



## بررسی سیستماتیک نانوامولسیون‌های حاوی $\beta$ -کاروتن تولید شده با استفاده از موسیلاژ دانه به

حدیث رستم آبادی<sup>۱</sup>، علیرضا صادقی ماهونک<sup>۲\*</sup>، محمد قربانی<sup>۲</sup>، علیرضا علاءفچیان<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۳- استادیار پژوهشکده نانوفناوری و مواد پیشرفته، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.

### چکیده

### اطلاعات مقاله

$\beta$ -کاروتن، به عنوان شناخته شده ترین عضو گروه کاروتنوئیدهای زیست‌فعال و یکی از اصلی‌ترین پیش‌سازهای ویتامین A، در بهبود و پیشگیری از بسیاری از بیماری‌ها مانند سرطان، دیابت نوع ۲ و بیماری‌های قلبی-عروقی نقش موثری را ایفا می‌کند. یکی از روش‌های مفید و موثر جهت تلفیق این جزء ارزشمند به فرمولاسیون‌های غذایی و همچنین حفظ فعالیت ضداکسایشی و افزایش پایداری فیزیکوشیمیایی آن، نانو ریزپوشانی است. در این پژوهش، از موسیلاژ دانه به، بعنوان فاز آبی نانوامولسیون‌های حامل  $\beta$ -کاروتن استفاده گردید. جهت دستیابی به درک عمیق‌تر تأثیر غلظت‌های مختلف  $\beta$ -کاروتن بر فرآیند نانو ریزپوشانی، پایداری فیزیکوشیمیایی امولسیون‌های تولید شده تحت آزمون‌های توزیع اندازه ذرات، اندازه‌گیری پتانسیل زتا، هدایت‌سنجی، ارزیابی خواص رئولوژیک پایا، کشش سطحی و فعالیت ضداکسایشی مورد بحث و ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که با افزایش غلظت کاروتنوئید در سیستم، ویسکوزیته، اندازه ذرات، فعالیت ضداکسایشی و پتانسیل زتا به‌طور قابل توجهی افزایش یافت؛ درحالی‌که بررسی‌های هدایت‌سنجی روند نزولی هدایت الکتریکی را نشان دادند. به‌طور کلی، نتایج این پژوهش نشان داد که بیوپلیمر آنیونی موسیلاژ دانه به از پتانسیل قابل توجهی در حفظ و بهبود ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی  $\beta$ -کاروتن برخوردار است.

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۰۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۰۸

کلمات کلیدی:

$\beta$ -کاروتن،

موسیلاژ دانه به،

نانوامولسیون،

پایداری فیزیکوشیمیایی،

فعالیت ضداکسایشی.

DOI: 10.52547/fsct.18.121.26

DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.121.3.7

\* مسئول مکاتبات:

sadeghiaz@yahoo.com

## ۱- مقدمه

می‌رود. به طوریکه، درون‌پوشانی  $\beta$ -کاروتن در سیستم‌های مبتنی بر امولسیون، به‌طور قابل توجهی قابلیت زیست‌دسترسی، پراکندگی در محیط‌های آبی و بویژه پایداری شیمیایی آن را افزایش می‌دهد [۱].

بیوپلیمرهایی همچون هیدروکلوئیدها به علت برخورداری از وزن مولکولی بالا و ویژگی آبدوستی در بسیاری از کاربردهای دارویی و غذایی بویژه نانو ریزپوشانی ترکیبات زیست‌فعال مورد توجه می‌باشند [۱۱]. در این پژوهش، موسیلاژ دانه به متعلق به خانواده گلسرخیان (*Cydonia oblonga* Miller) بعنوان هیدروکلوئید محلول در آب، مقرون به صرفه، بی بو و بی مزه بعنوان فاز آبی امولسیون‌های حامل کاروتنوئید مورد بررسی قرار گرفت. به، بومی آسیای مرکزی، بویژه ایران می‌باشد؛ به‌طوریکه حدود ۷۵ درصد از تولید جهانی این میوه ارزشمند توسط کشور ایران تأمین می‌گردد [۱۲]. دانه‌های به سرشار از ترکیبات سلامتی‌بخش نظیر ترکیبات ضد اکسایشی، اسیدهای فنولی، ترکیبات فلاونوئیدی و همچنین فیبر رژیمی می‌باشند [۱۳]. موسیلاژ دانه به، ترکیبی از میکروفیبریل‌های سلولزی (۳۵-۳۰ درصد) است که در بستری از آرابینوز و زایلوز پراکنده شده‌اند. از جمله ویژگی‌های این موسیلاژ می‌توان به خصوصیات پایدارکنندگی و امولسیفایری مناسب، ایجاد ویسکوزیته بالا (حتی در غلظت‌های پایین)، پایداری در غلظت‌های مختلف نمک (تا غلظت ۰/۱ مولار سدیم کلرید) و حرارت (دامنه دمایی ۵۰-۱۵ درجه سلسیوس) اشاره کرد [۱۶-۱۴]. همچنین، این موسیلاژ از رفتار رئولوژی رقیق‌شونده با برش برخوردار است؛ به‌طوریکه در طول زمان، با افزایش نرخ برشی ویسکوزیته آن کاهش می‌یابد. قابل ذکر است که رفتار جریان‌ی موسیلاژ مذکور در دامنه  $\text{pH} = 4-10$  تحت تأثیر تغییرات  $\text{pH}$  قرار نمی‌گیرد؛ هرچند که با خارج شدن از این محدوده، ویسکوزیته به شدت تنزل می‌یابد [۱۵]. علاوه بر مزایای ذکر شده، کاربرد پلیمرهای طبیعی از جنبه زیست‌محیطی و بویژه صنایع غذایی حائز اهمیت است؛ چراکه از نظر امنیت غذایی مخاطره‌انگیز نمی‌باشند [۱۸ و ۱۷].

با وجود گستردگی تحقیقات صورت گرفته در زمینه نانو

کاروتنوئیدها، گروهی از رنگدانه‌های زیست‌فعال هستند که در بسیاری از میوه‌ها و سبزیجات (مانند فلفل، گوجه‌فرنگی، هویج، انبه و کلم بروکلی) و همچنین برخی از گونه‌های باکتریایی یافت می‌شوند و نقش موثری را در واکنش‌های حساس به نور و فتوسنتز ایفا می‌کنند [۱]. این ترکیبات از مزایای سلامتی‌بخش قابل توجهی برخوردارند؛ به‌طوریکه،  $\beta$ -کاروتن ( $\text{C}_{40}\text{H}_{56}$ ) به عنوان اصلی‌ترین عضو این گروه از قابلیت ضد اکسایشی بسیار بالایی برخوردار است [۲].  $\beta$ -کاروتن، بعنوان شناخته شده‌ترین منبع ویتامین A بشمار می‌رود و در اثر عمل آنزیم  $\beta$ -کاروتن ۱۵، ۱۵- منو اکسیژناز در روده به رتینول تبدیل می‌گردد. این ترکیب در بهبود پاسخ سیستم ایمنی به عفونت‌ها و پیش‌گیری از بیماری‌های مزمن خاص مانند سرطان، دیابت نوع ۲، بیماری‌های قلبی-عروقی و تنفسی سهم بسزائی را ایفا می‌کند [۳-۵]. از این رو، تلفیق این جزء عملگر با فرمولاسیون‌های غذایی از موضوعات مورد توجه محققین در سال‌های اخیر می‌باشد.

$\beta$ -کاروتن یک مولکول هیدروفوب نسبتاً طویل با نقطه ذوب بالا است که از انحلال‌پذیری بسیار ضعیفی در محیط‌های آبی برخوردار است. همین امر، کاربرد آن را در صنایع غذایی با محدودیت مواجه کرده و موجب تنزل زیست‌دسترسی آن گردیده است [۶]. علاوه بر این، حضور تعداد زیادی باند دوگانه کونژوگه در ساختار  $\beta$ -کاروتن، به‌طورقابل توجهی حساسیت آن را نسبت به نور، گرما و اکسیژن در طول تولید و ذخیره‌سازی افزایش می‌دهد [۸ و ۷]. بر اساس محدودیت‌های فوق‌الذکر، جهت افزودن این جزء عملگر به فرمولاسیون‌های غذایی، فرآیند ریزپوشانی  $\beta$ -کاروتن توسط یک سیستم حامل مناسب ضروری به نظر می‌رسد [۹].

به دلیل ویژگی منحصر به فرد مواد در مقیاس نانو، امروزه نانو ریزپوشانی ترکیبات زیست‌فعال به‌طور قابل ملاحظه‌ای مورد توجه قرار گرفته است [۱۰]. بر اساس پژوهش‌های انجام‌گرفته، ریزپوشانی در سامانه‌های نانومتری با استفاده از امولسیون‌های روغن در آب، از رایج‌ترین شیوه‌های درون‌پوشانی ترکیبات زیست‌فعال بویژه کاروتنوئیدها بشمار

1. Biopolymer
2. Hydrocolloid

ریزپوشانی کاروتنوئیدها با استفاده از سیستم‌های مبتنی بر امولسیون، تاکنون مطالعه‌ای در زمینه نانو ریزپوشانی  $\beta$ -کاروتن با استفاده از موسیلاژ دانه به صورت نگرفته است. در این پژوهش بیوپلیمر موسیلاژ دانه به، بعنوان فاز آبی امولسیون‌های روغن/آب حامل  $\beta$ -کاروتن انتخاب گردید. به منظور دستیابی به درک عمیق‌تر تاثیر غلظت‌های مختلف  $\beta$ -کاروتن بر فرآیند نانو ریزپوشانی و پایداری فیزیکوشیمیایی امولسیون‌های تولید شده، آزمون‌های اندازه‌گیری پتانسیل زتا، توزیع اندازه ذرات، هدایت‌سنجی، ارزیابی خواص رئولوژیک پایا، کشش سطحی و فعالیت ضداکسایشی مورد بحث و ارزیابی قرار گرفت.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد

دانه‌های به، از عطاری شهر اصفهان تهیه شدند.  $\beta$ -کاروتن، توپین ۲۰ و سایر ترکیبات حائز درجه آزمایشگاهی (سیگما، ایالات متحده آمریکا) فراهم گردیدند.

### ۲-۲- آماده‌سازی فاز پیوسته

برای این منظور از روش بهینه شده عباس تبار و همکاران [۱۴]، با اندکی تغییر استفاده گردید. ابتدا دانه‌های تازه به با نسبت ۱:۵۰ با آب مقطر  $30^{\circ}\text{C}$  مخلوط و به مدت ۲۴ ساعت به کمک همزن مغناطیسی هم زده شدند. جهت جداسازی موسیلاژ از دانه و حذف هرگونه ناخالصی، مخلوط حاصله به ترتیب از فیلترهای مش ۶۰ و ۱۷۵ عبور داده شد. پس از آن، مخلوط فیلترشده با استفاده از دستگاه خشک‌کن انجمادی (Christ Alpha LD، آلمان)، به مدت ۴۸ ساعت خشک و تا انجام آزمون‌ها در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  نگهداری گردید. محلول‌های پلیمری با استفاده از موسیلاژ ۰/۳ درصد دانه به تهیه شدند.

### ۲-۳- تهیه امولسیون

پیش از افزودن  $\beta$ -کاروتن به سیستم، فرآیند حل کردن آن ( $0.5\text{ W/W}$ ) در روغن ذرت توسط یک مرحله حرارت‌دهی کوتاه ( $55^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۰ دقیقه) و سپس تیمار فراصوت

۴۰ kHz (درون حمام یخ به مدت ۲ دقیقه) صورت پذیرفت [۱]. قابل ذکر است که این فرآیند تا زمان انحلال کامل  $\beta$ -کاروتن درون فاز روغنی ادامه یافت. جهت کاهش کشش سطحی و افزایش پایداری امولسیون‌ها، سورفاکتانت غیر یونی توپین ۲۰ (۰/۱ درصد، با در نظر گرفتن وزن خشک موسیلاژ دانه به) به محلول موسیلاژ اضافه گردید و تا اطمینان از اختلاط کامل با استفاده از همزن مغناطیسی هم زده شدند. جهت تولید امولسیون‌های ۱، ۲/۵، ۵، ۷/۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد  $\beta$ -کاروتن، روغن ذرت به فاز آبی محتوی سورفاکتانت اضافه گردید و همگن‌سازی اولیه با استفاده از همزن‌سایزر اولتراتوراکس (JKA, Staufen، آلمان) به مدت ۴ دقیقه با سرعت ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه صورت پذیرفت. در نهایت، جهت کاهش اندازه ذرات امولسیون اولیه از همزن‌سایزر با سرعت برشی بالا (Heidolph Silent Crusher M Homogenizer, Germany) با سرعت ۱۲۰۰۰ rpm (۶ دقیقه) استفاده گردید.

### ۲-۴- آزمون کشش سطحی

کشش سطحی موسیلاژ دانه به و امولسیون‌های محتوی سطوح مختلف کاروتنوئید به روش صفحه ویلهلمی<sup>۲</sup> و با استفاده از دستگاه تِنسیومتر<sup>۳</sup> (مدل، Dataphysics DCAT 21، آلمان) مجهز به سیرکولاتور حرارتی (Julabo, F12-MC، آلمان) ارزیابی گردید. در این روش با استفاده از تیغه‌ای از جنس پلاتینیوم-ایریدیوم به طول ۱۰، عرض ۱۹/۹ و ضخامت ۰/۲ میلی‌متر فعالیت سطحی نمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت [۱۱]. پیش از آزمون صفحه دستگاه با استون و سپس توسط شعله کاملاً استریل گردید. کالیبراسیون دستگاه با آب دیونیزه در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  صورت پذیرفت. این آزمون با سه تکرار و در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  انجام گرفت.

### ۲-۵- توزیع اندازه ذرات و پتانسیل زتا

توزیع اندازه ذرات امولسیون‌های محتوی  $\beta$ -کاروتن با استفاده از دستگاه آنالیز کننده ذرات لیزر<sup>۴</sup> (ژاپن، 930-Horiba-LA) مجهز به پرتو لیزر ۵ میلی ولت هلیوم/نون (۳۳۵ نانومتر) مورد

2. Wilhemy plate  
3. Tensiometer  
4. Laser particle Analyzer

1. Tween 20

$$(2) \quad (\%) \text{فعالیت ضدکسایشی} = (A_1 - A_2) / A_1 \times 100$$

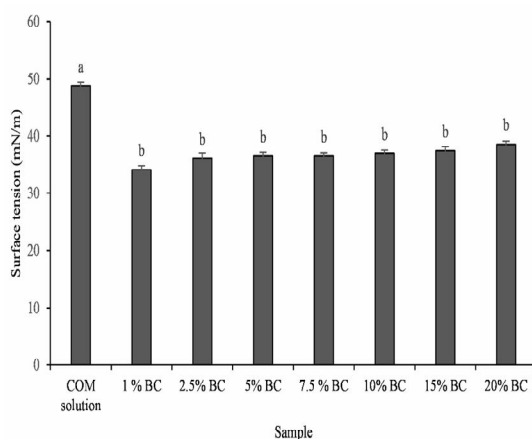
## ۲-۹- آنالیز آماری

در این پژوهش از طرح کاملاً تصادفی ساده<sup>۲</sup> استفاده گردید. نتایج آزمون‌ها به صورت انحراف معیار<sup>۳</sup> میانگین ارائه گردید و میانگین‌ها (حداقل سه تکرار برای هر آزمون) توسط آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 مقایسه شدند.

## ۳- نتایج و بحث

### ۳-۱- آزمون کشش سطحی

کشش سطحی از تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر مورفولوژی و توزیع اندازه نانوذرات برخوردار است؛ به‌طوریکه، کشش‌های سطحی پایین‌تر، مقدار انرژی سیستم جهت تجزیه به اسفرا<sup>۳</sup> را کاهش داده و نانوذرات باتوزیع اندازه یکنواخت‌تری را به ارمغان می‌آورد [۲۰]. کشش سطحی محلول موسیلاژ دانه به و امولسیون‌های محتوی  $\beta$ -کاروتن در شکل ۱ ارائه شده است. به‌طورکلی، هیدروکلونیدها از جمله موسیلاژ دانه به، به دلیل ماهیت آبدوست، کشش سطحی زیاد حلال آب و همچنین انعطاف‌پذیری مولکولی کم، فعالیت سطحی قابل توجهی از خود نشان نمی‌دهند [۲۱-۲۳].



**Fig 1** Surface tension of quince seed mucilage and  $\beta$ -carotene loaded nanoemulsions.

بر همین اساس و مطابق با شکل ۱، میزان کشش سطحی موسیلاژ دانه به برابر با  $48/84 \pm 0/39$  mN/m اندازه‌گیری

بررسی قرار گرفت [۸ و ۱]. جهت 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. این آزمون در دمای  $20^\circ\text{C}$  با چهار تکرار انجام گردید. همچنین، پتانسیل زتای ( $\zeta$ ) امولسیون‌های حامل  $\beta$ -کاروتن با استفاده از دستگاه زتاسایزر Nano-ZS (Malvern 103 MPT-2 pH Instruments, UK) مجهز به autotitrator مورد ارزیابی قرار گرفت.

### ۲-۶- آزمون هدایت الکتریکی

در این آزمون با استفاده از دستگاه هدایت‌سنج<sup>۱</sup> (S30 SevenEasy<sup>TM</sup> conductivity, Mettler-Toledo, Switzerland)، هدایت الکتریکی محلول موسیلاژ و نمونه‌های مختلف حاوی کاروتنوئید مورد بررسی قرار گرفت.

### ۲-۷- ارزیابی خواص رئولوژیک پایا

خواص رئولوژیک پایای موسیلاژ دانه به و امولسیون‌های حاوی سطوح مختلف  $\beta$ -کاروتن به وسیله دستگاه رئومتر چرخشی پارافیزیکا مدل (Paar Physica Anton Paar GmbH.MCR301، اتریش) با هندسه مخروط-صفحه و مجهز به سیستم تنظیم دما و سیرکولاتور آب اندازه‌گیری شد. آزمون‌ها در درجه برش ثابت  $100$  برثانیه و در دمای  $20^\circ\text{C}$  انجام شد [۱۱]. رفتار جریان پایای محلول‌های مختلف در دامنه درجه برش  $0/01-300$  s<sup>-1</sup> مورد ارزیابی قرارگرفت. برای توصیف رفتار رئولوژیکی، داده‌های آزمون (سرعت برشی-تنش برشی) با مدل قانون توان (معادله ۱) برازش گردید:

$$\tau = ky^n$$

معادله (۱)

در این معادله  $\tau$  تنش برشی Pa،  $y$  درجه برش (s<sup>-1</sup>)،  $k$  ضریب قوام (Pa.s) و  $n$  شاخص رفتار جریان (بدون بعد) می‌باشد.

### ۲-۸- ارزیابی فعالیت ضدکسایشی

فعالیت ضدکسایشی نانوامولسیون‌های مختلف محتوی  $\beta$ -کاروتن با استفاده از ۲ و ۲-دی فنیل ۱-پیکرین هیدرازیل (DPPH) به روش لوکا و همکاران [۱۹] مورد ارزیابی قرار گرفت. براساس معادله ۲،  $A_1$ ، میزان جذب نمونه شاهد و  $A_2$  میزان جذب نمونه می‌باشد.

2. Completely randomized design (CRD)  
3. Spheres

1. Conductometer

شد. به منظور کاهش کشش سطحی و نیز به سبب تقویت خاصیت امولسیون‌کنندگی موسیلاژ دانه به، جهت تولید امولسیون‌های  $\beta$ -کاروتن از سورفاکتانت غیر یونی توپین ۲۰ استفاده گردید. همانطور که انتظار می‌رفت، فرآیند تشکیل امولسیون سبب کاهش ناگهانی کشش سطحی محلول موسیلاژ از  $0.39 \pm 0.08$  به  $0.47 \pm 0.21$  mN/m گردید؛ به‌طوری‌که تمامی امولسیون‌ها از کشش سطحی کمتری نسبت به محلول خالص موسیلاژ برخوردار بودند ( $p \leq 0.05$ ). در توضیح این پدیده می‌توان گفت که افزودن ۰/۱ درصدی سورفاکتانت توپین ۲۰ سبب اتصال بیوپلیمر و سورفاکتانت در حفاصل سطح مایع/هوا می‌گردد و اگرگیت‌های میسل-بیوپلیمر شکل می‌گیرد. اتصالات الکترواستاتیک و هیدروفوبیک میان بیوپلیمر و سورفاکتانت سبب انتقال مولکول‌های بیوپلیمر از سطح به توده محلول می‌شود و در این حالت، مولکول‌های سورفاکتانت با تجمع در سطح محلول سبب کاهش ناگهانی کشش سطحی محلول می‌گردند [۲۴]. علاوه بر اثر توپین ۲۰ بر کشش سطحی، این کاهش می‌تواند در اثر حضور  $\beta$ -کاروتن نیز باشد؛ چراکه از کشش سطحی پایین‌تری نسبت به موسیلاژ خالص برخوردار

است ( $0.30/0.07$  mN/m). اگرچه، افزایش غلظت  $\beta$ -کاروتن (۱ تا ۲۰ درصد) موجب افزایش ناچیز کشش سطحی گردید ( $p > 0.05$ ) که علت آن را می‌توان به افزایش غلظت فاز روغنی در حضور سطح ثابت سورفاکتانت در سیستم نسبت داد که با کاهش توانایی سورفاکتانت در پوشش‌دهی کامل قطرات روغن همراه می‌باشد [۲۹-۲۵].

### ۳-۲- توزیع اندازه ذرات و پتانسیل زتا

پتانسیل زتا، اندازه‌ها توزیع ذرات فاز پراکنده از جمله ویژگی‌های مهم امولسیون هستند که بر جدایی فاز، پایداری و ویسکوزیته تأثیر بسزایی دارند. بهمین منظور، امولسیون‌های  $\beta$ -کاروتن تهیه شده با فاز آبی موسیلاژ دانه به، از نقطه‌نظر پتانسیل الکتریکی، قطر متوسط و توزیع اندازه

ذرات (شاخص اسپان) مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج حاصل از اندازه‌گیری پتانسیل زتای امولسیون‌های  $\beta$ -کاروتن در جدول ۱ ارائه شده است. همانطور که بوضوح قابل مشاهده است؛ همه نمونه‌ها از پتانسیل زتای کم‌تر از  $25$  mV- برخوردار بودند که نشانگر پایداری مناسب آن‌ها حتی در غلظت‌های بالای  $\beta$ -کاروتن می‌باشد. بر اساس نتایج ارائه شده در جدول ۱، افزایش غلظت  $\beta$ -کاروتن از ۱ تا ۲۰ درصد، با افزایش قطر متوسط و پتانسیل زتای ( $75/5$  تا  $61/1$  mV) ذرات همراه بود ( $p \leq 0.05$ ). این یافته‌ها با نتایج گزارش شده توسط چان [۳۰] در افزایش قابل ملاحظه اندازه متوسط قطرات و پتانسیل زتا با افزایش محتوای روغن در امولسیون مطابقت داشت. در توجیه این پدیده گفته می‌شود که در غلظت‌های بالای فاز روغنی، احتمالاً میزان ثابت سورفاکتانت برای پوشش کامل و جلوگیری از تجمع<sup>۱</sup> قطرات روغن کافین بوده و در نتیجه، بهم‌پیوستگی ذرات سبب افزایش اندازه آن‌ها گردیده است. علت دیگر این پدیده، احتمالاً افزایش نیروی جاذب میان قطرات در غلظت‌های بالای روغن است که منجر به افزایش تعداد برخورد بین قطرات و اتصال آن‌ها به یکدیگر و در نهایت تشکیل ذرات بزرگ در امولسیون می‌گردد [۳۱ و ۳۲]. شاخص اسپان مؤید پهنای نمودار توزیع اندازه ذرات می‌باشد؛ به طوری‌که مقادیر پایین این عدد، حاکی از توزیع یکنواخت ذرات و بالا بودن آن نشان از عدم یکنواختی در توزیع اندازه ذرات سیستم دارد. بر اساس جدول ۱، امولسیون‌های  $\beta$ -کاروتن کمتر از ۱۰ درصد، از شاخص اسپان پایینی برخوردار بودند و همچنین از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشتند. غلظت‌های  $\beta$ -کاروتن بالاتر از ۱۰ درصد، شاخص اسپان امولسیون‌های تولیدی را به‌طور قابل توجهی افزایش داد؛ به طوری‌که افزایش پهنای منحنی توزیع اندازه ذرات امولسیون سبب ظهور منحنی‌های دوقله‌ای<sup>۲</sup> گردید (جدول ۱). چنین تغییراتی در پی وقوع تجمع شدید قطرات رخ می‌دهد و ناشی از عدم یکنواختگی و پراکندگی زیاد اندازه ذرات امولسیون محتوی کاروتنوئید می‌باشد.

**Table 1** Emulsion size distribution and zeta potential of of  $\beta$ -carotene loaded nanoemulsions.

BC content	Mean diameter (nm)		span	Zeta potential (mV)
	First peak	Second peak		
1 %	105.10 ± 7.24 <sup>a</sup>	-	1.01 ± 0.09 <sup>a</sup>	-75.5 ± 2.1 <sup>a</sup>
2.5 %	134.16 ± 5.19 <sup>b</sup>	-	1.21 ± 0.13 <sup>b</sup>	-69.5 ± 1.6 <sup>b</sup>
5 %	193.48 ± 11.73 <sup>d</sup>	-	1.25 ± 0.07 <sup>b</sup>	-68.4 ± 3.7 <sup>b</sup>
7.5 %	218.60 ± 15.94 <sup>e</sup>	-	1.58 ± 0.11 <sup>c</sup>	-67.0 ± 1.5 <sup>c</sup>
10 %	134.16 ± 4.82 <sup>b</sup>	356.20 ± 17.45 <sup>a</sup>	2.16 ± 0.24 <sup>d</sup>	-63.5 ± 1.1 <sup>d</sup>
15 %	118.74 ± 6.35 <sup>ab</sup>	402.44 ± 24.49 <sup>b</sup>	2.47 ± 0.19 <sup>e</sup>	-62.4 ± 2.1 <sup>de</sup>
20 %	151.57 ± 9.16 <sup>c</sup>	454.69 ± 22.17 <sup>c</sup>	2.93 ± 0.31 <sup>f</sup>	-61.1 ± 0.8 <sup>e</sup>

Different letters within the same column indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

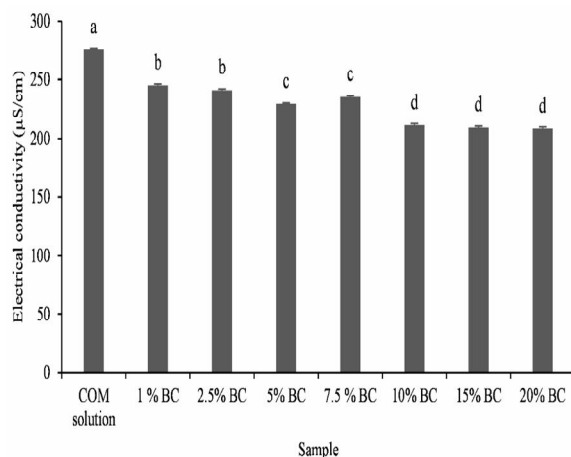
### ۳-۴- خواص رئولوژیک پایا

تشکیل نانوذرات با قطر کم‌تر از رابطه معکوسی با نیروهای ویسکوالاستیک محلول پلیمری برخوردار است؛ به‌طوریکه افزایش بیش از حد ویسکوزیته سبب اختلال در کشش مطلوب شاخه‌های بایوپلیمر گشته و در نهایت موجب تشکیل نانوذرات با قطر بیش‌تر می‌گردد [۳۷]. نتایج حاصل از آزمون رئولوژیکی مستقل از زمان (سرعت برشی-تنش برشی)، با مدل قانون توان (معادله ۱) برازش شدند و ضریب تعیین بالای نمونه‌ها ( $R^2 = 0.99$ ) حاکی از مناسب بودن مدل استفاده شده در توصیف رفتار جریان امولسیون‌های مورد مطالعه بود (جدول ۲). شاخص رفتار جریان نمونه‌ها بین ۰/۳۹-۰/۴۱ ( $n < 1$ ) اندازه‌گیری شد (جدول ۲) که نشان‌دهنده رفتار سود و پلاستیک (تضعیف‌شونده با برش) آن‌ها می‌باشد. در این راستا، مولر و همکاران [۳۸] نیز بیان داشتند که شاخص رفتار جریان کمتر از ۰/۶ نشان‌دهنده رفتار سود و پلاستیک قوی سیال است. گفته می‌شود که وزن مولکولی بالا و درگیری زنجیره پلیمری ناشی از پیوندهای هیدروژنی از دلایل رفتار سود و پلاستیک صمغ‌ها می‌باشد.

مقادیر ضریب قوام (شاخص ویسکوزیته) محلول موسیلاژ و امولسیون‌های مختلف بر اساس مدل قانون توان در جدول ۲ ارائه شده است. این شاخص کمتر از مقدار گزارش شده برای محلول صمغ گزانتان و قدومه شیرازی با غلظت یکسان بود. مقادیر کوچک شاخص ضریب قوام، مؤید ویسکوزیته کم موسیلاژ دانه به در غلظت پایین است. بر اساس شکل ۵، تشکیل امولسیون و حضور توپین ۲۰، سبب افزایش معنی‌دار ضریب قوام امولسیون‌های محتوی کاروتنوئید گردید. همچنین، افزایش غلظت  $\beta$ -کاروتن با افزایش قابل توجه ضریب قوام همراه بود.

### ۳-۳- هدایت الکتریکی

هدایت الکتریکی موسیلاژ دانه به و امولسیون‌های  $\beta$ -کاروتن در شکل ۲ به تصویر کشیده شده است. براساس نمودارهای ارائه‌شده، موسیلاژ دانه به از هدایت الکتریکی بالاتری ( $\mu S/cm$ ) بود ( $p \leq 0.05$ ) که دلیل این رفتار را می‌توان به طبیعت آنیونی این ترکیب نسبت داد. با افزایش غلظت کاروتنوئید (۱-۲۰ درصد) در سیستم، هدایت الکتریکی امولسیون‌ها به طور قابل توجهی کاهش یافت ( $p \leq 0.05$ ) که علت آن افزایش غلظت ساختار غیر قطبی  $\beta$ -کاروتن و کاهش قدرت یونی محلول می‌باشد [۳۳]. در همین راستا، لویک و همکاران [۲۵] نیز عنوان داشتند که افزایش غلظت د-لیمونن در سیستم سدیم آلزینات آنیونی سبب کاهش قابل توجه هدایت الکتریکی محلول گردید.



**Fig 2** Electrical conductivity of quince seed mucilage and  $\beta$ -carotene loaded nanoemulsions.

دلیل دیگر کاهش هدایت الکتریکی در امولسیون‌های تولیدی را می‌توان به حضور سورفکتانت غیر یونی توپین ۲۰ نسبت داد؛ جائیکه بسیاری از محققین نیز نتایج مشابهی را در این زمینه ارائه کردند [۳۶-۳۴].

**Table 2** Flow properties of  $\beta$ -carotene-enriched emulsions.

Sample	K (Pa.s <sup>n</sup> )	n	R <sup>2</sup>
COM Solution	0.45±0.03 <sup>a</sup>	0.41±0.01 <sup>a</sup>	
1 % BC	0.53±0.03 <sup>b</sup>	0.41±0.01 <sup>a</sup>	0.99
2.5 % BC	0.57±0.01 <sup>b</sup>	0.40±0.00 <sup>a</sup>	0.99
5 % BC	0.59±0.02 <sup>b</sup>	0.40±0.02 <sup>a</sup>	0.99
7.5 % BC	0.61±0.01 <sup>b</sup>	0.40±0.02 <sup>a</sup>	0.99
10 % BC	0.75±0.03 <sup>c</sup>	0.39±0.00 <sup>a</sup>	0.99
15 % BC	0.75±0.01 <sup>c</sup>	0.39±0.01 <sup>a</sup>	0.99
20 % BC	0.77±0.02 <sup>c</sup>	0.40±0.02 <sup>a</sup>	0.99

k: consistency index; n: flow .Different letters within the same column indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) behavior index; R2: coefficient of determination.

بازدارنده‌های اکسیژن برانگیخته است؛ به‌طوری‌که با جذب انرژی اکسیژن یگانه آن را به حال پایه برمی‌گرداند. در ادامه،  $\beta$ -کاروتن برانگیخته نیز بدون هیچگونه تغییر شیمیایی انرژی اضافی خود را به محیط اطراف داده و خود نیز در حالت پایه قرار می‌گیرد [۳۳]. فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH امولسیون‌های  $\beta$ -کاروتن در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج حکایت از آن داشت که با افزایش غلظت  $\beta$ -کاروتن از ۱ تا ۲۰ درصد فعالیت مهارکنندگی به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت ( $P \leq 0.05$ ). در تطابق با این یافته‌ها چن و ژانگ [۴۰] و همچنین لی و همکاران [۲۷] عنوان داشتند که غلظت  $\beta$ -کاروتن در سیستم نانوحامل یکی از مهم‌ترین فاکتورهای تاثیرگذار بر فعالیت ضداکسایشی  $\beta$ -کاروتن می‌باشد.

این فرضیه با نتایج بدست آمده در بخش ۳-۲-تحقیق که افزایش غلظت  $\beta$ -کاروتن، افزایش قابل توجه توزیع اندازه ذرات امولسیون را نشان داد، مطابقت داشت. در توافق با این یافته‌ها، جعفری و همکاران [۲۶] و خوش اخلاق و همکاران [۳۹] نیز به ترتیب با مطالعه تأثیر غلظت د-لیمون بر رفتار رئولوژیکی امولسیون‌های تولید شده با صمغ انگوم و قدومه شیرازی، علت افزایش ویسکوزیته را به تقویت برهمکش قطرات امولسیون و در نتیجه ساختار یافتگی بیشتر شبکه امولسیون با افزایش غلظت لیمون نسبت دادند.

## ۲-۵- فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد

### DPPH

ساختار مولکولی غیر اشباع  $\beta$ -کاروتن یکی از موثرترین

**Table 3** DPPH radical scavenging activity of  $\beta$ -carotene loaded nanoemulsions.

20% BC	15% BC	10% BC	7.5% BC	5% BC	2.5 % BC	1% BC
67.25±0.45 <sup>a</sup>	65.47±0.58 <sup>a</sup>	52.19±0.61 <sup>b</sup>	30.13±0.36 <sup>c</sup>	29.76±28 <sup>c</sup>	18.53±0.44 <sup>d</sup>	15.99±0.84 <sup>e</sup>

Different letters within the same column indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

هرچند که انجام مطالعات گسترده‌تر در زمینه کاربرد نانوامولسیون‌های تولید شده در فرمولاسیون‌های غذایی و بررسی رهایش  $\beta$ -کاروتن از چنین سیستم‌هایی ضروری بنظر می‌رسد.

## ۵- منابع

- [1] Qian C, Decker EA, Xiao H, McClements DJ. Physical and chemical stability of  $\beta$ -carotene-enriched nanoemulsions: Influence of pH, ionic strength, temperature, and emulsifier type. Food Chemistry 2012;132:1221-9.
- [2] Boon CS, McClements DJ, Weiss J, Decker EA. Factors influencing the chemical stability of carotenoids in foods. Critical

## ۴- نتیجه‌گیری

در این پژوهش، نانو ریزپوشانی  $\beta$ -کاروتن با استفاده از موسیلاژ دانه به مورد بررسی قرار گرفت. افزایش غلظت کاروتنوئید در سیستم با افزایش قابل توجه توزیع اندازه ذرات، ضریب قوام، پتانسیل زتا و پتانسیل ضداکسایشی همراه بود. در حالیکه افزودن  $\beta$ -کاروتن منجر به کاهش چشمگیر قدرت یونی و هدایت الکتریکی سیستم گردید. نتایج حاکی از آن بود که تلفیق سطوح مختلف  $\beta$ -کاروتن در سیستم با تغییرات قابل ملاحظه خواص فیزیکوشیمیایی همراه بود. بر اساس این پژوهش موسیلاژ دانه به، بعنوان یک هیدروکلوئید بومی و عملکردی از پتانسیل قابل ملاحظه‌ای در نانو ریزپوشانی و افزایش پایداری فیزیکوشیمیایی  $\beta$ -کاروتن برخوردار است.

- mucilage films containing thyme essential oil. *Carbohydrate Polymers* 2014;99:537–46.
- [13] Ashraf MU, Hussain MA, Bashir S, Haseeb MT, Hussain Z. Quince seed hydrogel (glucuronoxylan): Evaluation of stimuli responsive sustained release oral drug delivery system and biomedical properties. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 2018;45:455–65.
- [14] Abbastabar B, Azizi MH, Adnani A, Abbasi S. Determining and modeling rheological characteristics of quince seed gum. *Food Hydrocolloids* 2015;43:259–64.
- [15] BEMILLER JN, WHISTLER RL, BARKALOW DG, CHEN C-C. Aloe, chia, flaxseed, okra, psyllium seed, quince seed, and tamarind gums. *Industrial Gums (Third Edition)*, Elsevier; 1993, p. 227–56.
- [16] Wang L, Liu H-M, Xie A-J, Wang X-D, Zhu C-Y, Qin G-Y. Chinese quince (*Chaenomeles sinensis*) seed gum: Structural characterization. *Food Hydrocolloids* 2018;75:237–45.
- [17] Nagarajan R, Drew C, Mello CM. Polymer–micelle complex as an aid to electrospinning nanofibers from aqueous solutions. *The Journal of Physical Chemistry C* 2007;111:16105–8.
- [18] Stijnman AC, Bodnar I, Tromp RH. Electrospinning of food-grade polysaccharides. *Food Hydrocolloids* 2011;25:1393–8.
- [19] Lacatusu I, Mitrea E, Badea N, Stan R, Oprea O, Meghea A. Lipid nanoparticles based on omega-3 fatty acids as effective carriers for lutein delivery. Preparation and in vitro characterization studies. *Journal of Functional Foods* 2013;5:1260–9.
- [20] Gupta P, Elkins C, Long TE, Wilkes GL. Electrospinning of linear homopolymers of poly (methyl methacrylate): exploring relationships between fiber formation, viscosity, molecular weight and concentration in a good solvent. *Polymer* 2005;46:4799–810.
- [21] Herricks TE, Kim S-H, Kim J, Li D, Kwak JH, Grate JW, et al. Direct fabrication of enzyme-carrying polymer nanofibers by electrospinning. *Journal of Materials Chemistry* 2005;15:3241–5.
- [22] Liu H, Ding X, Zhou G, Li P, Wei X, Fan Y. Electrospinning of nanofibers for tissue engineering applications. *Journal of Nanomaterials* 2013;2013:3.
- Reviews in Food Science and Nutrition* 2010;50:515–32.
- [3] Liu G, Zhou Y, Chen L. Intestinal uptake of barley protein-based nanoparticles for  $\beta$ -carotene delivery. *Acta pharmaceutica sinica B* 2019;9:87-96.
- [4] Chen H, Zhong Q. Thermal and UV stability of  $\beta$ -carotene dissolved in peppermint oil microemulsified by sunflower lecithin and Tween 20 blend. *Food Chemistry* 2015;174:630–6.
- [5] Gul K, Tak A, Singh AK, Singh P, Yousuf B, Wani AA. Chemistry, encapsulation, and health benefits of  $\beta$ -carotene-A review. *Cogent Food and Agriculture* 2015;1:1018696.
- [6] Palozza P, Muzzalupo R, Trombino S, Valdannini A, Picci N. Solubilization and stabilization of  $\beta$ -carotene in niosomes: delivery to cultured cells. *Chemistry and Physics of Lipids* 2006;139:32–42.
- [7] de Paz E, Martín Á, Bartolomé A, Largo M, Cocero MJ. Development of water-soluble  $\beta$ -carotene formulations by high-temperature, high-pressure emulsification and antisolvent precipitation. *Food Hydrocolloids* 2014;37:14–24.
- [8] De Paz E, Martín Á, Estrella A, Rodríguez-Rojo S, Matias AA, Duarte CM, et al. Formulation of  $\beta$ -carotene by precipitation from pressurized ethyl acetate-on-water emulsions for application as natural colorant. *Food Hydrocolloids* 2012;26:17–27.
- [9] Jain A, Thakur D, Ghoshal G, Katore OP, Shivhare US. Characterization of microcapsulated  $\beta$ -carotene formed by complex coacervation using casein and gum tragacanth. *International Journal of Biological Macromolecules* 2016;87:101–13.
- [10] Ezhilarasi PN, Karthik P, Chhanwal N, Anandharamakrishnan C. Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. *Food and Bioprocess Technology* 2013;6:628–47.
- [11] Rezaeinia H, Ghorani B, Emadzadeh B, Tucker N. Electrohydrodynamic atomization of Balangu (*Lallemantia royleana*) seed gum for the fast-release of *Mentha longifolia* L. essential oil: Characterization of nanocapsules and modeling the kinetics of release. *Food Hydrocolloids* 2019.
- [12] Jouki M, Mortazavi SA, Yazdi FT, Koochehi A. Characterization of antioxidant–antibacterial quince seed



- [33] Rostamabadi H, Falsafi SR, Jafari SM. Nanoencapsulation of carotenoids within lipid-based nanocarriers. *Journal of Controlled Release* 2019.
- [34] Aceituno-Medina M, Lopez-Rubio A, Mendoza S, Lagaron JM. Development of novel ultrathin structures based in amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) protein isolate through electrospinning. *Food Hydrocolloids* 2013;31:289–98.
- [35] Wongsasulak S, Pathumban S, Yoovidhya T. Effect of entrapped  $\alpha$ -tocopherol on mucoadhesivity and evaluation of the release, degradation, and swelling characteristics of zein–chitosan composite electrospun fibers. *Journal of Food Engineering* 2014;120:110–7.
- [36] Wongsasulak S, Patapeejumruswong M, Weiss J, Supaphol P, Yoovidhya T. Electrospinning of food-grade nanofibers from cellulose acetate and egg albumen blends. *Journal of Food Engineering* 2010;98:370–6.
- [37] Kim H-W, Lee H-H, Knowles JC. Electrospinning biomedical nanocomposite fibers of hydroxyapatite/poly (lactic acid) for bone regeneration. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials* 2006;79:643–9.
- [38] Muller FL, Pain JP, Villon P. On the behaviour of non-Newtonian liquids in collinear ohmic heaters. *Institution of Chemical Engineers Symposium Series*, vol. 135, Hemisphere Publishing Corporation; 1994, p. 285–285.
- [39] Khoshakhlagh K, Koocheki A, Mohebbi M, Allafchian A. Development and characterization of electrospayed *Alyssum homolocarpum* seed gum nanoparticles for encapsulation of d-limonene. *Journal of Colloid and Interface Science* 2017;490:562–75.
- [40] Xia S, Tan C, Zhang Y, Abbas S, Feng B, Zhang X, et al. Modulating effect of lipid bilayer–carotenoid interactions on the property of liposome encapsulation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2015;128:172–80.
- [23] Kurd F, Fathi M, Shekarchizadeh H. Basil seed mucilage as a new source for electrospinning: Production and physicochemical characterization. *International Journal of Biological Macromolecules* 2017;95:689–95.
- [24] Deng L, Kang X, Liu Y, Feng F, Zhang H. Effects of surfactants on the formation of gelatin nanofibres for controlled release of curcumin. *Food Chemistry* 2017;231:70–7.
- [25] Lević S, Lijaković IP, Đorđević V, Rac V, Rakić V, Knudsen TŠ, et al. Characterization of sodium alginate/d-limonene emulsions and respective calcium alginate/d-limonene beads produced by electrostatic extrusion. *Food Hydrocolloids* 2015;45:111–23.
- [26] Jafari SM, Beheshti P, Assadpoor E. Rheological behavior and stability of D-limonene emulsions made by a novel hydrocolloid (Angum gum) compared with Arabic gum. *Journal of Food Engineering* 2012;109:1–8.
- [27] Li Y, Xiao H, McClements DJ. Encapsulation and delivery of crystalline hydrophobic nutraceuticals using nanoemulsions: Factors affecting polymethoxyflavone solubility. *Food Biophysics* 2012;7:341–53.
- [28] Affandi MMM, Julianto T, Majeed A. Development and stability evaluation of astaxanthin nanoemulsion. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 2011;4:142–8.
- [29] An Y, Yan X, Li B, Li Y. Microencapsulation of capsanthin by self-emulsifying nanoemulsions and stability evaluation. *European Food Research and Technology* 2014;239:1077–85.
- [30] Chan E-S. Preparation of Ca-alginate beads containing high oil content: Influence of process variables on encapsulation efficiency and bead properties. *Carbohydrate Polymers* 2011;84:1267–75.
- [31] Jafari SM, McClements DJ. Nanoemulsions: Formulation, Applications, and Characterization. Academic Press; 2018.
- [32] Gutiérrez JM, González C, Maestro A, Solč I, Pey CM, Nolla J. Nano-emulsions: New applications and optimization of their preparation. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* 2008;13:245–51.



## A systematic investigation of $\beta$ -carotene-loaded quince seed mucilage nanoemulsions

Rostamabadi, H. <sup>1</sup>, Sadeghi Mahoonak, A. <sup>2\*</sup>, Ghorbani, <sup>2</sup>, Allafchian, A. <sup>3</sup>

1. Ph.D. student, Faculty of Food Science and Technology, Gorgan university of agriculture and natural resources, Gorgan, Iran.
2. Associate professor, Faculty of Food Science and Technology, Gorgan university of agriculture and natural resources, Gorgan, Iran.
3. Assistant professor, Research Institute for Nanotechnology and Advanced Materials, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

### ABSTRACT

$\beta$ -carotene, the most popular member of carotenoids with pro-vitamin A function, plays an important role in prevention of different disorders such as cancer, type 2 diabetes, and cardio-vascular diseases. Nanoencapsulation is one of the most effectual techniques for incorporation of  $\beta$ -carotene into the food formulations in order to improve its antioxidant activity and physicochemical stability. In this study, quince seed mucilage was used as the aqueous phase of carotenoid emulsions. In order to attain a deep understanding of  $\beta$ -carotene loaded nanoemulsions, the impact of different  $\beta$ -carotene concentrations on physicochemical characteristics of produced emulsions (i. e. zeta potential, particle size, electrical conductivity, dynamic rheological properties, surface tension, and antioxidant activity) were investigated. The results revealed that increasing the  $\beta$ -carotene concentration would result in an increase in viscosity, droplet size, antioxidant activity, and zeta potential of produced nanoemulsions. While a reverse trend was observed in the case of electrical conductivity. Generally, the results indicated that the anionic quince seed mucilage effectively improved the  $\beta$ -carotene physicochemical stability.

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received 2019/ 04/ 27

Accepted 2019/ 12/ 29

#### Keywords:

$\beta$ -carotene,  
Quince seed mucilage,  
Nanoemulsion,  
Physicochemical stability,  
Antioxidant activity.

**DOI:** 10.52547/fsct.18.121.26

**DOR:** 20.1001.1.20088787.1400.18.121.3.7

\*Corresponding Author E-Mail:  
sadeghiaz@yahoo.com