) در قسمت پائین درکنار یکدیگر حضور دارند (Winsor II).

اما وینسور نوع III، یک سامانه‌ی سه–فازی است که فاز میانی غنی از سورفاکتانت (میکروامولسیون) با فازهای آبی (پائین) و روغنی (بالا) محتوی غلظت کم سورفاکتانت در کنار یکدیگر قرار دارند (Winsor III یا میکروامولسیون فاز میانی[4]).

در میان انواع وینسورها فقط نوع IV یک سامانه تک فاز (ایزوتروپیک) است که در حضور مقادیر کافی از اجزاء تشکیل‌دهنده‌ی میکروامولسیون (روغن، آب، سورفاکتانت، کمک‌سورفاکتانت و کمک‌حلال) به‌صورت خودبخودی تشکیل می‌شود.

با توجه به توضیحات بالا بسته به نوع سورفاکتانت و نسبت اجزاء تشکیل‌دهنده‌ی سامانه‌ی میکروامولسیونی، یکی از انواع وینسورهای I، II، III و یا IV تشکیل می‌شوند. نوع میکروامولسیون غالب بستگی به آرایش مولکولی در سطح مشترک دارد و تغییر فاز با افزایش غلظت الکترولیت (در مورد سورفاکتانت‌های یونی) یا دما (در مورد سورفاکتانت‌های غیریونی) و نسبت اجزا تشکیل دهنده رخ می‌دهد [١١].

لازم به یادآوری است که در زمینه کاربرد میکروامولسیون‌ها اغلب از وینسور تک فاز (نوع IV) استفاده می‌شود که مطالعه‌ی ساختار داخلی این میکروامولسیون‌های تک فاز و تشخیص نواحی مختلف (آب در روغن، روغن در آب و دوپیوسته) و مرز بین این نواحی اطلاعات با ارزشی را برای کاربرد این سامانه‌ها فراهم می‌کند. به عنوان مثال، در زمینه‌ی استفاده از میکروامولسیون به عنوان محیط انجام واکنش‌های شیمیایی و آنزیمی و یا حل کردن و استخراج ترکیبات آب‌دوست و آب‌گریز، میکروامولسیون‌های دارای ساختارهای داخلی متفاوت به دلیل برخوردار بودن از ویژگی‌های فیزیکو

1. Bulk solvent
2. Bicontinuous
3. Winsor classification
4. Middle-phase microemulsion

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

شیمیایی و جریانی متفاوت، رفتارهای گوناگونی نشان می‌دهند [۱۷].

در دو پژوهش نسبتاً جدید بازیافت لیکوپن از پوست گوجه‌فرنگی تحت شرایط ملایم و با استفاده از پیش‌تیمار آنزیمی و سورفاکتانت‌های غیر یونی با نسبت‌های مختلف سورفاکتانت:لیکوپن [۱۸] و استخراج عصاره‌ی محتوی لیکوپن از هندوانه با استفاده از یک محلول امولسیون‌کننده‌ی ۰/۵٪ توین ۲۰ در یک نسبت وزنی ۱:۲۰ سورفاکتانت:لیکوپن [۱۹] مورد بررسی قرار گرفته است. ولی در هیچکدام از این مطالعات به رسم نمودار شبه-سه-سازی، تعیین نواحی مختلف میکروامولسیون و ناحیه‌ای که فرایند استخراج در آن صورت گرفته است (میسل نرمال، میسل معکوس، دوپیوسته) اشاره‌ای نشده است.

لازم به ذکر است که تاکنون در چندین کار تحقیقاتی از تغییرات هدایت الکتریکی، به عنوان تابعی از تغییرات درصد وزنی آب در سامانه‌ی میکروامولسیونی، برای تشخیص ساختارهای داخلی و مرز بین این ساختارها استفاده شده است [۱۳، ۲۰، ۲۱، ۲۲، ۲۳، ۲٤]. در مطالعات دیگر در این زمینه نیز رفتار جریانی و ویسکوزیته‌ی میکروامولسیون‌های تهیه شده با استفاده از فازهای روغنی و آمفی‌فیل متفاوت با تغییر درصد وزنی اجزاء تشکیل‌دهنده‌ی سامانه، به منظور مطالعه‌ی ساختارهای داخلی میکروامولسیون و تعیین نواحی مختلف، مورد مطالعه‌ی دقیق قرار گرفته است [۱۷، ۲۵، ۲٦].

با توجه به علاقه‌ی روزافزون به استفاده از روش‌های استخراج ایمن و دوستدار محیط زیست، هدف از مطالعه‌ی حاضر استخراج لیکوپن از پسماندهای صنعتی کارخانه‌های رب گوجه‌فرنگی با استفاده از سامانه‌ی میکروامولسیونی و تعیین ناحیه‌های مختلف میسل نرمال، میسل معکوس و دوپیوسته در میکروامولسیون (تهیه شده با استفاده از پودر پسماند گوجه‌فرنگی، ساپونین/پروپیلن گلیکول و آب دوبار تقطیر) به‌منظور فراهم کردن اطلاعات پایه‌ای برای مطالعه تأثیر استخراج در هر یک از این نواحی بر راندمان جداسازی لیکوپن بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

پسماندهای تر گوجه‌فرنگی از کارخانه‌ی رب گوجه‌فرنگی یارا (شهریار، تهران، ایران) در تابستان ۹۳ تهیه شدند. ساپونین (HLB: ۱۳/۵) با درجه‌ی خلوص دارویی از شرکت پایونیر بایوتک[1] (Shannxi, China) تأمین شد. اتانول، استون، هگزان و پروپیلن گلیکول با درجه‌ی HPLC از شرکت مرک (Darmstadt, Germany) خریداری شدند. برای تهیه‌ی تمام محلول‌ها و مخلوط‌های استخراج از آب دوبار تقطیر استفاده شد.

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- آماده‌سازی نمونه

به دلیل محتوای رطوبت بالای پسماند گوجه‌فرنگی که انجام فرایند استخراج را محدود به ناحیه‌ی روغن در آب میکروامولسیون می‌کرد، پسماندها خشک و پودر شدند تا امکان انجام آزمایش‌ها در ناحیه‌ی آب در روغن میکروامولسیون نیز فراهم شود. برای این منظور، پسماندهای صنعتی گوجه‌فرنگی با محتوای رطوبت اولیه‌ی ۷۸٪ تا ۸۳٪ توسط مخلوط‌کن خانگی (Moulinex, 350 W, France) خرد و همگن شدند. سپس پسماندها در آون (Memmert UFE 500, Schwabach, Germany) با دمای ٤۰ ^{o}C به دور از نور در مدت زمان ۳٦ تا ٤۸ ساعت تا محتوای رطوبت نهایی ۷/٦٪ خشک شدند.

برای تعیین محتوای رطوبت نمونه‌ها، ۵ گرم از نمونه‌ی پسماند تر و یا پودر پسماند گوجه‌فرنگی به دقت توزین شد و در داخل محفظه‌ی رطوبت‌سنج قرار گرفت. بعد از ثابت شدن عدد رطوبت‌سنج، محتوای رطوبت یادداشت شد. رسیدن به عدد ثابت در مورد نمونه‌ی تر حدود ۹۰ دقیقه و در مورد نمونه‌ی خشک حدود ۳۵ دقیقه زمان لازم داشت. نمونه‌های خشک شده توسط آسیاب خانگی (Hamilton, FH-140, 230 W, China) پودر شدند و از الک‌هایی با مش ٤۰ و ٦۰ به ترتیب با قطر منافذ ٤۰۰ و ۲۵۰ میکرون، عبور داده شدند. سپس پودرهای دارای سایز ۲۵۰-٤۰۰ میکرون برای آزمایشات بعدی جداسازی شدند. نمای ظاهری پسماندهای صنعتی گوجه‌فرنگی تازه، خشک شده و پودر شده در شکل ۱ نشان داده شده است.

1. Pioneer Biotech Company

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

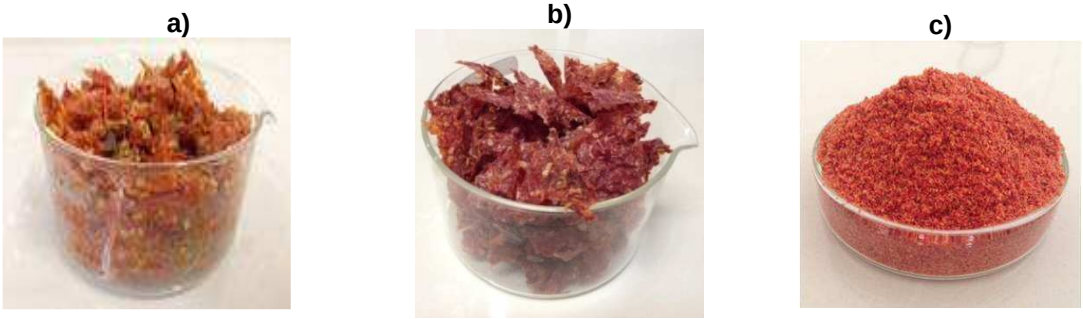

Fig 1 Visual appearance of a) wet, b) dried and c) powdered tomato industrial wastes

۲-۲-۲- استخراج لیکوپن توسط روش حلال

به‌منظور استخراج لیکوپن با حلال از روش Fish و همکاران (۲۰۰۲) با کمی اصلاحات استفاده شد. ابتدا ۰/۵ گرم پسماند گوجه‌فرنگی در یک ارلن مایر ۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد و ۲۰ میلی‌لیتر مخلوط حلال‌های هگزان:اتانول:استون در نسبت ۱:۱:۲ در دمای اتاق و تحت نور کم به آن افزوده شد. آنگاه، اطراف ارلن مایر به‌طور کامل با فویل آلومینیوم پوشانده شد و روی صفحه‌ی همزن با سرعت ۳۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. سپس، ۳ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر به ارلن مایر افزوده شد و مخلوط حاصل به مدت ۵ دقیقه‌ی دیگر روی همزن قرار گرفت. در نهایت، همزدن متوقف شد و تعلیق (سوسپانسیون) حاصل به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق بدون حرکت قرار داده شد تا فازهای قطبی و غیرقطبی به‌طور خود به خودی از یکدیگر جدا شوند.

فاز پایینی (فاز آبی محتوی پسماند گوجه‌فرنگی) مجدداً به روش بالا استخراج شد و این فرایند تا بی‌رنگ شدن کامل پسماند (۳ الی ٤ نوبت) تکرار شد. در پایان، فازهای بالایی جدا شده (فازهای آلی محتوی لیکوپن) به یک ظرف شیشه‌ای دربدار منتقل و با یکدیگر مخلوط شدند.

میزان جذب نوری فاز بالایی (فاز هگزان) در طول موج ۵۰۳ نانومتر در برابر هگزان به عنوان شاهد با استفاده از طیف‌سنج و سل کوارتز با مسیر نوری (طول نوری) ۱ cm خوانده شد. طول موج ۵۰۳ nm به این دلیل انتخاب شد که میزان تداخل سایر کاروتنوئیدها با لیکوپن در این طول موج بسیار پائین می‌باشد. محتوای لیکوپن با استفاده از معادله‌ی ۱ تعیین شد:

$$\text{محتوای لیکوپن } (\mu g/g) = A_{503}/(17.2 \times 10^4\ l\ mole^{-1}\ cm^{-1}) \times 1/b\ cm \times 536.9\ g/1\ mole \times 1\ l/10^3\ ml \times 10^6\ \mu g/1\ g \times V\ ml/kg\ tissue \times kg/10^3\ g$$

در اینجا، A_{503} میزان جذب فاز غیرقطبی در طول موج nm ۵۰۳، b طول مسیر نوری (cm)، ۵۳٦/۹ وزن مولکولی لیکوپن (g/mol)، V حجم فاز غیرقطبی (ml) و $۱۷/۲ \times ۱۰^{٤}$ ضریب خاموشی مولی لیکوپن در هگزان (l/mol.cm) می‌باشد [۲].

۲-۲-۳- استخراج لیکوپن توسط سامانه‌ی میکروامولسیون

با توجه به تعداد نسبتاً زیاد سورفاکتانت‌های تحت آزمون، در مطالعه‌ی قبلی اثر نوع سورفاکتانت‌های اسپن ۲۰، توین ۲۰، توین ٦۰، توین ۸۰، ساپونین، رامنولیپید، سوکروز منوپالمیتات و لسیتین (بدون استفاده از کمک‌سورفاکتانت) بر غلظت لیکوپن استخراج شده، توسط روش استخراج با حلال، بررسی شد [۲۷] و نتایج آن مطالعه نشان داد که سورفاکتانت ساپونین از کارایی استخراج نسبتاً بالاتری در مقایسه با سایر سورفاکتانت‌ها برخوردار می‌باشد [۲۸]. در نتیجه در مطالعه‌ی حاضر رسم نمودار شبه-سه-فازی و تعیین نواحی مختلف میکروامولسیون با استفاده سورفاکتانت ساپونین انجام شد.

در آزمایشات مربوط به تعیین نواحی مختلف میکروامولسیون توسط روش هدایت‌سنجی، ۹ نسبت مختلف از اجزاء تشکیل‌دهنده‌ی میکروامولسیون شامل آب دوبار تقطیر: ساپونین/پروپیلن گلیکول: پودر پسماند با درصد وزنی اولیه به ترتیب ٥٦:۲۲:۲۲، ٤٦:۳۱:۲۳، ۳۸:۳۸:۲٤، ٤۰:٤۰:۲۰، ٤۲:٤۲:۱٦، ۳۳:٥۰:۱۷، ۱۷:٦٦:۱۷، ۱٤:۷۲:۱٤ و ۲٥:٦۷:۸ انتخاب شدند. هدایت الکتریکی آب دو بار تقطیر مورد استفاده در تمامی آزمایشات در دمای ^{o}C ۲۰ حدود ۲/۱ میکروزیمنس و نسبت ساپونین:پروپین گلیکول در این بخش از آزمایشات ۲:۱ بود. بعد از مخلوط کردن اجزاء تشکیل‌دهنده‌ی میکروامولسیون توسط ورتکس شیکر در نسبت‌های ذکر شده، مخلوط‌های حاصل در داخل لوله‌های سانتریفوژ در شیکر انکوباتور با سرعت ۲٥۰ rpm در دمای ^{o}C ۲٥ به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند تا فرایند استخراج کامل شود. در نهایت مخلوط‌ها با شتاب g ۱۸۰۰۰ در دمای اتاق به مدت ۱٥ دقیقه

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

سانتریفوژ شدند. بعد از سانتریفوژ، فازهای بالایی جداسازی و توسط کاغذ صافی معمولی صاف شدند و برای تعیین نواحی مختلف میکروامولسیون توسط مطالعات هدایت الکتریکی و روش تیتراسیون با آب مورد مطالعه قرار گرفتند، به این ترتیب که در هر مرحله یک گرم آب به آنها افزوده شد و سپس درصد وزنی هر یک از اجزا در فرمولاسیون جدید محاسبه و هدایت الکتریکی سامانه تعیین گردید. لازم به ذکر است در مرحله ی اول (قبل از رقیق‌سازی) با توجه به اینکه درصد وزنی سورفاکتانت و کمک‌سورفاکتانت در سامانه بیشترین مقدار بود و فرصت کافی (حدود ۳۰ دقیقه) برای استخراج به سامانه اختصاص داده شد، فرض بر این بود که تمامی لیکوپن و روغن موجود در پسماند استخراج می‌شود. سپس ریزساختار تشکیل شده در بدو کار، با تغییر محتوای آب و ثابت بودن محتوای سایر اجزای تشکیل دهنده‌ی میکروامولسیون تغییر می‌کند.

همچنین برای تعیین نواحی مختلف میکروامولسیون با مطالعات رفتار جریانی، هفت نمونه‌ی میکروامولسیون با درصدهای وزنی پودر پسماند: ساپونین/پروپیلن گلیکول: آب دو بار تقطیر به ترتیب ۵۶:۳۳:۱۱، ۶۰:۳۰:۱۰، ۶۴:۲۷:۹، ۶۷:۲۵:۸، ۶۹:۲۳:۸، ۷۲:۲۱:۷ و ۷۳:۲۰:۷ در راستای یک خط رقیق‌سازی (در ناحیه‌ی میکروامولسیون و نزدیک به خطوط رقیق‌سازی مورد مطالعه در بخش مطالعات هدایت الکتریکی) مورد بررسی قرار گرفتند و سپس هدایت الکتریکی نمونه‌ها برای تایید نتایج مطالعات رفتار جریانی تعیین شد. در این سری از آزمایش‌ها فاز استخراج شونده در تمامی مراحل رقیق‌سازی حضور داشت.

لازم به ذکر است که در مطالعات رسم دیاگرام شبه-سه-فازی و تعیین نواحی مختلف میکروامولسیون، دلیل استفاده از نسبت سورفاکتانت:کمک‌سورفاکتانت ۲:۱ این بود که پایین‌ترین گرانروی را ایجاد می‌کرد و امکان انجام آزمایش‌ها در رأس سورفاکتانت در نمودار شبه-سه-فازی فراهم می‌شد.

۲-۲-۴- رسم نمودارهای شبه-سه-فازی

دیاگرام‌های سه-فازی و شبه-سه-فازی برای تعیین نسبت‌های اختلاط اجزای مختلف میکروامولسیون، تشخیص نواحی تک فاز و چند فاز میکروامولسیون و همچنین شناسایی نواحی مربوط به انواع مختلف میکروامولسیون (آب در روغن، روغن در آب و دوپیوسته) و مرز میان این نواحی استفاده می‌شوند [۱۰].

سه جزء اصلی تشکیل دهنده‌ی سامانه‌های میکروامولسیونی شامل فاز آبی، فاز روغنی و فاز سورفاکتانت (در بیشتر موارد مخلوط سورفاکتانت و کمک‌سورفاکتانت) در رئوس مثلث قرار می‌گیرند و جزء حجمی آنها در رئوس مربوطه ۱۰۰٪ است. با دور شدن از رئوس مثلث، جزء حجمی یا وزنی اجزاء کاهش می‌یابد و هر نقطه درون مثلث نشان‌دهنده‌ی ترکیبی خاص از سه جزء تشکیل دهنده‌ی سامانه می‌باشد اما نقاط در راستای هر محور نشان‌دهنده‌ی مخلوطی از دو جزء می‌باشند [۱۰، ۱۵].

در بررسی حاضر دیاگرام شبه-سه-فازی با استفاده از روش تیتراسیون آب[1] ترسیم شد. برای این منظور، نخست سورفاکتانت با کمک‌سورفاکتانت در یک نسبت وزنی مشخص مخلوط شد. سپس مخلوط سورفاکتانت و کمک‌سورفاکتانت با فاز محتوی لیکوپن با نسبت‌های وزنی متفاوت ترکیب شدند. آنگاه مخلوط‌های حاصل با آب تحت هم زدن ملایم تیتر شدند به این ترتیب که در هر مرحله ۱٪ وزنی/وزنی آب به آنها افزوده شد. هنگامی که ظاهر نمونه‌ها به‌صورت امولسیونی شفاف درآمد، نمونه‌ها به عنوان میکروامولسیون در نظر گرفته شدند. برای رسم دیاگرام شبه-سه-فازی از نرم افزار تری‌پلات[2] (Version 4.1.2, Todd Thompson Sofware) استفاده شد [۲۹].

۲-۲-۵- تعیین هدایت الکتریکی

هدایت الکتریکی نشان‌دهنده‌ی توانایی سیال در انتقال یک جریان الکتریکی است. تعیین هدایت الکتریکی میکروامولسیون‌ها با هدایت‌سنج دستی (CP-500L, Istek Inc., Korea) مجهز به پروب ATC با ثابت سلولی[3] $0/1\ cm^{-3}$ در دمای $25 \pm 1\ ^{o}C$ به‌منظور مطالعه‌ی طبیعت فاز پیوسته و تعیین مرزهای تبدیل حالت‌های روغن در آب، آب در روغن و دوپیوسته انجام شد [۲۲].

کالیبره کردن حسگر (سنسور) هدایت‌سنج با استفاده از محلول استاندارد با هدایت الکتریکی $1413\ \mu S.cm^{-1}$ صورت گرفت. آزمایش‌ها سه بار تکرارشدند و داده‌های گزارش شده میانگین سه تکرار می‌باشند.

1. Water titration
2. Triplot
3. Cell constant

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

۲-۲-٦- مطالعات گرانروی و رفتار جریانی

به‌منظور تعیین نواحی مربوط به انواع مختلف میکروامولسیون (آب در روغن، دوپیوسته و روغن در آب)، رفتار جریانی میکروامولسیون‌ها در راستای یک خط رقیق‌سازی در نمودار شبه-سه-فازی با استفاده از از دستگاه گرانروی‌سنج (Brookfield, DVIII Ultra model, Stoughton, MA, USA) با ژئومتری استوانه‌های هم مرکز و دوک[1] شماره‌ی ۱۸ و تغییر سرعت چرخش دوک در بازه‌ی ۲۰-۲۰۰ rpm با افزایش ۱ rpm در هر ثانیه بررسی شد [۳۰].

منظور از خط رقیق‌سازی، تهیه پیش‌مخلوط پسماند گوجه‌فرنگی (فاز استخراج شونده‌ی محتوی لیکوپن) و سورفاکتانت/ کمک‌سورفاکتانت (ساپونین/پروپیلن گلیکول) در نسبت‌های متفاوت و افزودن آب به شکل مرحله‌ای به این مخلوط می‌باشد. در واقع با این عمل، درصد آب سامانه به‌صورت مرحله‌ای افزایش و درصد اجزای دیگر کاهش می‌یابد.

آنالیز داده‌های تنش برشی در برابر سرعت برشی (در بازه‌ی s^{-1} ۲۵ تا s^{-1} ۲۵۰) با استفاده از نرم‌افزار Rheocalc نسخه‌ی ۳/۲ (Brookfield Engineering Laboratories, Stoughton, MA, USA) انجام گرفت. برازش داده‌های تجربی حاصل از حالت بالارونده‌ی تنش برشی و سرعت برشی با مدل‌های نیوتنی، بینگهام، توان و هرشل-بالکلی با استفاده از نرم‌افزار متلب (Version 7.11.0.584, R2010b, Natick, MA, USA) و با مقایسه‌ی شاخص‌های ضریب تبیین (R^2)، ریشه‌ی دوم میانگین مربعات خطا (RSME) و مربع کای (χ^2) بررسی شد و بهترین مدل برای پیش‌بینی رفتار جریانی تعیین گردید [۳۱].

گرانروی ظاهری میکروامولسیون اطلاعاتی در مورد نواحی مختلف میکروامولسیون، تعامل بین قطرات، تغییر از شکل کروی و حضور میسل‌های معکوس را فراهم می‌کند [۲۲]. تغییرات گرانروی نمونه‌های میکروامولسیون در نقاط مختلف خط رقیق‌سازی در سرعت برشی ثابت s^{-1} ۵۲ و در دمای ^oC ۰/۵ ± ۲۵ بررسی شد.

1. Spindle

۲-۲-۷- تجزیه و تحلیل‌های آماری

تمامی آزمایش‌ها در سه تکرار انجام گرفتند و نتایج ارائه شده میانگین سه آزمایش مستقل هستند. طراحی آزمایش‌ها طرح فاکتوریل در یک طرح کاملاً تصادفی (CRD)[2] بود.

تمامی داده‌ها از نظر نرمال بودن بررسی شدند سپس با روش تجزیه واریانس (ANOVA) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن با استفاده از بسته‌ی آماری نرم‌افزار SAS نسخه‌ی ۹/۲ (SAS Institute, Cary, NC, USA) تجزیه شدند تا معنی‌دار بودن یا نبودن اختلاف بین تیمارها در سطح معنی‌داری ۱٪ تعیین شود.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- رسم دیاگرام شبه-سه-فازی

با استفاده از شمای گرافیکی دیاگرام شبه-سه-فازی می‌توان نسبت‌های اختلاط اجزای مختلف میکروامولسیون، نواحی تک فاز و چند فاز میکروامولسیون و همچنین نوع میکروامولسیون (آب در روغن، روغن در آب و دوپیوسته) را تعیین کرد.

به‌منظور تعیین ناحیه‌ی تک فاز میکروامولسیون، دیاگرام شبه-سه-فازی بر پایه‌ی مقادیر فازهای موجود بر حسب درصد وزنی (wt%) و مشاهدات ماکروسکوپی رسم شد. انتخاب مقادیر سه جزء اصلی آب، پودر پسماند و مخلوط ساپونین/پروپیلن گلیکول برای تشکیل میکروامولسیون کاملاً بر اساس آزمون و خطا بود. شکل ۲ ناحیه‌ی تک فاز میکروامولسیون، ناحیه‌ی مشخص شده با رنگ خاکستری، را بر اساس مشاهدات ماکروسکوپی و همچنین نمای ظاهری نمونه‌های تهیه شده در این ناحیه نشان می‌دهد.

همان‌طور که مشاهده می‌شود، طبیعت جامد فاز محتوی لیکوپن (پودر پسماند) امکان انجام فرایند استخراج در رأس پودر پسماند در مثلث شبه-سه-فازی را نداد و انجام آزمون‌ها را به سمت قاعده‌ی مثلث، که در آن ناحیه از طبیعت جامد بودن فاز محتوی لیکوپن کاسته می‌شد، محدود کرد.

۳-۲ تعیین نواحی مختلف میکروامولسیون توسط روش هدایت‌سنجی

اصولا در ناحیه‌ی میکروامولسیون تک فاز دست کم سه نوع نانوساختار وجود دارند که عبارتند از روغن در آب (O/W)[3]،

2. Completely Randomized Design
3. Oil in water

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

آب در روغن (W/O)[1] و مخلوطی از این دو ساختار که به آن ساختار دوپیوسته (BC)[2] می‌گویند. اگرچه تفاوت آشکاری از لحاظ ظاهری بین این نواحی وجود ندارد، ولی این ساختارها و مرز بین آنها را می‌توان با اندازه‌گیری هدایت الکتریکی تعیین کرد [۲۰].

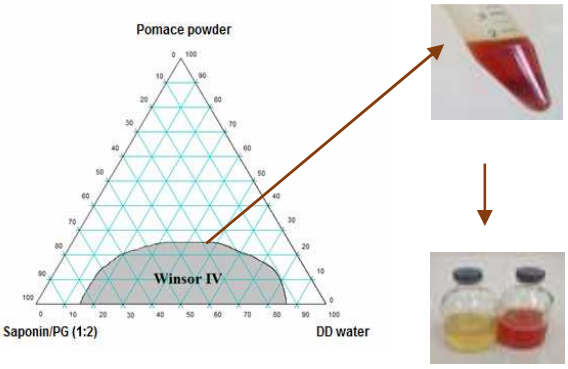

Fig 2 Pseudo-ternary phase diagram representing monophasic microemulsion area (grey area) and visual appearance of samples prepared in this region using tomato waste powder, saponin/propylene glycol and double distilled water.

شمای گرافیکی دیاگرام شبه-سه-فازی برای تعیین انواع میکروامولسیون و مرز بین ریزساختارهای مختلف نیز بکار گرفته شد. برای این منظور، ۹ نسبت مختلف از اجزاء تشکیل‌دهنده‌ی میکروامولسیون شامل آب دوبار تقطیر: ساپونین/پروپیلن گلیکول: پودر پسماند با درصد وزنی به ترتیب ۵۶:۲۲:۲۲، ۴۶:۳۱:۲۳، ۳۸:۳۸:۲۴، ۴۰:۴۰:۲۰، ۴۲:۴۲:۱۶، ۳۳:۵۰:۱۷، ۱۷:۶۶:۱۷، ۲۵:۶۷:۸ و ۱۴:۷۲:۱۴ انتخاب شدند که این نقاط در شکل ۳ به ترتیب روی خطوط AB، AC، AD، AE، AF، AG، AH، AI و AJ قرار دارند. دلیل انتخاب این مقادیر قرار داشتن آنها در ناحیه‌ی تک‌فاز میکروامولسیون و فاصله‌ی نسبتاً یکسان خطوط از یکدیگر به منظور بررسی تکرارپذیری روش بود.

در مرحله ی اول (قبل از رقیق‌سازی) با توجه به اینکه درصد وزنی سورفاکتانت و کمک‌سورفاکتانت در سامانه بیشترین مقدار است و فرصت کافی (حدود ۳۰ دقیقه) برای استخراج به سامانه اختصاص داده می‌شود، لذا احتمالا تمامی لیکوپن و شاید مواد روغنی موجود در پسماند استخراج می‌شوند؛ ولی با تغییر محتوای آب و ثابت بودن محتوای سایر اجزای تشکیل دهنده‌ی میکروامولسیون، ریزساختار نیز تغییر می‌کند.

برای تعیین نوع نانوساختارها و مرز بین آنها در ناحیه‌ی تک فاز میکروامولسیون، تغییرات هدایت الکتریکی (k) در پاسخ به تغییر در جزء وزنی فاز آبی برای ۹ خط رقیق‌سازی بررسی شد (شکل ٤). وقتی میکروامولسیون‌ها با استفاده از پودر پسماند، ساپونین:پروپیلن گلیکول (۲:۱ وزنی/وزنی) و آب دو بار تقطیر در نسبت‌های به ترتیب ۵۶:۲۲:۲۲، ۴۶:۳۱:۲۳، ۳۸:۳۸:۲۴، ۴۰:۴۰:۲۰، ۴۲:۴۲:۱۶، ۳۳:۵۰:۱۷، ۱۷:۶۶:۱۷، ۱۴:۷۲:۱۴ و ۲۵:۶۷:۸ تهیه شدند و آنگاه با افزودن بخش‌های کوچکی از آب دو بار تقطیر (۱ گرم در هر مرحله) رقیق شدند، هدایت الکتریکی به‌طور مشخص در پاسخ به تغییرات درصد وزنی فاز آبی سامانه تغییر کرد (شکل ٤).

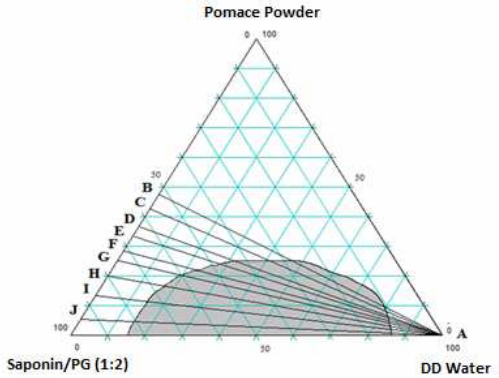

Fig 3 Pseudo-ternary phase diagram representing monophasic microemulsion area (grey area) prepared using various mixing ratio of tomato waste powder, saponin/propylene glycol and double distilled water and nine dilution lines of AB, AC, AD, AE, AF, AG, AH, AI and AJ.

همان‌طور که در شکل ٤ مشاهده می‌شود، در ابتدا با افزایش درصد وزنی آب در سامانه‌ی میکروامولسیون، هدایت الکتریکی یک روند صعودی و روبه بالا داشت. سپس در یک بازه‌ی مشخص با تغییرات درصد وزنی آب، تغییرات هدایت الکتریکی نسبتاً ثابت ماند (ناحیه‌ی نسبتاً مسطح نمودار) و بعد از آن به‌شدت کاهش پیدا کرد. رفتار مشاهده شده می‌تواند به تغییر نانوساختار آب در روغن به دوپیوسته و سپس روغن در آب به عنوان تابعی از تغییر محتوای آب در سامانه‌ی میکروامولسیون مربوط باشد.

در ناحیه‌ی آب در روغنِ میکروامولسیون، با افزودن آب بیشتر به سامانه، قطرات آب به دام افتاده در فاز پیوسته‌ی روغن به‌تدریج بزرگ‌تر شده و با ادامه‌ی رقیق‌سازی تغییر شکل

1. Water in oil
2. Bicontinuous structure

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

می‌دهند. ولی در محدوده‌ی حاوی آب و روغن تقریباً یکسان، به دلیل انعطاف‌پذیری ساختاری فیلم‌های تک‌لایه‌ی سورفاکتانت[1] در سطح مشترک فازهای آب و روغن، ساختار دوپیوسته شکل می‌گیرد. ولی مجددا با ادامه‌ی روند رقیق‌سازیِ میکروامولسیون با آب (تیتراسیون با آب)، فاز پیوسته تغییر کرده و فاز آبی، فاز پیوسته‌ی میکروامولسیون را تشکیل می‌دهد [٣٢].

در مورد سامانه‌های محتوی سورفاکتانت نمی‌توان تنها بر اساس درصد حجمی یا وزنی فاز آبی، هدایت الکتریکی سامانه را پیش‌بینی کرد. در ابتدای امر که درصد آب سامانه پایین است تعامل بین میسل‌های معکوس (در ناحیه‌ی آب در روغن) نسبت به تعامل بین میسل‌های نرمال (در ناحیه‌ی روغن در آب) بیشتر است. به همین دلیل شاید بیشتر بودن هدایت الکتریکی در ناحیه‌ی آب در روغن نسبت به ناحیه‌ی روغن در آب را بتوان به تعامل بیشتر بین میسل‌های معکوس در مقایسه با تعامل بین میسل‌های نرمال نسبت داد؛ لازم به ذکر است که گرانروی سامانه‌های آب در روغن نسبت به سامانه‌های روغن در آب نیز بیشتر است. بنابراین به نظر می رسد که به دلیل رقیق‌شدن سامانه، افزایش فاصله‌ی میسل‌ها و کاهش تنش و تعامل بین آنها هدایت الکتریکی تا حدود زیادی کاهش می‌یابد [٣٣]. با در نظر گرفتن هدایت الکتریکی آب دوبار تقطیر مورد استفاده (حدود ٢/١ میکروزیمس در دمای ^{o}C ٢٠)، تغییرات هدایت الکتریکی با تغییر در درصد وزنی آب سامانه را نمی‌توان تنها به خاصیت رقیق‌کنندگی آب مورد استفاده ارتباط داد، زیرا همان‌گونه که مشاهده می‌شود (شکل ٤) هدایت الکتریکی در راستای برخی خطوط رقیق سازی تا حدود ٥/٦ میکروزیمنس در ناحیه دوپیوسته افزایش یافته است.

همان‌طور که در شکل ٤ مشاهده می‌شود تغییر ساختار میکروامولسیون از آب در روغن به دوپیوسته در درصد وزنی فاز آبی حدود ٥٠ تا ٦٠٪، بسته به خط رقیق‌سازی و محل قرار گرفتن نقاط در ناحیه‌ی میکروامولسیون، رخ می‌دهد. ناحیه‌ی دوپیوسته‌ی میکروامولسیون (بخش نسبتاً مسطح نمودار) در مطالعه‌ی حاضر نسبتاً گسترده بود. در این ناحیه شبکه‌های آب و روغن در هم پیچیده می‌شوند و جهت انحنای فیلم سورفاکتانت در سطح مشترک به سرعت تغییر می‌کند. در نتیجه هر دو فاز آب و روغن نقش فاز پیوسته را ایفا می‌کنند و هدایت الکتریکی تا میزان قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد [٢١، ٢٢].

تبدیل کامل ساختار دوپیوسته به ساختار روغن در آب که در آن فاز آبی فاز پیوسته‌ی سامانه را تشکیل می‌دهد، در درصد وزنی فاز آبی حدود ٦٥-٧٥٪، بسته به محل قرار گرفتن نقاط در ناحیه‌ی میکروامولسیون، شروع می‌شود.

نتایج مطالعه‌ی حاضر با نتایج به‌دست آمده از مطالعات مشابه در این زمینه به‌خوبی همسو بود که در آنها بعد از تشکیل میکروامولسیون و تیتراسیون سامانه‌ها با آب در راستای خطوط رقیق‌سازی مشخص در ناحیه‌ی میکروامولسیون، هدایت الکتریکی با افزایش درصد وزنی فاز آبی در سامانه به‌طور مشخص افزایش یافت. در یک درصد وزنی مشخص از فاز آبی، نمودار به یک ناحیه‌ی مسطح رسید. سپس با افزایش بیشتر آب در سامانه، هدایت الکتریکی کاهش یافت. رفتار مشاهده شده در این مطالعات به تغییر فاز سامانه از آب در روغن به دوپیوسته و سپس روغن در آب نسبت داده شد [٢١، ٢٢، ٢٣، ٢٤].

محققین دیگر در این زمینه گزارش کرده‌اند که تغییرات هدایت الکتریکی همراه با افزایش درصد وزنی آب و تغییر فاز در سامانه‌های میکروامولسیونی، به دلیل تعامل داخلی قطرات در این سامانه‌هاست که منجر به تغییر حامل بار از یک قطره به قطره‌ی دیگر می‌شود [٢٥].

در مطالعه‌ی دیگر به منظور افزایش سرعت آزادسازی ایبوبروبن از سامانه‌های محتوی سورفاکتانت با نسبت‌های مختلف دی اتیلن گلیکول منواتیل اتر و روغن کرچک استفاده شد. بر اساس نتایج، سامانه‌های محتوی سورفاکتانت، بعد از رقیق‌سازی با آب محلول‌های میسلی تشکیل دادند و هدایت الکتریکی سامانه‌های میکروامولسیونی تابعی از تعامل بین میسل‌ها در سامانه بود [٣٣].

آتش افروز و همکاران (٢٠١٤) در مطالعات دیاگرام فازی میکروامولسیون تهیه شده با استفاده از روغن کدو (کدو حلوایی)، توین ٨٠ و آب دیونیزه، به‌منظور طراحی یک سامانه‌ی تحویل دارو، به نتایج مشابهی رسیدند و افزایش هدایت الکتریکی، ثابت ماندن هدایت الکتریکی و سپس کاهش شدید هدایت الکتریکی را به عنوان تابعی از تغییرات محتوای آب سامانه گزارش کردند [٣٤].

محققین دیگر در مطالعه‌ای روی تشکیل و ظرفیت حل کردن سامانه‌ی روغن/منوآسیل گلیسرول (MAG): الکل‌های چرب اتوکسیله (CEO_{20})/پروپیلن گلیکول: آب مشاهده کردند که با افزودن آب، هدایت الکتریکی سامانه به تدریج افزایش پیدا

1. Surfactant monolayer films

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

کرد ولی بعد از رسیدن به یک مقدار بیشینه، با افزودن آب بیشتر به سامانه، هدایت الکتریکی کاهش یافت [۳۵].

در نهایت، دیاگرام شبه–سه–فازی برپایه‌ی درصد وزنی (wt%) مقادیر فازهای موجود و نتایج حاصل از بررسی هدایت الکتریکی نمونه‌ها رسم شد و نواحی میسل نرمال (W/O)، میسل معکوس (W/O) و دوپیوسته مشخص شدند (شکل ۵).

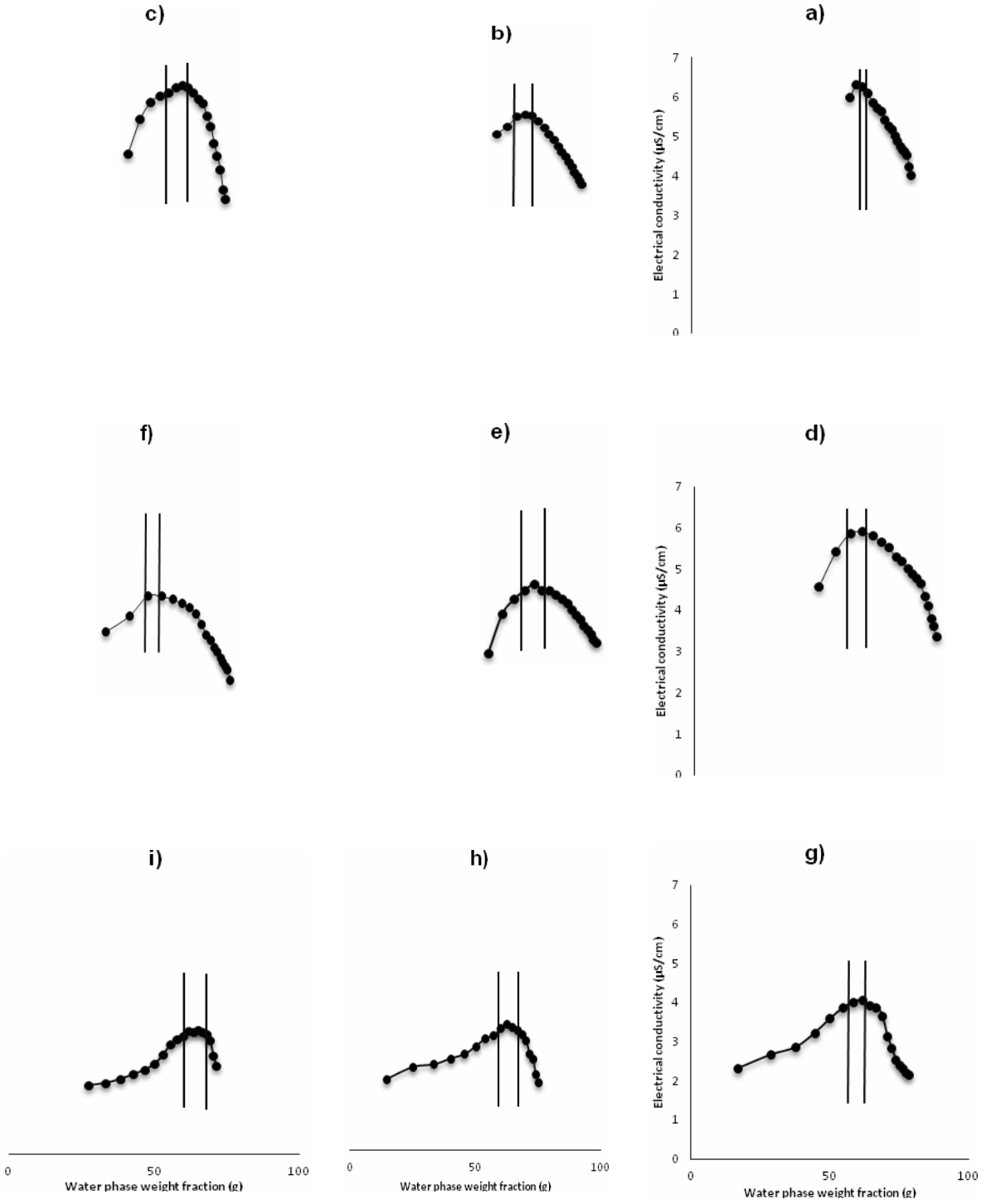

Fig 4 Electrical conductivity (k) changes in the monophasic microemulsion area in response to the change in aqueous phase ratio and phase transition along dilution lines of a) AB, b) AC, c) AD, d), AE, e) AF, f) AG, g) AH, h) AI and i) AJ; the two vertical lines in each graph indicate the boundaries between water in oil, bi-continuous and oil in water microstructures in the microemulsion region (left to right).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

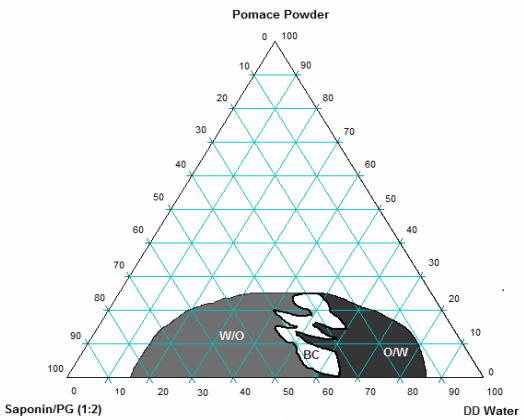

Fig 5 Pseudo-ternary phase diagram representing normal micelles (O/W), reverse micelles (W/O) and bicontinuous (BC) regions in microemulsion area prepared using various mixing ratio of tomato waste powder, saponin/propylene glycol and double distilled water.

۳-۳ تعیین نواحی مختلف میکروامولسیون با مطالعه‌ی رفتار جریانی

به‌منظور تعیین رفتار جریانی میکروامولسیون در نواحی مختلف روغن در آب، آب در روغن و دوپیوسته و تشخیص مرزهای تغییر فاز و همچنین دستیابی به مدل ریاضی مطلوب و قابل استفاده برای پیش‌بینی رفتار جریانی میکروامولسیون تهیه شده با استفاده از پودر پسماند، ساپونین:پروپیلن گلیکول و آب دو بار تقطیر، رفتار جریانی میکروامولسیون‌ها در راستای یک خط رقیق‌سازی بررسی شد.

درصد وزنی اولیه‌ی سه جزء پودر پسماند: ساپونین/پروپیلن گلیکول: آب دو بار تقطیر در راستای خط رقیق‌سازی مورد مطالعه، ۱۱:۳۳:۵۶ و نسبت ساپونین:پروپیلن گلیکول ۲:۱ بود. این خط در ناحیه‌ی میکروامولسیون و نزدیک به خطوط رقیق‌سازی مورد مطالعه در بخش مطالعات هدایت الکتریکی قرار داشت. هفت نمونه‌ی میکروامولسیون در راستای خط رقیق‌سازی ذکر شده تهیه شد و رفتار جریانی در این ۷ نقطه با درصدهای وزنی پودر پسماند: ساپونین/پروپیلن گلیکول: آب دو بار تقطیر به ترتیب ۱۱:۳۳:۵۶، ۱۰:۳۰:۶۰، ۹:۲۷:۶۴، ۸:۲۵:۶۷، ۸:۲۳:۶۹، ۷:۲۱:۷۲ و ۷:۲۰:۷۳ مورد مطالعه قرار گرفت.

مدل‌های ریاضی مورد استفاده برای تعیین رفتار جریانی نمونه‌های میکروامولسیون شامل مدل‌های نیوتنی $\sigma=\eta\gamma$ ، بینگهام یا پلاستیک $\sigma=\eta\gamma+\sigma_0$ ، توان یا پاورلا $\sigma=\eta\gamma^n+\sigma_0$ و هرشل-بالکلی $\sigma=K\gamma^n+\sigma_0$ بود که در آنها σ تنش برشی (Pa)، η ویسکوزیته‌ی ظاهری (Pa.s)، γ سرعت برشی (s^{-1})، σ_0 تنش تسلیم (Pa)، K ضریب قوام ($Pa.s^n$) و n شاخص رفتار جریان را نشان می‌دهد.

داده‌های تنش برشی و سرعت برشی (حالت بالارونده) به‌دست آمده از آزمون‌های رئولوژیک تجزیه شدند و ضریب تبیین (R^2)، ریشه‌ی دوم میانگین مربعات خطا[1] (RSME) و مربع کای (χ^2) برای هر یک از مدل‌ها محاسبه شد. شاخص‌های مدل‌های نیوتنی، بینگهام، توان و هرشل-بالکی برای نسبت‌های مختلف سه جزء میکروامولسیون در راستای خط رقیق‌سازی در جدول ۱ ارائه شده است. اصولاً ضریب تبیین بیشتر و RMSE و χ^2 کمتر نشان‌دهنده‌ی برازش بیشتر مدل با داده‌های تجربی است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، مدل هرشل-بالکلی در تمامی نقاط بیشترین ضریب تبیین و کمترین RSME و χ^2 را دارا بود. در نتیجه، داده‌های حاصل از حالت بالا رونده‌ی تنش برشی و سرعت برشی در تمامی نقاط در راستای خط رقیق‌سازی مورد بررسی، بهترین برازش را با مدل هرشل-بالکلی داشتند و این مدل می‌تواند برای پیشگویی رفتار جریانی نمونه‌های میکروامولسیون لیکوپن در این مطالعه مناسب باشد.

متغیرهای مدل هرشل-بالکلی شامل گرانروی ظاهری (در سرعت برشی $52\ s^{-1}$)، ضریب قوام، شاخص جریان و تنش تسلیم در جدول ۲ ارائه شده‌اند. همان‌طور که ملاحظه می‌شود با افزایش درصد وزنی فاز آبی در سامانه‌ی میکروامولسیون و تغییر نوع میکروامولسیون از آب در روغن به دوپیوسته، ضریب قوام افزایش و شاخص جریان کاهش یافت که بیانگر افزایش رفتار غیرنیوتنی در ناحیه‌ی دوپیوسته می‌باشد. با افزایش بیشتر درصد وزنی آب در سامانه و تغییر نوع میکروامولسیون از دوپیوسته به روغن در آب، ضریب قوام کاهش و شاخص جریان افزایش یافت که نشان‌دهنده‌ی کاهش رفتار غیرنیوتنی است.

همچنین با افزایش درصد وزنی فاز آبی در سامانه، گرانروی ظاهری در سرعت برشی $52\ s^{-1}$ افزایش، سپس کاهش یافت (جدول ۲). افزایش ضریب قوام و گرانروی با افزایش درصد وزنی فاز آبی در ناحیه‌ی دوپیوسته می‌تواند نتیجه‌ی افزایش تعامل بین فازهای آب و روغن میکروامولسیون باشد [۲۶].

1. Root Mean Standard Error

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

Table 1 Effect of different mixing ratios of microemulsion main components along a dilution line on the fittingness of the rheological data, obtained from stepwise changes of the shear rate from 25 to 250 s^{-1}, with rheological models.

Tomato waste powder: saponin/propylene glycol: Water	Index	Rheological Models			
		Newtonian	Herschel–Bulkley	Power law	Bingham Plastic
11:33:56	R^2	0.9439	0.9974	0.9970	0.9969
	RMSE	0.7573	0.1288	0.1355	0.1377
	χ^2	0.0194	0.0035	0.0036	0.0036
10:30:60	R^2	0.9139	0.9962	0.9895	0.9942
	RMSE	0.5864	0.1261	0.2076	0.1538
	χ^2	0.0150	0.0034	0.0055	0.0040
9:27:64	R^2	0.8392	0.9968	0.9859	0.9937
	RMSE	0.7565	0.1089	0.2269	0.1520
	χ^2	0.0215	0.0269	0.0259	0.0262
8:25:67	R^2	0.6634	0.9978	0.9920	0.9976
	RMSE	1.2670	0.1049	0.1980	0.1078
	χ^2	0.0325	0.0028	0.0052	0.0028
8:23:69	R^2	0.4877	0.9983	0.9892	0.9977
	RMSE	1.8220	0.1070	0.2682	0.1246
	χ^2	0.0467	0.0029	0.0071	0.0033
7:22:71	R^2	0.9010	0.9964	0.9941	0.9961
	RMSE	1.2950	0.1299	0.1643	0.1329
	χ^2	0.0332	0.0035	0.0043	0.0035
7:20:73	R^2	0.8976	0.9926	0.9757	0.9874
	RMSE	0.8827	0.1415	0.2537	0.1824
	χ^2	0.0226	0.0038	0.0067	0.0048

اندازه‌گیری هدایت الکتریکی در راستای همین خط رقیق‌سازی رفتار کاملا مشابهی (افزایش، ثابت و سپس کاهش) را با ۹ خط رقیق‌سازی مورد بررسی در مطالعات هدایت الکتریکی نشان داد به صورتیکه هدایت الکتریکی در این ۷ نقطه با درصدهای وزنی پودر پسماند: ساپونین/پروپیلن گلیکول: آب دو بار تقطیر ۵٦:۳۳:۱۱، ٦۰:۳۰:۱۰، ٦٤:۲۷:۹، ٦۷:۲۵:۸، ٦۹:۲۳:۸، ۷۲:۲۱:۷ و ۷۳:۲۰:۷ به ترتیب معادل ۸٦/۲، ٤۷/۳، ۱٦/٤، ۱۰/٤، ۰۳/٤، ۹٦/۳ و ۱۹/۳ میکروزیمنس بود.

نتایج حاصل از آزمون‌های رفتار جریانی نمونه‌های میکروامولسیون در راستای خط رقیق‌سازی نشان داد که متغیرهای مدل هرشل-بالکلی شامل گرانروی ظاهری، ضریب قوام و شاخص جریان می‌توانند شاخص‌های خوبی برای شناسایی نواحی مختلف میکروامولسیون و تایید نتایج هدایت‌سنجی باشند.

در مطالعه‌ای روی رفتار جریانی و تغییرات گرانروی سامانه‌های میکروامولسیونی گزارش شده است که گرانروی این سامانه‌ها با تغییر درصد وزنی اجزای تشکیل‌دهنده‌ی آنها تغییر می‌کند. مثلا برای سامانه‌ی کلریدسدیم-آب/ SDS-پروپانول/ سیکلوهگزان، گرانروی با افزایش درصد وزنی آب

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

در سامانه افزایش یافت. رفتار مشاهده شده به افزایش قطر قطرات پراکنده‌ی آب با افزایش درصد وزنی فاز آبی در سامانه و تشکیل ساختار دوپیوسته در حضور مقادیر کافی آمفی فیل نسبت داده شد.

Table 2 Values of rheological parameters of the Herschel-Bulkley model at constant shear rate of 52 s^{-1} and temperature of 25 ± 0.5 °C for microemulsions prepared using different mixing ratios of main components along a dilution line.

Tomato waste powder: saponin/propylene glycol: Water	Apparent viscosity (mPa.s)	Consistency index (mPa.s)	Flow behaviour index	Yield stress (mPa)
11:33:56	7.950	0.003	0.862	1.298
10:30:60	9.020	0.006	0.699	3.082
9:27:64	10.530	0.017	0.672	3.782
8:25:67	12.270	0.022	0.439	4.536
8:23:69	13.110	0.018	0.470	6.846
7:22:71	15.530	0.014	0.893	3.426
7:20:73	8.260	0.002	0.894	4.221

این محققین گزارش کردند که بیشینه‌ی مشاهده شده در منحنی تغییرات گرانروی در برابر تغییر درصد وزنی آب، نشان‌دهنده‌ی تغییر ساختار از نوع آب در روغن به روغن در آب بود و در هر دو نقطه‌ی تبدیل ساختار روغن در آب به دوپیوسته و دوپیوسته به آب در روغن و یا بالعکس ویسکوزیته ناگهان افزایش یافت [٢٥].

در همین راستا Paul و Moulik (٢٠٠٠) گزارش کردند که ویسکوزیته‌ی سامانه‌ی میکروامولسیون آب/ SDS-پنتانول/ سیکلوهگزان در حضور کلرید سدیم با افزودن آب افزایش یافت. رفتار مشاهده شده به افزایش قطر ساختارهای لوله‌ای شکل پر شده با آب در ناحیه‌ی دوپیوسته نسبت داده شد. این محققین نقطه‌ی بیشینه[1] در نمودار تغییرات ویسکوزیته در برابر تغییرات درصد وزنی آب در سامانه را به عنوان نقطه‌ی تغییر ساختار داخلی آب در روغن به روغن در آب پیشنهاد کردند [١٧].

٤- نتیجه‌گیری

در مطالعه‌ی حاضر از روش میکروامولسیون و سورفاکتانت طبیعی ساپونین به عنوان یک روش ساده، سریع و دوستدار محیط زیست برای استخراج لیکوپن از پسماندهای صنعتی گوجه‌فرنگی استفاده شد. در مجموع نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که اندازه‌گیری هدایت الکتریکی در راستای خطوط رقیق‌سازی می‌تواند به عنوان یک روش ساده و سریع برای تعیین نانوساختارهای گوناگون و مرز میان این ساختارها در ناحیه‌ی میکروامولسیون مورد استفاده قرار گیرد. همچنین مطالعه‌ی رفتار جریانی نمونه‌های میکروامولسیون در راستای خطوط رقیق‌سازی، نتایج حاصل از هدایت‌سنجی را تایید کردند. بهترین مدل برای پیش‌بینی رفتار جریانی میکروامولسیون لیکوپن تهیه شده در مطالعه‌ی حاضر، مدل هرشل-بالکلی بود و متغیرهای این مدل (گرانروی ظاهری، ضریب قوام و شاخص جریان) می‌توانند شاخص‌های خوبی برای شناسایی نواحی مختلف میکروامولسیون باشند.

1. Peak point

٥- منابع

[1] Ordóñez-Santos, L.E., and Vázquez-Riascos, A., 2010. Effect of Processing and Storage Time on the Vitamin C and Lycopene Contents of Nectar of Pink Guava (*Psidium guajava* L.). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, Vol. 60, No. 3, pp. 280–284.

[2] Arab, L., and Steck, S., 2000. Lycopene and Cardiovascular Disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 71, No. 6, pp. 1691–1695.

[3] Rao, A.V., and Agarwal, S., 2000. Role of Antioxidant Lycopene in Cancer and Heart Disease. *Journal of the American College of Nutrition*, Vol. 19, No. 5, pp. 563–569.

[4] Luengo, E., Álvarez, I., and Raso, J., 2014. Improving Carotenoid Extraction from Tomato Waste by Pulsed Electric Fields. *Frontiers in Nutrition*, Vol. 1, No. 12, doi: 10.3389/fnut.2014.00012.

[5] Nobre, B.P., Palavra, A.F., Pessoa, F.L.P., and Mendes, R.L., 2009. Supercritical CO_2 Extraction of Trans-Lycopene from

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

[14] Eastoe, J.G., 2005. Microemulsions. *Surfactant Chemistry*. Wuhan: Wuhan University Press, pp. 59–95.

[15] Bera, A., and Mandal, A., 2015. Microemulsions: A Novel Approach to Enhanced Oil Recovery: A Review. *Journal of Petroleum Exploration and Production Technology*, Vol. 5, No. 3, pp. 255–268.

[16] Berry, N., 2011. Development and Stability of Microemulsions as Carriers for Nutraceuticals. Master of Science Thesis. Ryerson University, Toronto, Ontario, Canada, p. 18.

[17] Paul, B., and Moulik, S.P., 2000. The Viscosity Behaviours of Microemulsions: An Overview. *Proceeding of Indian National Science Academy Part A*, Vol. 66, No. 5, pp. 499–519.

[18] Papaioannou, E.H., and Karabelas, A.J., 2012. Lycopene Recovery from Tomato Peel under Mild Conditions Assisted by Enzymatic Pre-Treatment and Non-Ionic Surfactants. *Acta Biochimica Polonica*, Vol. 59, No. 1, pp. 71–74.

[19] Jin, K.C., Ho, K.I., Jin, C.Y., Tai, K.C., Hwan, K.I., Jung, O.H., and Soo, K.S., 2008. Development of Lycopene Recovery and Solubilization by Microemulsion System. *Korea Food Research Institute*. Republic of Korea. Patent No. KR100845317B.

[20] Creţu, R., Dima, C., Bahrim, G., and Dima, Ş., 2011. Improved Solubilization of Curcumin with a Microemulsification Formulation. *The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati Fascicle VI – Food Technology*, Vol. 35, No. 2, pp. 46–55.

[21] Zhong, F., Yu, M., Luo, C., Shoemaker, C.F., Li, Y., Xia, S., and Ma, J., 2009. Formation and Characterisation of Mint Oil/S and CS/Water Microemulsions. *Food Chemistry*, Vol. 115, No. 2, pp. 539–544.

[22] Fang, J., and Raymond, L.V., 1978. Conductivity Study of the Microemulsion System Sodium Dodecyl Sulfate-Hexy-Lamine-Hepane-Water. *Journal of Colloid and Interface Science*, Vol. 116, No. 1, pp. 269–277.

[23] Amiri, S., Abbasi, S., Ezzatpanah, H., and Hosseini, E., 2013. Nanocapsulation of Orange Peel Oil Using Microemulsion Technique. *Agro FOOD Industry Hi Tech*, Vol. 24, pp. 44–47.

[24] Radi, M., Abbasi, S., Hamidi, Z., and Azizi, M.H., 2013. Development of a New Method for Extraction of Canola Oil Using Portuguese Tomato Industrial Waste. *Food Chemistry*, Vol. 116, No. 3, pp. 680–685.

[6] Brandt, S., Pék, Z., Barna, É., Lugasi, A., and Helyes, L., 2006. Lycopene Content and Colour of Ripening Tomatoes as Affected by Environmental Conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol. 86, No. 4, pp. 568–572.

[7] Kohansal, M.R., and Zamaninejad, S.A., 2013. The Survey of Tomato Demand in Iran. *Agriculture Science Developments*, Vol. 2, No. 12, pp. 126–127.

[8] Naviglio, D., Pizzolongo, F., Ferrara, L., Naviglio, B., Aragòn, A., and Santini, A., 2008. Extraction of Pure Lycopene from Industrial Tomato By‐Products in Water Using a New High‐Pressure Process. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol. 88, No. 14, pp. 2414–2420.

[9] Pegklidou, K., Mantzouridou, F., and Tsimidou, M.Z., 2008. Lycopene Production Using *Blakeslea Trispora* in the Presence of 2-Methyl Imidazole: Yield, Selectivity, and Safety Aspects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 56, No. 12, pp. 4482–4490.

[10] Wang, G.S., Grammel, H., Abou-Aisha, K., Sägesser, R., and Ghosh, R., 2012. High-Level Production of the Industrial Product Lycopene by the Photosynthetic Bacterium *Rhodospirillum Rubrum*. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 78, No. 20, pp. 7205–7215.

[11] Abbasi, S., and Scanlon, M.G., 2016. Nano-Structural Characterisation of Food-Grade Microemulsions: Ultrasonic Resonator Technology. In Grumezescu, A.M. ed. *Nanotechnology in Food Industry* (20 volumes) Vol 3: Emulsions, Chapter 13. Amsterdam: Elsevier.

[12] Shu, Y., Cheng, D., Chen, X., and Wang, J., 2008. A Reverse Microemulsion of Water/AOT/1-Butyl-3-Methylimidazolium Hexafluorophosphate for Selective Extraction of Hemoglobin. *Separation and Purification Technology*, Vol. 64, No. 2, pp. 154–159.

[13] Spernath, A., Yaghmur, A., Aserin, A., Hoffman, R.E., and Garti, N., 2002. Food-Grade Microemulsions Based on Nonionic Emulsifiers: Media to Enhance Lycopene Solubilization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 50, No. 23, pp. 6917–6922.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

Lecithin Based Microemulsion Systems. *Agro Food Industry Hi Tech*, Vol. 24, No. 5, pp. 70–72.

[25] Moulik, S.P., and Rakshit, A.K., 2006. Physicochemisty and Applications of Microemulsions. *Journal of Surface Science and Technology*, Vol. 2, No. 3–4, pp. 159–186.

[26] Desai, S.A., Mohite, R.A., and Hajare, A.A., 2015. Screening of Safflower Oil Microemulsion for Enhancing Bioavailability of Lovastatin. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, Vol. 6, No. 1, pp. 28–49.

[27] Fish, W.W., Perkins-Veazie, P., and Collins, J.K., 2002. A Quantitative Assay for Lycopene that Utilizes Reduced Volumes of Organic Solvents. *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol. 15, No. 3, pp. 309–317.

[28] Amiri-Rigi, A., and Abbasi, S., 2016. Microemulsion-Based Lycopene Extraction: Effect of Surfactants, Co-Surfactants and Pretreatments. *Food Chemistry*, Vol. 197, pp. 1002–1009.

[29] Amiri-Rigi, A., Abbasi, S., and Scanlon, M.G., 2016. Enhanced Lycopene Extraction from Tomato Industrial Waste Using Microemulsion Technique: Optimization of Enzymatic and Ultrasound Pre-Treatments. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, Vol. 35, pp. 160–167.

[30] Okonogi, S., Saeio, K., Chaiyana, W., Yotwimonwat, S., and Niwatananan, W., 2009. Encapsulation of Sesame Oil by Microemulsion Technique: Study of Phase Diagram. *XVII International Conference on Bioencapsulation*, Groningen, Netherlands, Sept 24–26.

[31] Azarikia, F., and Abbasi, S., 2016. Mechanism of Soluble Complex Formation of Milk Proteins with Native Gums (Tragacanth and Persian Gum). *Food Hydrocolloids*, Vol. 59, pp. 35–44.

[32] Spernath, A., Yaghmur, A., Aserin, A., Hoffman, R.E., and Garti, N., 2002. Food-Grade Microemulsions Based on Nonionic Emulsifiers: Media to Enhance Lycopene Solubilization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 50, No. 23, pp. 6917–6922.

[33] Milović Mladen, R., Đuriš Jelena, D., Vasiljević Dragana, D., Đurić Zorica, R., and Ibrić Svetlana, R., 2012. Potential Application of Surfactant Systems in Formulation of Dosage Forms with Slightly Soluble Substances. *Hemijska Industrija*, Vol. 66, No. 5, pp. 667–676.

[34] Atashafrooz, Z., Maleki Dizaj, S., and Salehi Sadaghiani, A., 2014. Cucurbita Pepo Oil as a Drug Microemulsion Formulation: Study of Phase Diagram. *Nanomedicine Journal*, Vol. 1, No. 5, pp. 298–301.

[35] Szumała, P., and Szeląg, H., 2012. Water Solubilization Using Nonionic Surfactants from Renewable Sources in Microemulsion Systems. *Journal of Surfactants and Detergents*, Vol. 15, No. 4, pp. 485–494.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]

Determination of Lycopene Microemulsion Nanostructure Using Electrical Conductivity and Rheological Measurements

Amiri-Rigi, A.[1], Abbasi, S.[2*]

1. PhD student, Food Colloids and Rheology Lab., Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2. Associate Professor, Food Colloids and Rheology Lab., Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

(Received: 2016/10/02 Accepted: 2017/01/14)

Microemulsions are optically transparent and thermodynamically stable systems showing selective and safe extraction capability of nutraceuticals from different plant matrices. Moreover, investigation of their nanostructure (normal micelle, reverse micelle, bicontinuous) provides noteworthy information with regard to application purposes. Therefore, in the present study the extraction of lycopene from the industrial waste of tomato paste plants was done using microemulsion technique (prepared with natural surfactant of saponin and cosurfactant of propylene glycol), and the divergent nanostructures of the single phase microemulsion were investigated by electrical conductivity and rheological measurements. These measurements along dilution lines in the pseudo-ternary phase diagram and water titration method showed good ability in simple and fast determination of different nanostructures and their boundaries in microemulsion region. Moreover, Herschel–Bulkley model fitted best with upward mode (shear rate–shear stress) of all tested samples.

Keywords: Microemulsion, Lycopene, Nanostructure, Electrical conductivity, Rheology

*Corresponding Author E-Mail Address: sabbasifood@modares.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-19]