



تهیه و بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نانوامولسیون‌های تهیه شده بر پایه روغن زیتون به منظور

درون پوشانی فیتواسترونها

حسن بنی تمیم^۱، عاطفه پورجاهد^{۲*}، صفورا کریمی^۳، محمدرضا عصار^۴

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی جندی شاپور دزفول، خوزستان، ایران.

۲- استادیار، مهندسی پزشکی گرایش بیومواد، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی جندی شاپور دزفول، خوزستان، ایران.

۳- استادیار، مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی جندی شاپور دزفول، خوزستان، ایران.

۴- دانشیار، مهندسی مکانیک، دانشکده مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی جندی شاپور دزفول، خوزستان، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۱۹

از جمله مشکلات اساسی در غنی سازی مواد غذایی با فیتواسترونها، نقطه ذوب بالا، طعم و مزه گچی و حلالیت پایین آن‌ها است که یکی از راه‌های غلبه بر این مشکلات استفاده از یک ماده پوششی مناسب و درون پوشانی فیتواسترونها است. در این پژوهش، برای درون پوشانی فیتواسترونها از روغن زیتون، به دلیل مزایای تغذیه ای بالا و به روش نانوامولسیون سازی استفاده شد. به منظور بهینه سازی شرایط درون پوشانی، درصد روغن زیتون (فاز روغنی)، درصد سدیم دودوسیل سولفات (سورفکتانت) و ژلاتین (به عنوان پایدار کننده) متغیرهای مستقل و اندازه ذره به عنوان پاسخ در نظر گرفته شد. با طراحی آزمایش به وسیله نرم افزار مینی تب با استفاده از روش سطح پاسخ RMS و با استفاده از طرح Box-Behnken شرایط آزمایش تعیین شدند. دو فرمولاسیون (۳/۷، ۷/۱) و (۹۰، ۳/۷، ۷/۹) به دلیل داشتن کمترین اندازه ذره (۱۰۳-۱۰۵) نانومتر به عنوان شرایط مناسب و تجربی نانوامولسیون سازی جهت درون پوشانی فیتواسترونها انتخاب شدند. نتایج بعد از درون پوشانی نشان داد که اندازه ذرات، pH، ویسکوزیته، کشش سطحی و پایداری فیزیکی نانوامولسیون‌ها بهترین شرایط را برای کاربرد آن‌ها به دست می‌دهد. در نهایت فرمولاسیون (۳/۷، ۷/۱) و (۹۰، ۳/۷، ۷/۱) بعد از درون پوشانی به دلیل خصوصیات فیزیکی و شیمیایی مناسب، پایداری بیشتر و اندازه ذره ۱۱۲ نانومتر به عنوان بهترین فرمولاسیون برای درون پوشانی فیتواسترونها انتخاب شد.

کلمات کلیدی:

فیتواسترونها،

ریزپوشانی،

سطح پاسخ.

DOI: 10.22034/FSCT.19.128.303

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.128.6.1

* مسئول مکاتبات:

atpourjahed@jsu.ac.ir

۱- مقدمه

فیتواستروئول‌ها گروه متنوعی از ترکیبات طبیعی متعلق به گروه تریترین هستند که اجزای مهم ساختاری غشاهای گیاهی را تشکیل می‌دهند. رایج‌ترین فیتواستروئول موجود در طبیعت بتاسیتواستروئول، کامپستروئولوستیگما استروئول هستند [۱]. فیتواستروئول‌ها در بسیاری از زمینه‌ها مانند داروسازی (تولید استروئیدهای درمانی)، تغذیه و لوازم آرایشی نقش مهمی دارند. به دلیل مزایای سلامتی آن‌ها، معمولاً به عنوان یک افزودنی با ارزش در صنایع غذایی و آرایشی استفاده می‌شود [۲]. فراهمی زیستی فیتواستروئول‌ها به دلیل حلالیت کم در آب و نقطه ذوب زیاد آن‌ها بسیار کم است و فقط ۵ درصد از آن‌ها در بدن انسان جذب می‌شوند. بنابراین، مصرف توصیه شده روزانه فیتواستروئول (۳-۱ گرم در روز) برای تأمین فواید سلامتی آن‌ها به سختی طریق رژیم روزانه دریافت می‌شود [۳]. غنی سازی غذاها با این ماده فعال زیستی با ارزش می‌تواند راهی موثر برای رساندن میزان توصیه شده آن‌ها به بدن باشد. با این حال، چالش‌های زیادی در این زمینه وجود دارد که باید برطرف شوند، از جمله نقطه ذوب بالای فیتواستروئول که منجر به ساختار بلوری آن شده و باعث می‌شود در محیط‌های آبی محلول نباشد [۴]. یک راه کار برای افزایش حلالیت و پراکندگی فیتواستروئول‌ها، درون‌پوشانی آن‌ها به روش نانوامولسیون‌سازی است. امروزه، فناوری نانو با قرار دادن ذرات در سیستم‌های انتقال کلوئیدی به یکی از امیدوار کننده‌ترین و جالب‌ترین رویکردها برای افزایش حلالیت در آب و فراهمی زیستی فیتواستروئول‌ها تبدیل شده است [۵]. اصولاً نانوامولسیون‌ها، به واسطه اندازه ویژه، ظاهری شفاف یا نیمه‌شفاف دارند و به لحاظ توزیع اندازه قطرات از پایداری سینتیکی بالا، گرانی کم، و پایداری بالا در برابر پدیده‌های رسوب‌دهی، خامه‌ای شدن، به هم پیوستن و لخته شدن برخوردارند و به همین دلیل امروزه برای کاربردهای صنعتی فراوانی مورد توجه قرار گرفته‌اند. در پژوهشی که خالدی و همکاران در سال ۲۰۱۷ منتشر کردند، بتاسیتواستروئول و γ اوریزانول را با استفاده از روش نانوامولسیون‌سازی درون‌پوشانی کردند. آن‌ها از پلی‌سوربات ۲۰ به عنوان سورفکتانت و از زنجیره متوسط روغن تری‌گلسیرید به عنوان فاز روغنی و از آب به عنوان فاز آبی برای تولید نانو حامل خود استفاده کردند. آن‌ها با افزودن بتاسیتواستروئول و γ اوریزانول به پراکندگی واحد با درصد بالایی از پایداری و درون‌پوشانی رسیدند [۶]. آسیدو و استوپیان و همکاران، بتاسیتواستروئول را با

استفاده از نانوامولسیون سازی درون‌پوشانی کردند. آن‌ها از لیزوفسفاتیدیل کولین^۱ و فسفاتیدیل کولین^۲ به عنوان سورفکتانت و از تری‌گلسیرید با زنجیره متوسط به عنوان فاز روغنی و از آب به عنوان فاز آبی استفاده کردند [۷]. زاگوفسکی و همکاران در سال ۲۰۱۹ نیز بتاسیتواستروئول را با استفاده از نانوامولسیون‌سازی درون‌پوشانی کردند؛ موادی که آن‌ها برای تولید نانو حامل خود استفاده کردند، عبارت از ۱۰ درصد چربی شیر بی‌آب با درجه تجاری: ۱ درصد پروتئین مایه پنیر: ۸۹ درصد آب بود. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که پایداری نانوامولسیون‌های آماده شده با اضافه کردن فیتواستروئول‌ها و پروتئین مایه پنیر به طور همزمان نسبت به زمانی که به طور جداگانه اضافه شدند، افزایش یافت [۸].

به طور کلی در کاربردهای غذایی برای تهیه نانوامولسیون‌ها، برای فاز روغنی از تری‌اسیل گلیسرول‌ها مانند روغن ذرت، سویا، آفتابگردان، زیتون، بذرکنان و روغن ماهی استفاده می‌شود [۹]. فاز آبی مورد استفاده در تولید نانوامولسیون‌ها، نیز عمدتاً آب است که می‌تواند حاوی ترکیبات قطبی، حلال‌ها (مانند الکل‌ها و پلی‌ال‌ها)، اصلاح‌کننده‌های بافت شامل کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها (جهت تغلیظ فاز آبی و افزایش پایداری سیستم)، مواد معدنی، اسیدها و بازها باشد [۱۰]. علاوه بر آن از سورفکتانت استفاده می‌شود تا از تراکم و تجمع قطرات در هنگام تشکیل نانوامولسیون جلوگیری شود [۱۱]. در این تحقیق از سدیم دودوسیل سولفات (SDS) به عنوان سورفکتانت استفاده شد. سدیم دودوسیل سولفات (SDS) امروزه در مقدار کنترل شده به عنوان یک ماده ایمن و سالم که کاربرد آن در سلامتی انسان اختلالی ایجاد نمی‌کند، معرفی شده است [۱۲]. در مطالعه‌ای که توسط پریو و کالوو انجام شد، میکروامولسیون‌هایی برپایه توئین ۸۰ که یک سورفکتانت غیر یونی، غیرسمی و زیست سازگار است، با هدف کاربرد در تهیه داروها آماده شد. نتایج، پایداری بالای این نانوامولسیون‌ها را نشان داد. وجود یک الکل به عنوان کوسورفکتانت موجب بهبود انحلال پذیری سورفکتانت در فاز روغنی شد و ویسکوزیته مخلوط را کاهش داد که منجر به فعالیت سطحی بهتر گردید [۱۳]. پایداری امولسیون‌ها را می‌توان با افزودن پایدار کننده‌ها که در بسیاری از مواقع و به خصوص در سیستم‌های خوراکی می‌توانند بیوپلیمرها باشند، افزایش داد [۱۴]. در این بین پروتئین‌ها نقش مهمی ایفا می‌کنند چرا که قادر هستند

1. 1.ysoosphatidincholin
2. phosphatidylcholine

نیروی جاذبه بین قطرات را کاهش داده و حرکت قطرات فاز پخش شونده در نقاط مختلف امولسیون را به تعویق اندازند. ژلاتین یکی دیگر از پروتئین‌های پرمصرف در زمینه تولید امولسیون‌ها و درون‌پوشانی ترکیبات مختلف است و دلایل استفاده از آن، خصوصیات امولسیفایری مناسب، حلالیت در آب، تشکیل فیلم مناسب و خوراکی بودن آن است [۱۴]. هدف اصلی پژوهش حاضر تهیه نانوامولسیونی بهینه با روغن زیتون است، برای این منظور از سدیم دودسیل سولفات، آب و ژلاتین به عنوان پایدارکننده، برای درون‌پوشانی فیتواسترول‌ها و دستیابی به پراکندگی مناسب آنها استفاده شد. برای دستیابی به بهترین ترکیب برای درون‌پوشانی ابتدا از روش سطح پاسخ^۳ در نرم افزار Minitab 18 برای طراحی آزمایش و انتخاب بهترین نمونه از نظر اندازه ذره استفاده شد. سپس فیتواسترول محلول در اتانول به نمونه‌های بهینه اضافه شد. میانگین قطر حجمی ذرات، ویسکوزیته، pH، کشش سطحی و پایداری فیزیکی به عنوان پارامترهای مهم مورد بررسی قرار گرفتند. در ادامه روش انجام کار و نتایج بدست آمده ارائه شده است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

در تهیه نانوامولسیون‌ها از روغن زیتون تصفیه شده شرکت مهرام ایران استفاد شد. سدیم دودسیل سولفات (SDS) تهیه شده از کمپانی کانادایی QUELAB، به عنوان سورفکتانت، از اتانول شرکت مرک آلمان به عنوان کمک حلال برای حل کردن فیتواسترول و آب دوبار تقطیر محصول زلال طب شیمی ایران به عنوان فاز آبی استفاده شد. ژلاتین تهیه شده از کمپانی کانادایی QUELAB به عنوان پایدار کننده انتخاب شد. فیتواسترول متشکل از بتاستیواسترول از Sigma-Aldrich، آلمان، خریداری شد.

۲-۲- تهیه نانو امولسیون‌ها

برای تهیه نانوامولسیون‌ها به روش پورجاهد و عباسی، ۱۳۹۸ استفاده شد [۱۵]. نانوامولسیون روغن در آب در حجم ۵۰ میلی لیتر و در دو مرحله تهیه شد. برای تهیه محلول اولیه ابتدا SDS در درصدهای مختلف (۳/۱٪، ۳/۷٪، ۴/۳٪ وزنی/وزنی) به آب دیونیزه اضافه شد. عمل اضافه کردن و همزنی SDS به آب به

آرامی و با استفاده از هیترهمزن (مدل H0101) ساخت شرکت ایران صفحه گرد انجام شد؛ سپس فاز روغنی در درصدهای مختلف (۸/۷٪، ۷/۹٪، ۷/۱٪ وزنی/وزنی) به آرامی و به مدت ۵ دقیقه در حین عمل همزدن اضافه شد. لازم به ذکر است که انتخاب مقدار آب دیونیزه برای تهیه نانوامولسیون به صورت درصدی از مجموع آب، روغن و SDS است. سپس برای کاهش اندازه ذره امولسیون تهیه شده از دستگاه همگن‌ساز مافوق صوت مدل UHP-400 محصول شرکت توسعه فناوری مافوق صوت ایران استفاده شد. این دستگاه دارای توان ۴۰۰ وات بوده و زمان هر پالس ۶۰ ثانیه است. برای کاهش اندازه ذره دستگاه درتوان ۲۵۰ وات و مدت زمان هم‌وزنی‌سازی ۱۰ دقیقه و شرایط دمایی کنترل شده (۳۰ ± ۵) درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. از آن جایی که تولید انرژی توسط امواج مافوق صوت ممکن است به ساختار نانوامولسیون آسیب برساند، از حمام آب یخ برای حفاظت از آنها استفاده شد، و در ضمن بازه‌های توقف بین پالس‌ها سه ثانیه بود. همچنین پروب مافوق صوت در امولسیون نزدیک سطح محلول نگه داشته شد تا تمام امولسیون‌ها به طور مساوی امواج مافوق صوت دریافت کنند. برای افزایش پایداری نانوامولسیون تهیه شده محلول ژلاتین نیز در غلظت‌های مختلف (۰/۰۸، ۰/۰۹، ۰/۱) گرم (در لیتر) در آب دیونیزه تهیه شد. اضافه کردن ژلاتین به آب دیونیزه به آرامی (برای جلوگیری از کلوخه شدن) و با استفاده از همزن مغناطیسی تحت شرایط دمایی کنترل شده (۵۰ ± ۵) درجه سانتی‌گراد انجام شد. سپس محلول پیوسته و شفاف ژلاتین به نانوامولسیون اولیه اضافه و سپس به مدت پنج دقیقه و در توان ۲۵۰ وات و تحت شرایط دمایی کنترل شده (۳۰ ± ۵) درجه سانتی‌گراد در دستگاه همگن‌ساز مافوق صوت قرار داده شد تا نانوامولسیون نهایی تهیه شود. با توجه به حلالیت پایین فیتواسترول در آب برای اضافه کردن آن به نانوامولسیون‌های نهایی و درون پوشانی، در اتانول ۹۹ درصد حل شد. محلول فیتواسترول دارای غلظتی برابر ۱۴ درصد وزنی/وزنی از نمونه نانوامولسیون است.

۲-۳- طراحی آزمایش

در این آزمایش از روش سطح پاسخ و از نوع BBD^۴ در نرم افزار Minitab 18 برای طراحی آزمایش استفاده شد. در این طراحی سه پارامتر درصد روغن به عنوان فاز روغنی (X_1)، درصد SDS (X_2) به عنوان سورفکتانت، و غلظت ژلاتین (X_3)

مهمترین پارامتر در آزمایشات اندازه ذرات نانوامولسیون سنتز شده است که به عنوان پاسخ در نظر گرفته شده است. تجزیه و تحلیل آماری و رسم نمودارها در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام شد؛ تمامی آزمایشها در حداقل سه تکرار انجام شدند. معنی دار بودن هریک از ضرایب مدل ارائه شده توسط نرم افزار، از طریق P-Value بررسی شد.

به عنوان پایدار کننده در سه سطح بالا (+1)، متوسط (0) و پایین (-1) به عنوان عوامل تاثیرگذار بر اندازه ذره و پایداری نانوامولسیونهای سنتز شده مورد بررسی قرار گرفتند. مقدار روغن بین ۷/۱ تا ۸/۷ درصد، مقدار سدیم دودوسیل سولفات بین ۳/۱ تا ۴/۳ درصد و غلظت ژلاتین بین ۸۰ تا ۱۰۰ گرم بر لیتر در نظر گرفته شد. سطوح متغیرها در جدول (۱) نشان داده شده است.

Table 1 Selected levels and codes related to oil percentage, percentage (SDS) and gelatin percentage used for box-behnkhn design.

Parameters	Code values Symbol	Symbol of real values	level		
			-1	0	+1
Oil(%)	X ₁	X ₁	7/1	7/9	8/7
SDS(%)	X ₂	X ₂	3/1	3/7	4/3
Galatine(gr/l)	X ₃	X ₃	80	90	100

روش سقوطی^۵ انجام شده است. مقدار نمونه مورد نیاز برای تزریق در دستگاه ۵ میلی لیتر و محدوده اندازه گیری آن بین ۲۵۰۰-۰/۳ میلی پاسکال در ثانیه است. همه اندازه گیریها سه بار تکرار و متوسط مقادیر برای هر نمونه ثبت شد.

۲-۷- اندازه گیری کشش سطحی

کشش سطحی نانوامولسیونها بهینه قبل و بعد از درون پوشانی در ۲۰ درجه سانتی گراد با استفاده از دستگاه اندازه گیری نوری زاویه تماس مدل OCA20 کمپانی Physics Data محصول کشور آلمان و به روش قطره معلق^۶ انجام شد. همه اندازه گیریها سه بار تکرار شدند و متوسط آنها برای هر نمونه گزارش شد.

۲-۸- تعیین پایداری فیزیکی

پایداری نانوامولسیونها به روش مشاهداتی و مطابق با پژوهش پورجاهد و عباسی، ۱۳۹۸ بررسی شد [۱۵]. نانوامولسیونها در دماهای مختلف ۴ و ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند و جدایش فازی، تجمع و رسوب دهی آن ها هم به روش مشاهداتی و هم به کمک بررسی میانگین قطر حجمی ذرات بررسی شد. اندازه قطر حجمی چهار نمونه نانوامولسیونها در زمان ۳۰ روز پس از سنتز و با شرایط نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس بررسی گردید با افزایش قطر حجمی ذرات تجمع و رسوب دهی افزایش و میزان پایداری امولسیونها کاهش پیدا کرد.

مقادیری که ارزش بالاتر از ۰/۰۵ داشتند، معنی دار نبوده و از مدل حذف شدند. کیفیت مدل از طریق بررسی ضرایب تعیین (R²) تنظیم شده و پیش بینی شده، مورد بررسی قرار گرفت. همچنین برای بررسی گرافیکی و سه بعدی متغیرهای مستقل بر پاسخ از طرح های سه بعدی شد.

۲-۴- تعیین اندازه ذره

میانگین قطر حجمی ذرات نمونهها در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به کمک دستگاه NanoTEC - Fretsch Co ساخت کشور آلمان انجام شد. تفسیر نتایج با بهترین کیفیت و با جدیدترین روشها انجام شد. حداقل نمونه لازم متناسب با هموزن بودن اندازه ذرات متغیر است. با عبور نور لیزر از نمونه نتایج به وسیله نرم افزار ثبت شد. نتایج به صورت نمودار که توزیع اندازه ذره بر حسب فراوانی آنها ثبت شدند [۱۶].

۲-۵- اندازه گیری pH

مقدار pH برای نانوامولسیون بهینه قبل و بعد از درون پوشانی در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد با استفاده از دستگاه pH متر محصول کمپانی Metrohm مدل ۷۸۰ ساخت کشور سوئیس اندازه گیری شد. همه اندازه گیریها سه بار تکرار شد و متوسط اندازه pH برای نمونهها ثبت شد.

۲-۶- اندازه گیری ویسکوزیته

ویسکوزیته نانوامولسیون بهینه قبل و بعد از درون پوشانی در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد با استفاده از دستگاه اندازه گیری ویسکوزیته مدل AMVn کمپانی Anton paar محصول کشور آلمان و به

5. Falling ball

6. Pendant drop

۳- نتایج و بحث

معادله (۱)، مدل درجه دوم حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده است که به منظور پیش‌بینی متوسط اندازه ذره نانوامولسیون‌های سنتز شده به وسیله روش نانوامولسیون‌ها سازی به کمک سورفکتانت SDS به عنوان تابعی از سه متغیر مستقل درصد روغن، درصد SDS و غلظت ژلاتین است. بزرگی هر یک از ضرایب این متغیرها در رابطه چند جمله‌ای صرف نظر از مثبت و یا منفی بودن نشان بیانگر اهمیت ضرایب مربوطه در تغییرات پاسخ است. برای نوشتن معادله چند جمله‌ای رگرسیون Y به عنوان پاسخ و متغیر وابسته و سایر پارامترها به عنوان متغیر مستقل در نظر گرفته شدند.

$$Y = -30/94 + 16/43 X_1 - 1/37 X_2 - 0/757 X_3 - 0/084 X_1 X_2 + 0/0875 X_2 X_3 - 0/515 X_1 X_2 + 0/1025 X_2 + 0/00578 X_3$$

نتایج به دست آمده از برازش مدل در جدول (۳) آورده شده است. صحت روش برازش با استفاده از ضرایب تعیین (R^2) تنظیم شده و پیش‌بینی شده بررسی شد. که به ترتیب $pred = 99/9$ و $R^2_{adj} = 99/94$ بدست آمد. نزدیک شدن ضریب تعیین به یک به معنی صحت بالای مدل است و به این معناست که بیش از ۹۹ درصد از تغییرات به متغیرهای مستقل مربوط می‌شود. و کمتر از ۱ درصد آن تغییرات غیرقابل توجیه است. مطابق جدول (۳) علاوه بر آن R^2 پیش‌بینی شده در توافق قابل قبولی با R^2 تنظیم شده است و نشان دهنده تطابق مدل تجربی با داده‌های واقعی است [۱۸].

شماره هر آزمایش و مقدار هر کدام از متغیرهای عملیاتی برای آن آزمایش به همراه نتایج آزمایشگاهی در جدول ۲ آورده شده است. همان طور که در جدول نشان داده شده است، اندازه ذره بین ۱۴۸-۱۰۱ نانومتر بسته به شرایط عملیاتی هر آزمایش متغیر است در جدول (۳) نتایج تحلیل آماری به همراه ضرایب رگرسیون برای هر کدام از آزمایشات نشان داده شده است. از جدول آنالیز واریانس (۳) برای بررسی معنی‌دار بودن یا نبودن پارامترهای مدل استفاده شد. نتایج آنالیز واریانس نشان می‌دهد که مقدار F-Value مدل برای تمامی متغیرها معنی‌دار بود و برای هر پارامتری $p < 0/05$ و $F > 0/05$ آن نشانه معنی‌دار بودن آن ضریب رگرسیونی بود [۱۷]. همچنین اثرات خطی درصد روغن، درصد SDS و غلظت ژلاتین معنی‌دار بوده است ($p < 0/05$). همچنین اثرات تعامل‌های دو پارامتری بین درصد ژلاتین و SDS و تعامل بین درصد روغن و غلظت ژلاتین معنی‌دار بود ($p < 0/05$); در حالی که تعامل بین درصد روغن و درصد SDS معنی‌دار نبود ($p > 0/05$). علاوه بر پارامترهای خطی و دوجزئی بررسی شده توان دوم پارامترهای درصد روغن، درصد SDS و غلظت ژلاتین معنی‌دار بود. معنی‌دار بودن هر یک از پارامترها و تعامل‌ها باعث وارد شدن اثر آن‌ها در معادله رگرسیون می‌شود. تعامل دو پارامتری بین درصد SDS و غلظت ژلاتین به دلیل معنی‌دار نبودن ($p < 0/05$) وارد معادله رگرسیون نشد.

Table 2 BOX-BEHNKEN design matrix and results obtained from particle size in nanoemulsion method

Experiment number	Independent number						Response (Y)
	x_1	X_1	x_2	X_2	x_3	X_3	
1	0	7/9	0	3/7	0	90	143
2	0	7/9	0	3/7	0	90	145
3	1	7/1	-1	3/7	0	90	103
4	1	8/7	0	3/7	1	100	138
5	-1	8/7	0	3/1	1	100	106
6	0	7/9	1	4/3	1	100	139
7	-1	7/1	-1	3/1	0	90	109
8	1	7/9	-1	3/7	-1	80	105
9	1	8/7	0	3/7	-1	80	148
10	0	7/9	1	4/3	-1	80	139
11	0	7/9	-1	3/1	1	100	108
12	-1	7/1	0	3/7	-1	80	103
13	0	7/9	1	3/7	0	90	143
14	1	8/7	1	4/3	0	90	107
15	-1	7/1	1	4/3	0	90	110

Table 3 Results of analysis of variance (ANOVA) in model particle size fitting in nanoemulsion metho

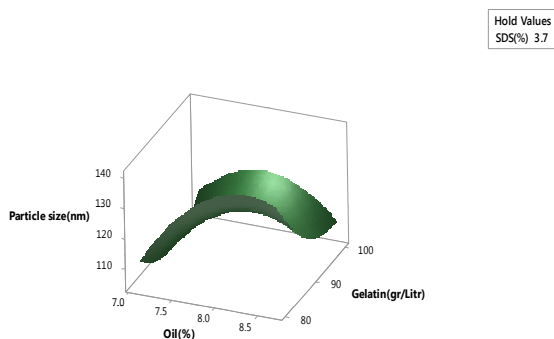
Source	Degrees of Freedom	Sum of squares	Average of Squares	F Value	P value
Model	9	0/15614	0/00173	254918	0/000
X ₁	1	0/00275	0/00275	378/19	0/000
X ₂	1	0/00123	0/00129	190/85	0/000
X ₃	1	0/00901	0/00901	1324/10	0/000
X ₁ X ₁	1	0/092375	0/092375	13570/72	0/000
X ₂ X ₂	1	0/037581	0/037581	5521/92	0/000
X ₃ X ₃	1	0/014537	0/014537	2136/03	0/000
X ₁ X ₂	1	0/000041	0/000041	6/07	0/000
X ₁ X ₃	1	0/000825	0/000825	121/23	0/0057
X ₂ X ₃	1	0/013487	0/013487	1981/76	
Lack Of fit	3	0/000034	0/000011		
Net error	2	0/000	0/000		
Total	14	0/156173			
P<0/05	Significant				
p>0/05	Not Significant				

۳-۱- بررسی تاثیر متغیرهای مستقل بر اندازه ذره

نتایج مدل‌سازی ارائه شده در جدول ۳ نشان می‌دهد که افزودن روغن به سامانه نانوامولسیون‌ها تاثیر مثبت و مستقیمی بر قطر ذرات دارد، این در حالی است که افزودن SDS و ژلاتین تاثیر منفی بر روی قطر ذرات دارد. هم چنین ترم‌های درجه دوم درصد روغن و SDS تاثیر منفی بر روی اندازه ذره دارند و ترم درجه دوم ژلاتین تاثیر مثبت و مستقیم بر روی اندازه ذره دارند. علاوه بر موارد فوق تاثیر برهم‌کنش‌های دوتایی بین روغن و SDS و روغن و ژلاتین بر روی اندازه ذره سنتز شده، منفی است؛ این در حالی است که برهم‌کنش دوتایی SDS و ژلاتین تاثیر مستقیم و مثبت بر روی پاسخ دارد. با توجه به اینکه پایداری نانوامولسیون‌ها با اندازه ذره آن‌ها رابطه مستقیم دارد و هرچه اندازه ذره کوچک‌تر باشد، نانوامولسیون‌ها پایداری بیشتری دارند، پس تاثیر مثبت و مستقیم هریک از پارامترها و تعامل‌های دوجزیی باعث بزرگ‌تر شدن ذرات و منفی شدن آن‌ها باعث کوچک شدن ذرات می‌شود. پس در این پژوهش عواملی که تاثیر منفی بر اندازه ذره دارند، مطلوب هستند. تاثیر مثبت درصد روغن با اندازه ذرات امولسیون را می‌توان این گونه توضیح داد که احتمالاً در غلظت‌های بالای روغن، سورفکتانت کافی برای پوشاندن ذرات روغن تازه شکل گرفته وجود ندارد. در نتیجه ذرات جدید شکل گرفته، به یکدیگر پیوسته و ذرات بزرگ‌تری را ایجاد می‌کند. از سوی دیگر افزایش غلظت روغن باعث

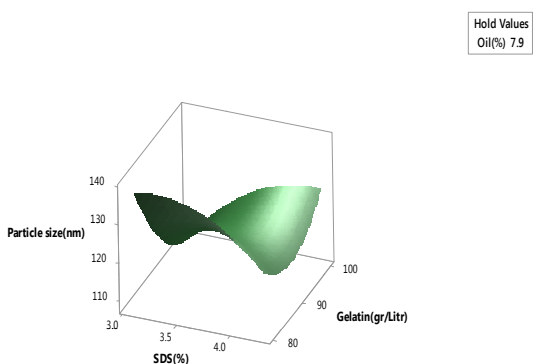
افزایش ویسکوزیته فاز پراکنده شده و سبب کاهش نرخ برش در طول فرایند همگن‌سازی و نهایتاً کاهش کارایی فرایند و ایجاد ذرات بزرگ‌تر می‌شود. با توجه به اینکه در این تحقیق زمان همگن‌سازی ثابت در نظر گرفته شده است، پس عامل دیگر را می‌توان این گونه توضیح داد که این احتمال وجود دارد که با افزایش زمان همگن‌سازی ذرات شکسته شده، روغن فرصت بیشتری خواهد داشت تا توسط سورفکتانت پوشیده شده و در نتیجه از افزایش قطر ذرات جلوگیری شود. این در حالی است که کافی نبودن زمان همگن‌سازی سبب به هم پیوستن مجدد قطرات تازه شکل گرفته و در نهایت منجر به شکل‌گیری ذرات روغن با قطر بیشتر خواهد شد. مشابه این نتایج را [۱۹، ۲۰] در مطالعه تاثیر میزان صمغ فارسی، روغن، پروتئین و pH بر پایداری امولسیون‌های تهیه شده با فراصوت مشاهده کردند. هم چنین در غلظت‌های بالای روغن احتمالاً ژلاتین کافی برای نگه داشتن ذرات روغن به صورت پراکنده وجود ندارد. بنابراین در طی مدت زمان کوتاهی فازها جدا می‌شوند. در توجیه این مساله می‌توان این طور نشان داد که با کاهش فاصله قطرات به کم‌تر از دو برابر شعاع قطرات نانوامولسیون‌ها نیروی جاذب به حداکثر می‌رسد که به دنبال آن به هم پیوستگی قطرات اتفاق می‌افتد. تفسیر دیگر در این رابطه را می‌توان به زیاد بودن نیروی جاذب در غلظت‌های بالای روغن نسبت داد به گونه‌ای که این امر باعث افزایش تعداد برخوردها بین قطرات روغن و بزرگ شدن قطرات شود.

Surface Plot of Particle size(nm) vs Gelatin(gr/Litr), Oil(%)



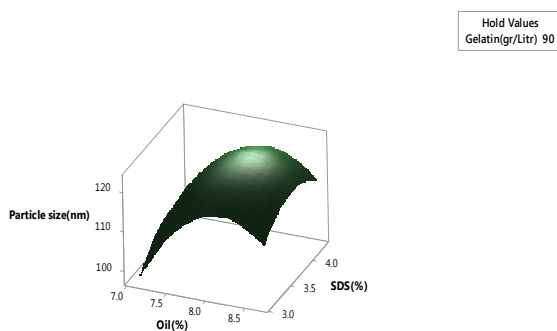
(a)

Surface Plot of Particle size(nm) vs Gelatin(gr/Litr), SDS(%)



(b)

Surface Plot of Particle size(nm) vs SDS(%), Oil(%)



(c)

Fig 1 Response surface diagrams for the effect of independent variables on particle size: a) Gelatin concentration and oil percentage b) Gelatin concentration and SDS percentage c) Oil percentage and SDS percentage

به طور کلی مطابق نتایج بدست آمده روغن از دو پارامتر دیگر بیشترین تاثیر را بر اندازه ذرات دارد و بعد از آن سورفکتانت SDS بیشترین تاثیر را دارد که با افزایش آن اندازه ذرات کوچک می شود. شکسته شدن قطرات، به وسیله نوع و میزان نیروی برش به کار رفته و مقاومت قطرات به شکسته شدن (فشار لاپلاس) که توسط سورفکتانت تعیین می شود، کنترل می شود [۲۰]. نرخ به هم پیوستگی قطرات (که به پایداری قطرات مربوط می شود)، به وسیله توانایی سورفکتانت برای جذب سریع به سطح قطرات تازه شکل گرفته بستگی دارد، که این رخداد به وسیله فعالیت سطحی و غلظت سورفکتانت تعیین می گردد. در مورد کاهش قطر ذرات تشکیل دهنده امولسیون با افزایش غلظت سورفکتانت های به کار برده شده می توان این گونه توضیح داد که با افزایش غلظت آن ها، احتمال پوشش قطرات فاز پراکنده به وسیله سورفکتانت مورد استفاده (SDS) افزایش می یابد. در نتیجه ذراتی که در زمان همگن سازی کوچک شده اند، در غلظت های بالاتر سورفکتانت های بهتر پوشش داده می شوند [۱۸]. البته باید توجه داشت که افزایش بیش از اندازه سورفکتانت سیستم را آب گریز می کند که این نتیجه در مطالعات قبل نیز تایید شده است [۲۱].

پارامتر بعدی که بر قطر ذرات موثر است غلظت ژلاتین است. در واقع پایداری امولسیون ها را می توان با افزودن پایدارکننده ها که در بسیاری از مواقع و بخصوص در سیستم های خوراکی می توانند بیوپلیمرها باشند، افزایش داد [۲۱]. در این بین پروتئین ها نقش مهمی ایفا می کنند زیرا قادر هستند با اتصال کردن به فاز پراکنده و تشکیل فیلم از به هم پیوستن قطرات جلوگیری کنند. ژلاتین یکی از پروتئین های پرمصرف در زمینه تولید امولسیون ها و درون پوشانی ترکیبات مختلف است و دلایل آن خصوصیات امولسیفایری مناسب، حلالیت در آب، تشکیل فیلم مناسب و خوراکی بودن آن است [۱۴]. در این مطالعه افزودن ژلاتین بر پایداری امولسیون ها معنی دار بود ($p < 0.05$).

۳-۲- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی

نانوامولسیون‌های بهینه قبل و بعد از درون‌پوشانی

همان طور که پیش از این توضیح داده شد، با طراحی آزمایش در نهایت نمونه‌های ۳ و ۸ به عنوان نمونه‌های بهینه و برای درون‌پوشانی فیتواسترول انتخاب شدند. در ادامه به بررسی و تحلیل خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن‌ها و مقایسه با قبل درون‌پوشانی می‌پردازیم.

۳-۲-۱- اندازه ذرات نانوامولسیون‌ها

بعد از درون‌پوشانی فیتواسترول‌ها اندازه ذره نمونه ۳ از ۱۰۳ نانومتر به ۱۱۲ نانومتر و نمونه ۸ از ۱۰۵ نانومتر به ۱۱۳ نانومتر افزایش یافتند. دلیل کوچک‌تر بودن اندازه ذره نمونه ۳ از نمونه ۸ قبل و بعد از درون‌پوشانی با توجه به نمودارهای سطح پاسخ را می‌توان به درصد پایین روغن و همچنین بالا بودن درصد ژلاتین در فرمولاسیون آن نسبت داد. افزایش اندازه ذره بعد از افزودن محلول فیتواسترول را می‌توان به افزایش ویسکوزیته با توجه به جدول (۴) نسبت داد.

در واقع کلیه امولسیون‌ها سیستم‌های ناپایداری هستند که در آنها قطرات فاز پخش شونده تمایل نزدیک شدن به یکدیگر و تشکیل لایه‌های جدا از امولسیون را دارند. این پدیده را می‌توان با تثبیت قطرات در نقاط مختلف امولسیون به تعویق انداخت. ژلاتین در سطح مشترک فاز پیوسته و پراکنده جذب شده و موجب افزایش نیروهای دفعی الکترواستاتیکی بین قطرات شده و همچنین با تغییر خواص رئولوژیکی محیط مانند افزایش ویسکوزیته می‌تواند حرکت قطرات به سمت یکدیگر را محدود کند. نتایج به دست آمده با پژوهش‌های محققین دیگر هم‌خوانی داشت [۲۲]. کوچک‌ترین اندازه ذره پایدار به دست آمده با توجه به جدول ۳ مربوط به فرمولاسیون نمونه شماره ۳ و ۸ با اندازه ذره ۱۰۳ و ۱۰۵ نانومتر است که برای درون‌پوشانی فیتواسترول انتخاب شدند. در شکل (۱) تغییرات متغیر پاسخ (اندازه ذره) قبل از درون‌پوشانی به صورت سه بعدی بر حسب دو متغیر عملیاتی دیگر نشان داده شده است که به خوبی نشان دهنده تاثیر متغیرهای مستقل بر اندازه ذره است.

Table 4 Physical and chemical properties of optimized nanoemulsions before and after coating

	Sample 3 + Phytoestrol	Sample 3 - Phytoestrol	Sample 8 + Phytoestrol	Sample 8 -Phytoestrol
Oil(%)	7/1	7/1	7/9	7/9
SDS(%)	3/7	3/7	3/7	3/7
Gelatin(gr/l)	90	90	80	80
Phytoestrol(w/w)	14	-	14	-
Emulsion particle size(nm)	112	103	113	105
PH	7/1	6/35	7/6	7/11
Viscosity(cp)	70/37	60/0203	129/229	101/243
Surface tension(Nm/m)	35/12	33/11	35/50	33/88
Stability at 4 ° C(day)	15±1	14±1	14±1	13±1
Stability at 25 ° C(day)	30±1	30±1	29±1	29±1

نیاز دارد، که با افزایش زمان و توان آن می‌توان به قطرات کوچک‌تری دست یافت اما در این تحقیق زمان و توان همگن‌ساز ثابت در نظر گرفته شده است. در این تحقیق اضافه کردن فیتواسترول باعث افزایش اندازه ذره شد که با تحقیقات سایر محققین مطابقت داشت [۲۳]. با توجه به مطالعات پیشین در رابطه با درون‌پوشانی فیتواسترول انتظار داشتیم که اندازه ذره نانوامولسیون‌های حاوی فیتواسترول بزرگ‌تر از این مقدار باشد

در خصوص اطلاعات این جدول، لازم به ذکر است که داده‌ها مربوط به اطلاعات بهینه هستند که بر اساس حداقل اندازه ذرات انتخاب شده‌اند و همان طور که در جدول مشاهده می‌شود، دارای اختلاف معنی‌داری از این منظر نیستند و به عبارتی از نظر آماری همگی در یک گروه قرار می‌گیرند. افزایش ویسکوزیته تاثیر منفی بر عملکرد همگن‌سازی دارد به طوری که با افزایش فیتواسترول همگن‌سازی به انرژی بیشتری برای شکستن قطرات

نمونه ۳ قبل از درون‌پوشانی را می‌توان به درصد بالای روغن نسبت داد. مطالعه‌ی انجام شده توسط پورجاهد و عباسی، ۱۳۹۸ نشان داد که نانوامولسیون‌های حاوی ۵۰ درصد روغن، ویسکوزیته و کشش سطحی بیشتری نسبت به نانوامولسیون‌های با ۴۰ درصد روغن دارد. افزایش کشش سطحی نانوامولسیون‌ها بعد از درون‌پوشانی را نیز می‌توان به حلال اتانول نسبت داد. اتانول علاوه بر اینکه به انحلال فیتواستروئول کمک می‌کند قادر است به سطح مایسل متصل شده و خود را در بین سرهای سورفکتانت جایگذاری کنند. نفوذ الکل به فیلم سطحی، دافعه بین‌دم‌های آب‌گریز سورفکتانت را در سطح کاهش داده و موجب بهبود انحلال سورفکتانت در فاز روغنی می‌شود. افزایش طول زنجیره هیدروکربنی کوسورفکتانت فعالیت سطحی آن را افزایش داده و موجب پایداری بیشتر می‌شود. همچنین ویسکوزیته نانوامولسیون‌ها بعد از درون‌پوشانی افزایش یافت.

۳-۲-۴- پایداری فیزیکی نانو امولسیون‌های بهینه

تست پایداری فیزیکی نانوامولسیون‌های بهینه تجربی قبل از درون‌پوشانی به صورت مشاهداتی انجام شد و پایداری در دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد بررسی گردید؛ نتایج آزمون مشاهداتی تا قبل از دوفازی، و ته‌نشینی یا به هم چسبیدن و تجمع ذرات در جدول (۴) ارائه شده است.

مشاهدات نشان می‌دهد متوسط زمان پایداری نانوامولسیون‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد حدود ۲۷ تا ۲۸ روز و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد ۱۳ روز تا ۱۴ روز بود. همچنین پایداری نانوامولسیون‌ها بعد از درون‌پوشانی به دلیل وجود اتانول به عنوان کمک حلال و کوسورفکتانت برای حل کردن فیتواستروئول در دمای ۴ درجه به ۲۹ تا ۳۰ روز و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به ۱۴ تا ۱۵ روز افزایش یافت. وجود اتانول در مخلوط موجب پایداری بیشتر ساختار و انحلال بهتر فیتواستروئول در نانوامولسیون‌ها شد. در مطالعه [۲۴] در بررسی اثر فاز روغن و کوسورفکتانت بر روی سیستم‌های میکروامولسیون، پلی اتیلن گلايکول که از خانواده الکل‌ها بود در ترکیب با Birg 97 که یک سورفکتانت تک زنجیرای بود باعث وسیع شدن ناحیه میکروامولسیونی و پایداری بیشتر شد. کوسورفکتانت‌ها به طور قابل ملاحظه‌ای در سطح مشترک تجمع می‌کنند و با نفوذ در فیلم تماس سیالیت سورفکتانت را افزایش می‌دهند. حضور

که احتمالاً به دلیل استفاده از اتانول به عنوان کمک حلال برای حل کردن فیتواستروئول بود که قادر است به سطح مایسل متصل شده و خود را بین سرهای سورفکتانت جایگذاری کند و باعث بهبود انحلال روغن در سورفکتانت شود و باعث کنترل اندازه ذرات فیتواستروئول درون‌پوشانی شده شود [۱۵]. نتایج اندازه ذره قبل و بعد از درون‌پوشانی در جدول (۴) زیر ارائه شده است افزایش ویسکوزیته تاثیر منفی بر عملکرد همگن‌سازی دارد به طوری که با افزایش فیتواستروئول همگن‌سازی به انرژی بیشتری برای شکستن قطرات نیاز دارد، که با افزایش زمان و توان آن می‌توان به قطرات کوچک‌تری دست یافت اما در این تحقیق زمان و توان همگن‌ساز ثابت در نظر گرفته شده است. در این تحقیق اضافه کردن فیتواستروئول باعث افزایش اندازه ذره شد که با تحقیقات سایر محققین مطابقت داشت [۲۳].

۳-۲-۲- اندازه‌گیری PH نانوامولسیون‌های بهینه قبل و بعد از درون‌پوشانی

در جدول (۴) مقدار PH برای نانوامولسیون‌های بهینه قبل و بعد از درون‌پوشانی را آورده شده است. بالا بودن PH نانوامولسیون نمونه ۸ از نمونه ۳ قبل از درون‌پوشانی فیتواستروئول را می‌توان به درصد بالای روغن در آن نسبت داد. همچنین بالا رفتن PH نانوامولسیون‌ها بعد از درون‌پوشانی را می‌توان به حلال اتانول نسبت داد که برای حل کردن فیتواستروئول استفاده شد. اندازه‌گیری PH نمونه‌های نانوامولسیون نشان می‌دهد که تمامی نمونه‌ها دارای PH مناسب بوده که این اعداد PH بهترین شرایط برای کاربرد مورد نظر نانوامولسیون‌ها را فراهم می‌کند. در مطالعه‌ای که یوسفی و همکاران در زمینه تاثیر میزان روغن، صمغ فارسی و PH بر پایداری امولسیون‌های تهیه شده با دستگاه فراصوت داشتند، پایداری امولسیون‌ها را در PH برابر ۸، ۳/۵ و ۵ بررسی کردند و مشاهده کردند امولسیون‌های با PH ۸ از پایداری بهتری برخوردار هستند [۲۳].

۳-۲-۳- ویسکوزیته و کشش سطحی نانو امولسیون‌های بهینه قبل و بعد از درون‌پوشانی

میانگین ویسکوزیته و کشش سطحی نانوامولسیون‌های بهینه قبل و بعد از درون‌پوشانی در جدول (۴) آورده شده است. بالا بودن ویسکوزیته و کشش سطحی در نانوامولسیون نمونه ۸ نسبت به

۵- منابع

- [1] Larda, M. J., Garcia-Llatas, G., & Farre, R. (2006). Analysis of phytosterols in foods. [Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. *J Pharm Biomed Anal*, 41(5), 1486-1496.
- [2] Buic, P. J. (2001). The role of phytosterols and phytosterolins in immune modulation: a review of the past 10 years. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 4(6), 471-4752.
- [3] Ubeyitogullari, A., & Ciftci, O. N. (2019). In vitro bioaccessibility of novel low-crystallinity phytosterol nanoparticles in non-fat and regular-fat foods [Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S.]. *Food Res Int*, 123, 27-35.
- [4] Da Silva Santos, V., Braz, B. B., Silva, A. A., Cardoso, L. P., Ribeiro, A. P. B., & Santana, M. H. A. (2019). Nanostructured lipid carriers loaded with free phytosterols for food applications. *Food chemistry*, 298, 125053.
- [5] Joye, I. J., Davidov-Pardo, G., & McClements, D. J. (2014). Nanotechnology for increased micronutrient bioavailability. *Trends in food science technology*, 40(2), 168-182.
- [6] Khalid, N., Kobayashi, I., Neves, M. A., Uemura, K., Nakajima, M., & Nabetani, H. (2017). Encapsulation of β -sitosterol plus γ -oryzanol in O/W emulsions: Formulation characteristics and stability evaluation with microchannel emulsification. *Food and bioproducts processing*, 102, 222-232
- [7] Acevedo-Estupiñan, M. V., Gutierrez-Lopez, G. F., Cano-Sarmiento, C., Parra-Escudero, C. O., Rodriguez-Estrada, M. T., Garcia-Varela, R., & Garcia, H. S. (2019). Stability and characterization of O/W free phytosterols nanoemulsions formulated with an enzymatically modified emulsifier. *Lwt*, 107, 151-157.
- [8] Zychowski, L. M., Mettu, S., Dagastine, R. R., Kelly, A. L., O'Mahony, J. A., & Auty, M. A. (2019). Physical and interfacial characterization of phytosterols in oil-in-water triacylglycerol-based emulsions. *Food Structure*, 19, 100101.
- [9] Lim, S. S., Baik, M. Y., Decker, E. A., Henson, L., Popplewell, L. M., McClements, D. J., & Choi, S. J. (2011). Stabilization of

سورفکتانت‌ها به لایه سطحی انعطاف‌پذیری کافی می‌دهد تا انحناهای مختلف مورد نیاز برای تشکیل یک نانوامولسیون را در طیف گسترده‌ای از ترکیب به خود اختصاص دهند. یک کوسورفکتانت با تغییر ویژگی‌های جزیی سورفکتانت باعث افزایش سیالیت سطح مشترک، از بین بردن ساختار کریستالی مایع یا ژل که از تشکیل نانوامولسیون جلوگیری می‌کند، تنظیم مقدار عدد HLB و انحناهای خود به خودی می‌شود [۲۴].

۴- نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نانوامولسیون‌های بهینه تجربی برای درون‌پوشانی مناسب بوده است. در این مطالعه برای نانوامولسیون‌سازی از همگن‌ساز فراصوت استفاده شد که باعث کاهش اندازه ذره و تشکیل نانوامولسیون‌هایی با اندازه نانومتر شد. با افزایش درصد روغن زیتون اندازه ذره نمونه‌ها افزایش یافت که این امر موجب کاهش پایداری نمونه شد. همچنین افزایش ژلاتین و SDS به تشکیل ذره‌هایی با اندازه نانو و افزایش پایداری نمونه‌ها کمک کرد. در نمونه‌های بهینه تجربی بالا بودن روغن سبب شد که هم ویسکوزیته و هم کشش سطحی افزایش یابد. همچنین افزودن محلول فیتواسترول به نمونه‌ها باعث افزایش ویسکوزیته و کشش سطحی نمونه‌ها شد. پایداری فیزیکی نانوامولسیون‌های بهینه تجربی قبل و بعد از ازدرون‌پوشانی به صورت مشاهداتی در دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد بررسی گردید؛ نتایج آزمون مشاهداتی نشان داد که نانوامولسیون‌ها از پایداری قابل قبولی برخوردار هستند. بعد از بررسی خواص فیزیکی و شیمیایی، تست پایداری و اندازه ذره نانوامولسیون‌ها بعد از درون‌پوشانی در نهایت نانوامولسیون با درصد روغن ۷/۱، درصد SDS ۳/۷ و ژلاتین با غلظت ۹۰ (گرم بر لیتر) با اندازه ذره ۱۱۲ نانومتر به عنوان نمونه بهینه نهایی برای درون‌پوشانی فیتواسترول انتخاب شد. استفاده از نانوامولسیون‌ها برای درون‌پوشانی فیتواسترول‌ها موجب کاهش اندازه ذره و جلوگیری از کریستالیزاسیون فیتواسترول‌ها می‌گردد که به بهبود عملکرد فیتواسترول در کاهش کلسترول کمک می‌کند. از این نانوامولسیون‌های تهیه شده می‌توان هم به عنوان غذا دارو و هم به عنوان افزودنی به مواد غذایی استفاده کرد.

- and Nutrition, 12, 55-68 .
- [18] Bimakr, M., Rahman, R. A., Taip, F. S., Adzahan, N. M., Sarker, M., Islam, Z., & Ganjloo, A. (2012). Optimization of ultrasound-assisted extraction of crude oil from winter melon (*Benincasa hispida*) seed using response surface methodology and evaluation of its antioxidant activity, total phenolic content and fatty acid composition. *Molecules*, 17(10), 11748-11762.
- [19] Homayonfal, Khodaian, Mosavi, & Panjaki, H. (2013). Preparation and evaluation of properties of emulsions based on walnut oil. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Industry*, 8(2), 191-199.
- [20] Yosefi, Abasi, Soliman, Ezatpanah, & Hamid. (2012). The effect of Persian gum, oil, protein and pH on the stability of the emulsion prepared by ultrasound. *Research and innovation in food science and industry*, 1(3), 199-218 .
- [21] Jacom-Guth, O., Aserin, A., & Garti, N. (1991). Stability and opacity of orange oil cloudy emulsions based on gum elemi and gum arabic. *International journal of food science & technology*, 26(3), 249-257.
- [22] Shu, B., Yu, W., Zhao, Y., & Liu, X. (2006). Study on microencapsulation of lycopene by spray-drying. *Journal of food engineering*, 76(4), 664-669.
- [23] Morales-delaNuez, A., Moreno-Indias, I., Sánchez-Macías, D., Capote, J., Juste, M., Castro, N., . . . Argüello, A. (2011). Sodium dodecyl sulfate reduces bacterial contamination in goat colostrum without negative effects on immune passive transfer in goat kids. *Journal of dairy science*, 94(1), 410-415.
- [24] Abd Sisak, M. A., Daik, R., & Ramli, S. (2017). Study on the effect of oil phase and co-surfactant on microemulsion systems. *Malaysian J. Anal. Sci*, 21, 1409-1416.
- orange oil-in-water emulsions: A new role for ester gum as an Ostwald ripening inhibitor. *Food Chemistry*, 128(4), 1023-1028.
- [10] McClements, D. J., & Rao, J. (2011). Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. *Critical reviews in food science and nutrition*, 51(4), 285-330.
- [11] Tadros, T. (2004). Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions. *Advances in colloid and interface science*, 108, 227-258.
- [12] Jafari, S. M., Beheshti, P., & Assadpoor, E. (2012). Rheological behavior and stability of D-Pliocene emulsions made by a novel hydrocolloid (Angum gum) compared with Arabic gum. *Journal of Food Engineering*, 109(1), 1-8.
- [13] Chen, Q., Steinhauer, L., Hammerlindl, J., Keller, W., & Zou, J. (2007). Biosynthesis of phytosterol esters: identification of a sterol O-acyltransferase in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 145(3), 974-984.
- [14] Huang, X., Kakuda, Y & ,Cui, W. (2001). Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. *Food hydrocolloids*, 15(4-6), 533-542.
- [15] Pourjahed, A., & Abbasi, H. (2019). Investigation of physical and chemical properties of microemulsions containing beta-cyctosterol based on sesame oil. *Journal of Food Science & Technology* (2008-8787), 16(89).
- [16] zadeh, H., Setareh, Parast, H. K., Bostan, Aram, & Mohebi) .(2016) . Encapsulation(Menthaspicata) oil by spray drying method *Iranian Food Science and Technology Research*, 12(4), 499-511.
- [17] Salimi, Azadeh, Moghsedlo, Yahya ,Jafari, Kashani, . . . Mohamad, A. (2015). Production of lycopene emulsions using gelatin and maltodextrin and process optimization using response surface methodology. *Food Science*



Preparation and Study of Physical and Chemical Properties of Nanoemulsions Based on Olive Oil for Encapsulation of Phytosterols

Banitamim, H.¹, Pourjahed, A.^{2*}, Karimi, S.³, Assari, M.⁴

1. MSc. Student, Chemical Engineering, Faculty of Chemical Engineering, Jundi-shapur University of Technology, Khuzestan, Dezfoul, Jundi-shapur University of Technology- Faculty of Chemical Engineering, Khuzestan, Iran.
2. Assistant professor, Biomaterial Engineering, Faculty of Chemical Engineering, Jundi-shapur University of Technology, Khuzestan, Dezfoul, Jundi-shapur University of Technology, Faculty of Chemical Engineering, Khuzestan, Iran.
3. Assistant professor, Chemical Engineering, Faculty of Chemical Engineering, Jundi-shapur University of Technology, Khuzestan, Dezfoul, Jundi-shapur University of Technology, Faculty of Chemical Engineering, Khuzestan, Iran.
4. Associate professor, Mechanical Engineering, Faculty of Mechanical Engineering, Jundi-shapur University of Technology, Khuzestan, Dezfoul, Jundi-shapur University of Technology, Faculty of Mechanical Engineering, Khuzestan, Iran.

ABSTRACT

Among the main problems in fortifying foods with phytosterols are their high melting point, gypsum taste and low solubility. One of the ways to overcome these problems is to use a suitable coating material and phytosterol coating. In this study, olive oil was used for phytosterol coating due to its high nutritional benefits by nanoemulsification method. In order to optimize the underlying conditions, the percentage of olive oil (oil phase), the percentage of sodium dodecyl sulfate (surfactant) and gelatin (as stabilizer) were considered as independent variables and the particle size was considered as the response. Experimental conditions were determined by designing the experiment using the mini-tab software using the RMS response surface methodology and using the Box-Behnken design. Two formulations (7.1, 3.7, 90) and (7.9, 3.7, 80) due to having the smallest particle size (103-105) nm as suitable and experimental nanoemulsification conditions for Encapsulation Phytosterols were selected. The results after coating showed that the particle size, pH, viscosity, surface tension and physical stability of these nanoemulsions provided the best conditions for their application. Finally, the formulation (7.1, 3.7, 90) after Encapsulation was selected as the best formulation for phytosterol Encapsulation due to its suitable physical and chemical properties, greater stability and 112 nm particle size.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2022/ 06/ 07
Accepted 2022/ 09/10

Keywords:

Phytosterols,
Fine covering,
Response Surface.

DOI: 10.22034/FSCT.19.128.303
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.128.6.1

*Corresponding Author E-Mail:
atpourjahed@jsu.ac.ir