

مدل سازی و بهینه سازی ویژگیهای کیفی و پایداری نانوکمپلکس های کلوئیدی جهت کاربرد در نوشیدنی های اسیدی شفاف

شقایق شیخ زاده^۱، محمد علیزاده^{۲*}، محمود رضازاد^۲

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه

(تاریخ دریافت: ۹۴/۰۹/۰۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۳/۰۸)

چکیده

امروزه کاربرد پلیمرهای طبیعی زیست تخریب پذیر از جمله پروتئین ها و پلی ساکاریدها در تهیه نانو ذرات در صنایع غذایی و دارویی مورد توجه خاصی قرار گرفته است. این پژوهش با هدف مدلسازی و بهینه سازی تولید نانوکمپلکس های سه جزئی پروتئین، پلی ساکارید و امولسیفایر کوچک مولکول و بررسی پایداری آنها با استفاده از طرح Box-Behnken انجام گرفت. برای هر پاسخ با استفاده از آنالیز رگرسیون خطی چندگانه، مدل های چند جمله ای درجه دوم به دست آمد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که مدل های همه پاسخها بسیار معنی دار بودند ($p < 0.0001$). همچنین همه مدل های پیش بینی شده دارای ضرایب تبیین و تبیین اصلاح شده بالایی بودند که تضمین کننده برازش رضایت بخش مدل های رگرسیون به داده های آزمایشی است. با استفاده از روش تابع مطلوبیت شرایط فرآوری بهینه بر حسب غلظت سدیم کازئینات (۰/۱۵٪)، غلظت صمغ عربی (۰/۵۴٪)، غلظت توپین ۲۰ (۰/۰۹٪) و pH (۴/۹۷) بدست آمد. در این نقطه بهینه، اندازه ذرات (۶۸۷۱ نانومتر)، اسپن (۰/۹۰)، کدورت (۰/۲۴)، رشد اندازه ذرات (۰/۰۳۴)، رشد توزیع اندازه ذرات (۰/۰۰۳) و رشد کدورت نانوکمپلکس ها (۰/۰۱۶) بدست آمد. میزان تابع مطلوبیت بهینه سازی ۰/۸۷ بود که نشان دهنده برآورد شدن مطلوب اهداف می باشد. در نتیجه نانو ذرات بدست آمده را می توان به عنوان سیستم حامل مواد مغذی جهت استفاده در غذاهای عملگرا و محصولات نوشیدنی شفاف با pH پایین مورد استفاده قرار داد.

کلید واژگان: نانو ذرات، بیوپلیمر، کدورت، پایداری، سطح پاسخ.

۱- مقدمه

از مزایای مهم سیستم‌های حامل کلوئیدی توانایی آنها در افزایش زیست دسترسی مواد فعال آب‌گریز بدون دخالت در ویژگی‌های عملکردی محصول از جمله ظاهر، پایداری، بافت و مزه آن است [۱]. نانو ذرات بیوپلیمری، ساختارهای کلوئیدی هستند که از یک یا چند نوع مولکول بیوپلیمری که کاربردهای بالقوه متعددی در صنعت غذایی دارند، تشکیل شده‌اند [۲]. اخیراً به علت افزایش علاقه به استفاده از بیوپلیمرهای طبیعی در محصولات غذایی، پروتئین‌ها به طور گسترده‌ای در تهیه نانوذرات مورد استفاده قرار می‌گیرند. با این حال، پایداری محلول‌های کلوئیدی تهیه شده با پروتئین، بسیار به شرایط محیطی وابسته است و در محیط‌های با قدرت یونی بالا، pH پایین و دمای بالا سریعاً ناپایدار می‌شوند [۳]. حضور لایه پلی ساکاریدی اطراف قطرات پروتئینی منجر به بهبود پایداری امولسیون پروتئینی نسبت به استرس‌های محیطی و تغییر رفتار رئولوژیکی محلول کلوئیدی می‌شود [۳]. در واقع تشکیل کمپلکس‌های الکترواستاتیکی غیر کوالانسی بین پروتئین و پلی ساکارید منجر به تشکیل ویژگی‌های متفاوتی در مقایسه با دو بیوپلیمر بصورت مجزا می‌شود، که به علت اثر سینرژیستی ویژگی‌های عملکردی پروتئین و پلی ساکارید می‌باشد. پروتئین کازئین به علت غیرسمی، ارزان بودن، دسترسی آسان و ویژگی‌های عملکردی خوب، در میان پروتئین‌هایی که در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند، به عنوان حامل ترکیبات مغذی بیشترین توجه را به خود جلب کرده است [۴]. صمغ عربی نیز به علت ویژگی‌های فیزیکی و عملکردی بسیار عالی شامل حلالیت بالا، پایداری pH، غیرسمی بودن و ویژگی‌های امولسفایری خوب به عنوان پلی ساکارید کاربرد زیادی دارد [۵]. سورفاکتانت‌های غیریونی از جمله سری توپین نسبت به سورفاکتانت‌های یونی به علت غیرسمی بودن در صنایع غذایی بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرند [۶]. توپین ۲۰، استر اسیدچرب سوربیتان پلی‌اکسی‌اتیلن می‌باشد که به طور گسترده در محصولات غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۷]. در بسیاری از مطالعات موجود در زمینه تهیه نانو ذرات، از سورفاکتانت‌ها، حلال‌های سمی و مواد مصنوعی به منظور پایداری سیستم استفاده شده است و یا تجهیزات دستگاه‌هایی مورد نیاز بوده که به هزینه و انرژی زیادی نیاز دارند.

روش سطح پاسخ مجموعه‌ای از تکنیک‌های آماری و ریاضی است که به منظور برازش مدلی که پارامترهای ورودی فرآیند و پاسخ‌های خروجی را به هم ارتباط می‌دهد، استفاده می‌شود [۸] و همچنین بطور گسترده‌ای برای بهینه‌سازی فرآیندها در صنایع غذایی به کار می‌رود.

هدف این پژوهش بدست آوردن نانوفرمولاسیون جدید برای کپسوله کردن مواد فعال آب‌گریز با استفاده از پلیمرهای طبیعی (پروتئین و پلی ساکارید) و بدون استفاده از سورفاکتانت سمی و یا مواد کراس‌لینک کننده که همه به نوعی برای سلامتی مضر هستند، می‌باشد. از طرفی دیگر در این مطالعه از یک روش ساده و بدون نیاز به تجهیزات آزمایشگاهی پیشرفته از جمله هموژنیزاتور و امواج فراصوت استفاده شده است، که بسیار ارزان قیمت و با صرفه می‌باشد. همچنین در اکثر روش‌های تهیه نانوذرات از pH ۷ و بالاتر استفاده می‌شود و موقع افزودن این نانوذرات به محصولات لبنی و نوشیدنی اسیدی، این نانوذرات سریعاً دچار ناپایداری و رسوب و در نتیجه رهاسازی ماده فعال می‌شوند. بدین منظور برای غنی‌سازی این محصولات نیاز به نانوذراتی داریم که در شرایط اسیدی تهیه شده باشند و در محیط اسیدی به مدت حداقل یک ماه پایدار باشند. در مطالعه حاضر نانوذرات در pH های ۴/۸-۵ و ۵/۲ تهیه شدند و غلظت‌های مختلف پلیمرها با استفاده از روش سطح پاسخ برای بدست آوردن شرایط بهینه با کوچکترین اندازه ذرات، بالاترین یکنواختی اندازه ذرات، کمترین کدورت و بالاترین پایداری (حداقل رشد اندازه و توزیع اندازه ذرات و حداقل رشد کدورت)، جهت استفاده در محصولات غذایی و نوشیدنی‌های اسیدی شفاف مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱ مواد

سدیم کازئینات از شرکت DMV هلند تهیه شد. صمغ عربی از شرکت شارلو اسپانیا و توپین ۲۰ از شرکت سیگما آمریکا خریداری شدند. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

۲-۲ روش‌ها

۲-۲-۱ آماده‌سازی محلول‌ها

توزیع اندازه ذرات با استفاده از عدد اسپن (معادله ۲) که پهنای منحنی توزیع اندازه ذرات و شاخص یکنواختی قطر ذرات است محاسبه شد:

$$\text{Span} = D(90\%) - D(10\%) / D(50\%) \quad (\text{معادله } ۲)$$

۲-۳-۲ اندازه گیری کدورت

کدورت نمونه‌ها ۱ روز بعد از تهیه با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مرئی-ماورابنفش در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. دقت جذب نوری این دستگاه ۰/۰۰۳ abs می باشد. به منظور اندازه‌گیری کدورت سیستم‌های کمپلکس، نمونه‌ها قبل از آزمون به منظور اطمینان از همگن بودن ذرات و جلوگیری از هر گونه تغییر در کدورت ناشی از رسوب احتمالی ذرات، به مدت ۲ تا ۳ ثانیه توسط ورتکس به شدت همزده شدند. از آب مقطر به عنوان شاهد استفاده شد.

۲-۳-۳ بررسی پایداری نانو ذرات

زمانیکه نانو ذرات بیوپلیمری وارد یک سیستم غذایی می‌شوند باید در طول مدت زمان مورد انتظار ماندگاری محصول، پایدار باقی بمانند. به منظور تعیین میزان پایداری نانوکمپلکس‌های ۳ جزئی تولیدی، اندازه ذرات، توزیع اندازه ذرات و کدورت محلولهای کلئیدی بعد از ۳۰ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد.

۲-۳-۴ تجزیه و تحلیل آماری

در این مطالعه اثر ۴ متغیر مستقل شامل غلظت سدیم کازئینات (A)، غلظت صمغ عربی (B)، غلظت توئین ۲۰ (C) و pH (D) در ۳ سطح با بکارگیری طرح آماری Box-Behnken مورد ارزیابی قرار گرفت. با کاربرد آنالیز رگرسیون، شاخص‌های اندازه‌گیری شده در قالب یک چند جمله‌ای درجه دوم طبق معادله ۳ مدل‌سازی شدند.

$$Y_i = \beta_0 + \sum \beta_{1i} x_i + \sum \beta_{2i} x_i^2 + \sum \beta_{3ij} x_i x_j \quad (\text{معادله } ۳)$$

Y_i پاسخ پیش‌بینی شده و β_0 ضریب ثابت، β_{1i} اثرات خطی، β_{2i} اثر مربعات و β_{3ij} اثرات متقابل هستند و X_i و X_j متغیرهای مستقل کدبندی شده هستند. مقادیر ضرایب تبیین (R^2) و ضرایب تبیین اصلاح شده ($\text{-adj}R^2$) به منظور نشان دادن کفایت برازش مدل مورد ارزیابی قرار گرفت. برای آنالیز داده‌ها و رسم نمودار از نرم‌افزار SAS نسخه ۹،۲ استفاده شد.

محلول‌های سدیم کازئینات، صمغ عربی و توئین ۲۰ با افزودن تدریجی مقادیر مورد نیاز از آنها به بافر فسفات ۵ میلی مولار pH ۷ در ظروف جداگانه و تحت همزن مغناطیسی با سرعت متوسط تهیه شدند [۹]. محلول‌ها دارای ۰/۰۲٪ سدیم آزید به عنوان عامل ضد میکروبی بودند. محلول‌ها باید بمدت یک شبانه روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به منظور جذب کامل آب نگهداری شوند [۹]. قبل از استفاده، محلول‌ها به منظور حذف ذرات جامد نامحلول و حباب‌های هوا تحت دور rpm ۶۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند.

۲-۲-۲ تهیه نانوکمپلکس

مطابق غلظت‌های مورد نظر در طرح (جدول ۱)، به محلول سدیم کازئینات تهیه شده از روز قبل، غلظت‌های مختلفی از صمغ عربی و توئین ۲۰ بصورت قطره قطره در دمای محیط و دور همزن rpm ۵۰۰ با نسبت حجمی ۱:۱:۱ افزوده شد [۹]. سپس فاز آلی شامل حلال اتانول قطره قطره به فاز آبی (محلول سدیم کازئینات/ صمغ عربی/ توئین ۲۰) که در حال همزدن مداوم بر روی همزن می‌باشد اضافه گردید [۱۰]. در مرحله بعدی با استفاده از سرنگ انسولین ۳۰ g تیتر کردن تا pH های مورد نظر در طرح با هیدروکلریک اسید ۰/۱ و ۰/۰۱ نرمال در دمای اتاق انجام گرفت. pH محلول‌ها به طور مداوم توسط pH متر اندازه‌گیری شد. محلول مورد نظر به مدت ۱ ساعت در دمای محیط و دور همزن rpm ۵۰۰ همزده شد. سپس حلال اتانول موجود در محلول با استفاده از دستگاه روتاری اوپراتور تحت خلا تبخیر شد.

۲-۳-۲ روش انجام آزمون‌ها

۲-۳-۲-۱ تعیین اندازه ذرات و توزیع اندازه ذرات

اندازه گیری توزیع اندازه ذرات و میانگین قطر حجمی ذرات با استفاده از دستگاه آنالیز کننده تفرق نوری لیزری مدل (Shimadzu, SALD 2101) ساخت ژاپن انجام شد. دقت اندازه گیری قطر ذرات این دستگاه ۱۰ نانومتر تا ۵۰۰ میکرومتر می باشد. اندازه ذرات براساس میانگین قطر حجمی ذرات گزارش شد.

در معادله (۱)، n_i تعداد ذرات با قطر d_i می باشد.

$$D[4,3] = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} \quad (\text{معادله } ۱)$$

Table 1. Levels and codes of independent variables used in the RSM design

Independent Variables	Symbol	Coded levels			Interval
		-1	0	1	
Sodium caseinate (% w/w)	A	0.1	0.2	0.3	0.1
Arabic gum (% w/w)	B	0.5	0.75	1	0.25
Tween 20 (% w/w)	C	0	0.1	0.2	0.1
pH	D	4.8	5	5.2	0.2

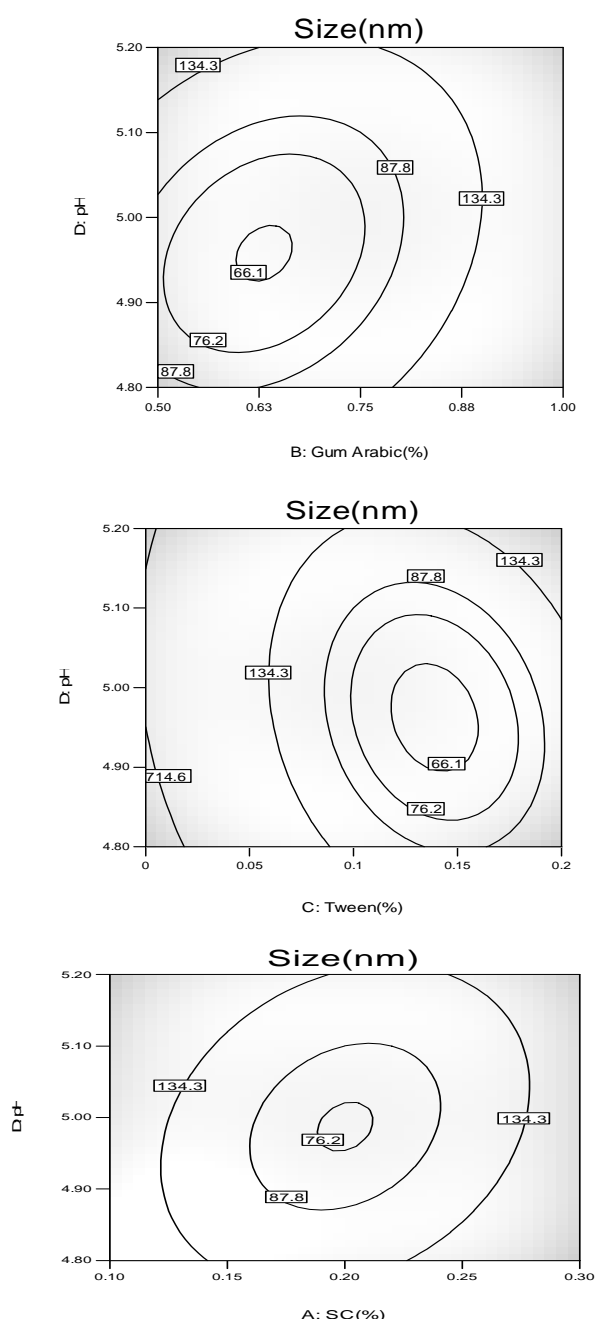


Fig 1 Contour plot showing the effect of component concentration and pH on Ln (particle size). a) SC and pH, b) GA and pH, c) pH and T20.

۲-۳-۵ بهینه سازی

به منظور بهینه‌سازی پاسخ‌های موثر در تولید نانوذرات پایدار از روش تابع مطلوبیت استفاده شد. در روش تابع مطلوبیت، مطلوبیت آماری بین صفر و یک است. سطح پایین آن نشان‌دهنده عدم دستیابی به هدف مورد نظر می‌باشد و آن نشان‌دهنده برآورد شدن کامل هدف مورد نظر می‌باشد. وقتی هدف، بهینه‌سازی چندین پاسخ بطور همزمان باشد، مطلوبیت هر یک از پاسخ‌ها تعیین شده و میانگین هندسی آنها به عنوان شاخص برآورد شدن همزمان هدف‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این مطالعه بهینه‌سازی با رسیدن به اهداف حداقل اندازه، حداقل توزیع اندازه ذرات و حداقل کدورت و همچنین رسیدن به بالاترین میزان پایداری یعنی حداقل رشد اندازه، حداقل توزیع اندازه ذرات و حداقل رشد کدورت انجام شد.

۳- نتایج و بحث

pH یکی از مهم‌ترین فاکتورهای موثر بر تشکیل کمپلکسهای پروتئین - پلی‌ساکاریدی می‌باشد. زیرا pH تعداد گروه‌های باردار حمل شده توسط بیوپلیمرها (گروه‌های آمینو و کربوکسیلات) را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۱۱].

وابستگی اندازه ذرات به pH و غلظت سدیم کازئینات در شکل ۱- الف نشان داده شده است. با توجه به شکل مشاهده می‌شود که اندازه ذرات ابتدا کاهش و سپس بطور قابل توجهی با افزایش هر دو فاکتور pH و غلظت سدیم کازئینات افزایش یافت و کوچکترین اندازه ذرات وقتی که pH و غلظت سدیم کازئینات به ترتیب ۴/۹۸ و ۰/۱۸٪ بود، بدست آمد.

در شکل ۱- ب اثر متقابل بین غلظت صمغ عربی و pH بر اندازه ذرات را وقتی که غلظت‌های توپین ۲۰ و سدیم کازئینات به ترتیب در ۰/۱ و ۰/۲٪ ثابت در نظر گرفته شده است، را نشان می‌دهد.

صمغ عربی می‌باشد. در واقع زمانیکه پروتئین نزدیک به حالت خشی قرار دارد به حضور پلی‌ساکارید به منظور جلوگیری از تجمع بسیار وابسته است [۱۲]. همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود در غلظت‌های بالای سدیم کازئینات و صمغ عربی تاثیر pH بر اندازه ذرات کاهش یافت. نتیجه بدست آمده در تطابق کامل با مطالعه weinbreck است [۱۳]. اندازه ذرات همانطور که غلظت توپین ۲۰ در رنج ۰ تا ۰/۱۴٪ افزایش و pH در رنج ۵/۲ تا ۵ کاهش یافت، کوچکتر شد (شکل ۱-ج).

اما حدوداً در غلظت ۰/۱۴٪ توپین ۲۰ و pH ۵/۲ اندازه ذرات افزایش یافت، که نشان دهنده اثر معنی‌دار توپین ۲۰ و pH بر اندازه ذرات است. آنالیز حاصل از داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که اثر متقابل سدیم کازئینات-صمغ عربی بر اندازه ذرات معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.01$). زمانیکه در غلظت ثابتی از صمغ عربی (۰/۵٪) غلظت سدیم کازئینات از ۰/۱ به ۰/۳٪ افزایش می‌یابد، اندازه ذرات سیستم بطور قابل توجهی افزایش یافت.

همانطور که مشاهده می‌شود اندازه ذرات ابتدا با کاهش غلظت صمغ عربی از ۱ به ۰/۶۸٪ و pH از ۵/۲ به ۴/۹۵، کاهش یافت. اما در غلظت پایین صمغ عربی و pH پایین، اندازه ذرات افزایش یافت. در واقع در غلظت صمغ عربی ۰/۵-۰/۷۵٪ و تقریباً در pH ۵ کوچکترین ذرات با قطر میانگین ۷۲-۷۶ نانومتر بدست آمدند و خارج از این رنج، اندازه ذرات افزایش یافت. همانطور که در شکل ۱-ب مشاهده می‌شود بر همکنش دو طرفه بین غلظت صمغ عربی و pH با توجه به نمودار کانتورپلات بیضوی شکل، معنی‌دار است. با کاهش pH از ۵/۲ به ۵، اندازه ذرات از ۲۰۵ نانومتر به ۷۵ نانومتر کاهش یافت. با کاهش pH، صمغ عربی بیشتری مورد نیاز است، زیرا همانطور که pH کاهش می‌یابد، قسمت‌های باردار مثبت مولکول‌های سدیم کازئینات افزایش می‌یابد. بنابراین غلظت مورد نیاز صمغ عربی که دارای مولکول‌های با بار منفی می‌باشد برای واکنش با آنها به منظور تولید ذرات کوچک افزایش می‌یابد. در pH ۴/۸ نزدیک به PI سدیم کازئینات اندازه ذرات شدیداً تحت تاثیر غلظت

Table 2 Regression coefficients of the second-order polynomial model for the response variables (analysis has been performed using coded units)

Factors	Ln(size)	SE ^a	Ln (Span)	SE ^a	Ln (Turbidity)	SE ^a	Ln(size growth)	SE ^a	Ln (span growth)	SE ^a	Sqrt (Turbidity growth)	SE ^a
Linear	4.321	0.098	-0.245	0.104	-0.816	0.073	-3.63	0.336	-5.846	0.276	0.13	0.024
A	-0.025 ^{ns}	0.066	-0.100 ^{ns}	0.092	0.576 ^{***}	0.059	0.55*	0.165	0.688 ^{***}	0.129	-0.041*	0.014
B	0.573 ^{***}	0.055	-	-	0.427 ^{***}	0.063	-0.066 ^{ns}	0.180	0.605 ^{**}	0.153	-0.021 ^{ns}	0.019
C	-0.914 ^{***}	0.057	-0.700 ^{***}	0.123	-0.147*	0.059	1.72 ^{***}	0.250	0.792 ^{**}	0.188	0.006 ^{ns}	0.023
D	0.062 ^{ns}	0.047	-0.215 ^{ns}	0.093	-0.114 ^{ns}	0.085	0.19 ^{ns}	0.171	-0.105 ^{ns}	0.140	0.067 ^{***}	0.016
Interaction												
AB	0.718*	0.170	-	-	-	-	-	-	-0.731*	0.239	-	-
AC	-1.234 ^{***}	0.140	-1.38 ^{***}	0.195	-	-	-	-	1.129 ^{**}	0.239	-	-
AD	-0.346 ^{**}	0.074	0.496*	0.128	-	-	-	-	-	-	-	-
BC	-	-	-	-	-	-	-	-	1.498 ^{**}	0.311	-0.095*	0.043
BD	-0.298*	0.085	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CD	0.305*	0.085	1.033 ^{**}	0.248	-	-	-	-	-	-	-	-
Quadratic												
A ²	1.002 ^{***}	0.096	0.768 ^{***}	0.130	-	-	0.92*	0.255	1.875 ^{***}	0.211	0.72 ^{**}	0.023
B ²	0.668 ^{***}	0.089	-	-	-	-	0.57*	0.259	0.682*	0.214	-	-
C ²	1.246 ^{***}	0.081	1.510 ^{***}	0.137	0.333 ^{**}	0.085	2.44 ^{***}	0.314	2.349 ^{***}	0.242	0.17 ^{***}	0.027
D ²	0.486 ^{***}	0.081	-	-	0.261*	0.084	1.22 ^{**}	0.262	1.262 ^{***}	0.215	0.08 ^{**}	0.023
R ²	0.984		0.938		0.879		0.867		0.950		0.834	
Adj-R ²	0.967		0.910		0.848		0.805		0.913		0.756	
F-value	58.955		34.196		27.98		13.95		26.02		10.71	
Probability of F	<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001	

A: SC concentration (wt%); B: GA concentration (wt%); C: T20 concentration (wt%); D: pH. a: Standard Error
n.s.: Non significant. Significant at * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$ & *** $P < 0.0001$.

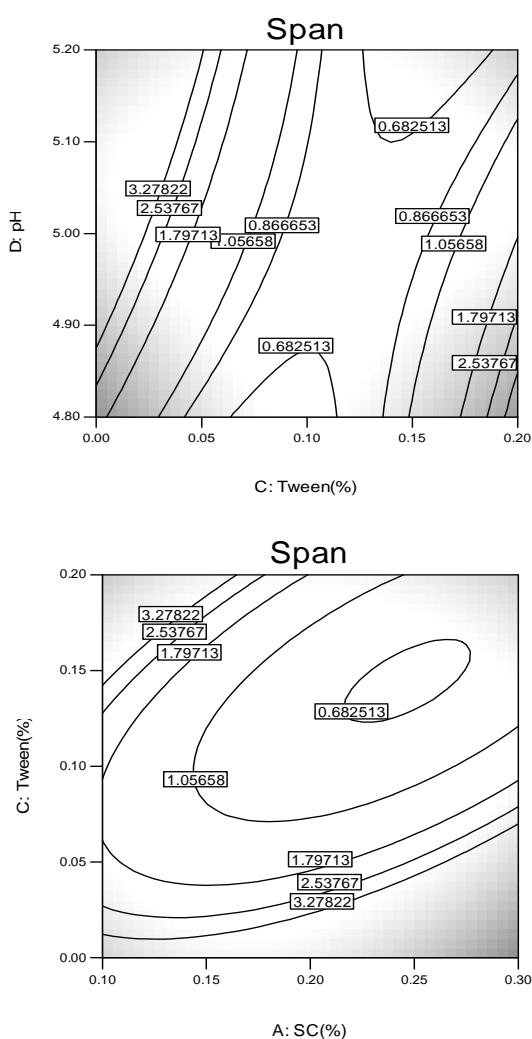


Fig 2 Contour plot showing the effect of component concentration and pH on span. a) SC and T20, b) pH and T20.

۳-۳- بررسی کدورت

ظاهر محصول یکی از مهمترین ویژگی‌های کیفی محصولات غذایی می‌باشد. کدورت محلول‌های کلوئیدی به متوسط اندازه ذرات، توزیع اندازه ذرات، غلظت و شاخص انکساری نسبی هر ذره موجود در محلول بستگی دارد [۱۶]. بنابراین تغییر در کدورت نشان دهنده تغییر در اندازه ذرات، توزیع اندازه ذرات و غلظت می‌باشد [۱۶]. کدورت محلول‌های کلوئیدی خالص و محلول‌های حاوی نانوذرات به عنوان تابعی از غلظت اجزا و pH مورد بررسی قرار گرفت. با کاهش pH از ۷ تا ۴، محلول خالص صمغ عربی شفاف ماند و کدورت محلول تغییری نکرد و نزدیک به صفر بود. زیرا ذرات به علت دافعه الکترواستاتیکی قوی بین مولکول‌های دارای بار منفی پلی ساکارید، تمایل به تجمع و تشکیل ذرات بزرگتر را ندارند و تحت تاثیر pH قرار

زیرا با افزایش غلظت سدیم کازئینات در غلظت ثابت صمغ عربی، مولکول‌های پلی ساکارید موجود در سیستم به منظور پوشاندن کامل سطح مولکول‌های پروتئین ناکافی می‌باشند و بیش از یک مولکول پروتئین به طور همزمان به یک زنجیره پلی ساکاریدی متصل می‌شوند [۱۴]. در نتیجه پدیده انبوهش ناشی از تشکیل پل رخ می‌دهد [۱۵]. به علت کافی نبودن دافعه الکترواستاتیکی ناشی از بارهای سطحی ذرات، در غیاب توئین ۲۰ ذرات پس از برخورد بهم پیوسته و در نتیجه افزایش اندازه ذرات و در نتیجه رسوب ذرات در غیاب توئین ۲۰ رخ داد. در حالیکه توئین ۲۰ به عنوان مانع (پایداری استری) از نزدیک شدن ذرات، تجمع و افزایش اندازه ذرات سیستم جلوگیری کرده و نمونه‌های دارای توئین ۲۰ دارای اندازه ذرات کوچک‌تری بودند.

۳-۲- فاکتورهای موثر بر توزیع اندازه ذرات (اسپن)

تاثیر ۴ متغیر مستقل بر مقدار اسپن با ضرایب معادله رگرسیونی چند جمله‌ای درجه دو در جدول ۲ مشاهده می‌شود. ضریب تبیین این مدل ۰/۹۳۸ بود که نشان دهنده شایستگی مناسب مدل برای پاسخ اسپن می‌باشد. مطابق با شکل ۲- الف، مشاهده می‌شود که هر دو متغیر سدیم کازئینات و توئین ۲۰، شاخص اسپن را تحت تاثیر قرار می‌دهند. مقدار اسپن با افزایش غلظت سدیم کازئینات، افزایش یافت. به عبارتی در غلظت‌های بالاتر سدیم کازئینات، سیستم دارای ذرات ناهمگون بیشتری نسبت به غلظت‌های پایین‌تر سدیم کازئینات می‌باشد. با افزایش غلظت توئین ۲۰ از ۰ تا ۰/۱٪، مقدار اسپن به طور قابل توجهی کاهش یافت. اثر متقابل بین غلظت توئین ۲۰ و pH بر اسپن زمانیکه غلظت صمغ عربی و غلظت سدیم کازئینات به ترتیب در ۰/۷۵٪ و ۰/۲٪ ثابت نگه داشته شد، نشان داد که مقادیر اسپن ابتدا با افزایش غلظت توئین ۲۰ از ۰ تا ۰/۱٪ و کاهش pH از ۵/۲ تا ۵، کاهش یافت، اما در غلظت بالای توئین ۲۰ و در pH پایین افزایش یافت (شکل ۲- ب).

این نتیجه توسط نتایج اندازه‌گیری اندازه ذرات که نشان داد که در عدم حضور توپین ۲۰ بزرگترین ذرات بوجود آمدند، تأیید می‌شود. در غلظت‌های میانه توپین ۲۰، نمونه‌ها دارای کدورت کمتری بودند، که احتمالاً به علت کاهش تجمع مولکول‌های پروتئین می‌باشد که نشان دهنده این است که محلول‌ها دارای کمپلکس‌های پایدار بوده و ذرات جهت پراکنده کردن نور بسیار کوچک هستند. در نتیجه منجر به ایجاد محلول‌های شفاف با حداقل کدورت می‌شوند. نکته جالب توجه این است که با افزایش غلظت توپین ۲۰ از ۰/۱ به ۰/۲٪، پراکندگی نور ذرات دوباره افزایش یافت. دلیل این افزایش علاوه بر بزرگ شدن اندازه ذرات این است که در واقع حضور سورفاکتانت توپین ۲۰ در غلظت بالا می‌تواند شاخص انکسار نسبی را تغییر دهد.

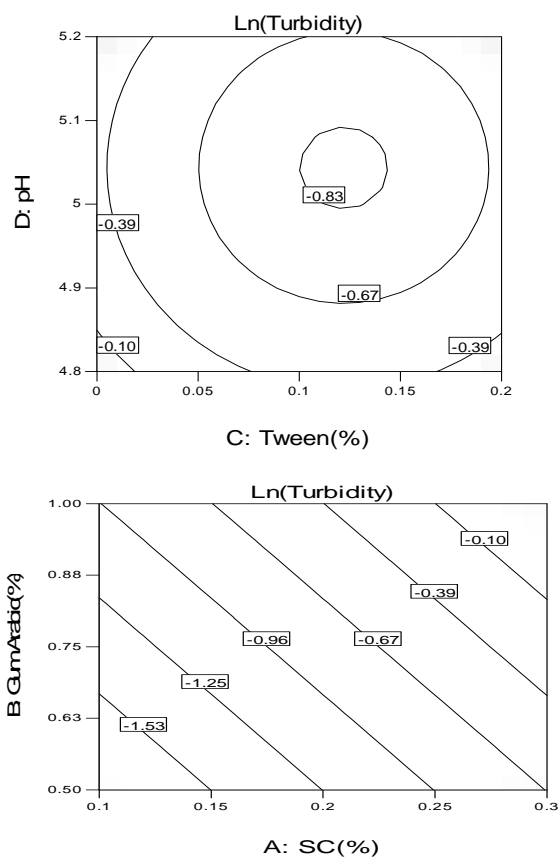


Fig 3 Contour plot showing the effect of component concentration and pH on Ln (Turbidity). a) pH and T20, b) GA and SC.

۳-۴ بررسی پایداری نانو ذرات

نیروی محرکه جداسازی فاز در محلول‌های کلئیدی شامل ۲ دسته اصلی تجمع شونده^۱ و جدا شونده^۲ می‌باشد [۱۹]. در

نمی‌گیرند. محلول توپین ۲۰ نیز در طول تغییر pH همچنان شفاف بود و تغییری نکرد. زیرا به علت فقدان گروه‌های یونی در مولکول‌های آن، تحت تاثیر pH قرار نمی‌گیرد. در حالیکه در مورد محلول خالص سدیم کازئینات، کدورت به عنوان تابعی از pH تغییر کرد. این تغییر در pH نزدیک به نقطه ایزوالکتریک سدیم کازئینات قابل توجه بود. زیرا همانطور که می‌دانیم پروتئین در pH نزدیک به نقطه ایزوالکتریک خود دارای بار خالص خنثی می‌باشد. در نتیجه به علت عدم وجود دافعه الکترواستاتیکی قوی، مولکول‌های سدیم کازئینات دچار خود تجمعی شده و از آنجاییکه ذرات جدید تشکیل شده به اندازه کافی جهت پراکنده کردن نور بزرگ بودند، مقادیر کدورت افزایش یافت. جهت اندازه‌گیری کدورت محلول‌های کمپلکس، به منظور اطمینان از همگن بودن محلول و جلوگیری از هر گونه تغییر در کدورت، به علت رسوب ذرات، نمونه‌ها قبل از آنالیز به شدت همزده شدند. کدورت محلول‌های دارای نانو کمپلکس روند متفاوتی از محلول‌های انفرادی اجزا را نشان داد، این تفاوت گواهی ایجاد برهمکنش بین مولکول‌های پروتئین، پلی ساکارید و سورفاکتانت می‌باشد. شکل ۳ (الف) اثر موازی غلظت سدیم کازئینات و صمغ عربی بر کدورت سیستم را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش غلظت سدیم کازئینات، شفافیت سیستم کاهش یافت. در حالت کلی، افزایش نمایی در کدورت وقتی که غلظت هر دو فاکتور افزایش یافت، مشاهده شد، که نشان دهنده افزایش در اندازه ذرات یا تعداد کمپلکس‌های تشکیل شده می‌باشد [۱۷] که منجر به افزایش شدت پراکندگی نور ناشی از کمپلکس‌های بزرگ تشکیل شده می‌شود. این یافته‌ها با نتایج گزارش شده توسط قربانی و همکاران (۲۰۱۴) مبنی بر اینکه کدورت محلول‌ها با افزایش غلظت بیوپلیمرها افزایش می‌یابد، مطابقت دارد [۱۸]. با توجه به شکل ۳، غلظت توپین ۲۰ و pH هر دو دارای اثر درجه ۲ بر کدورت سیستم هستند. کدورت ابتدا اندکی کاهش یافت و سپس سریعاً با کاهش هر ۲ متغیر افزایش یافت و حداکثر کدورت وقتی که غلظت توپین ۲۰ و pH به ترتیب ۰/۸٪ و ۴/۸ رسید، بدست آمد. کدورت محلول‌ها با کاهش بیشتر pH از ۵ تا ۴/۸، بویژه در موارد غلظت بالای بیوپلیمرها و عدم حضور توپین ۲۰ به طور نمایی افزایش یافت که نشان دهنده این است که توده‌های تشکیل شده جهت پراکنده کردن قوی نور، به اندازه کافی بزرگ هستند. در این مطالعه، بیشترین کدورت در غلظت بالای بیوپلیمرها و عدم حضور توپین ۲۰ مشاهده شد (شکل ۳-ب).

1. associative
2. segregative

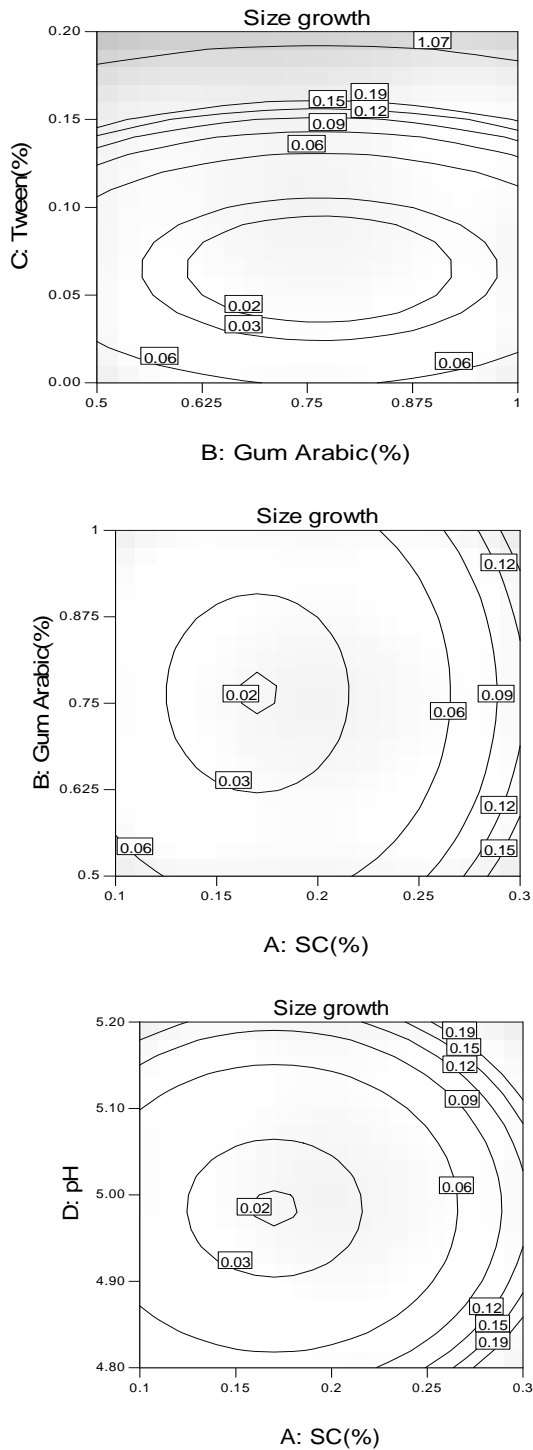


Fig 4 Contour plot showing the effect of component concentration and pH on particle size growth after one month storage at 4 °C. a) GA and SC, b) T20 and GA, c) pH and SC.

در نمونه‌های دارای غلظت ۲٪/۰/۲۰، تجمع قابل توجهی بعد از ۲۴ ساعت رخ داد. ناپایداری دیسپرسیون در غلظت بالای ۲۰ توین ۲۰ همانطور که قبلاً ذکر شد با دفرمه شدن ساختمان سدیم کازئینات ارتباط دارد. چرا که در حالت کلی

فرآیندهای تجمع شونده، نیروی محرکه اصلی برای جداسازی فاز یک نیروی جذب کننده تقریباً قوی بین انواع مختلف بیوپلیمرهای موجود در محلول، از جمله جاذبه الکترواستاتیکی بین بیوپلیمرهای باردار مخالف می‌باشد [۲۰]. در فرآیندهای جدایشونده نیروی محرکه برای جداسازی فاز یک نیروی دافعه نسبتاً قوی بین انواع مختلف بیوپلیمرها در محلول از جمله دافعه استری می‌باشد [۲۱]. وقتی نیروی محرکه برای جداسازی فاز، دافعه است، سیستم حاصل، ناسازگار از نظر ترمودینامیکی گفته می‌شود. از طرف دیگر وقتی نیروی محرکه جداسازی فاز، جاذبه باشد سیستم حاصل به عنوان سازگار از نظر ترمودینامیکی گفته می‌شود [۲۲]. اصطلاح پایداری محلول کلئیدی به توانایی یک محلول به مقاومت در برابر تغییرات در ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن در طول زمان گفته می‌شود. در این مطالعه هدف بررسی ناپایداری فیزیکی نانو ذرات می‌باشد. شکل ۴ کانتورپلات‌های اثر متغیرهای مستقل را بر رشد اندازه ذرات در طول یک ماه نگهداری را نشان می‌دهد. در بین فاکتورهای مورد بررسی غلظت توین ۲۰ بیشترین تاثیر را بر کنترل افزایش اندازه ذرات داشت ($p < 0/0001$). همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود نمونه‌های فاقد توین ۲۰، که از ابتدا نیز دارای اندازه ذرات بزرگتری بودند، بعد از یک ماه نگهداری دچار افزایش اندازه ذرات قابل توجهی شدند. بویژه نمونه‌های دارای غلظت بالای بیوپلیمرها در عدم حضور توین ۲۰ افزایش اندازه بیشتری داشتند. در نمونه‌های دارای غلظت میانه توین ۲۰ (۱/۰٪)، تفاوتی در اندازه ذرات بعد از زمان نگهداری رخ نداد و این نمونه‌ها جز پایدارترین نمونه‌ها بودند.

یکی از عوامل موثر در ناپایداری محلول‌های کلئیدی در طول نگهداری، فلوک شدن می‌باشد. به طور کلی فلوک شدن با پایداری الکترواستاتیکی یا استری مهار می‌شود [۲۳]. روش اصلی برای جلوگیری از فلوک شدن ذرات، فراهم کردن انرژی الکترواستاتیکی کافی (بار سطحی) بین ذرات است. اما در این مطالعه، به علت ناکافی بودن پایداری الکترواستاتیکی (متعادل نبودن بار سطحی بیوپلیمرها)، پایداری نانو ذرات در اثر افزودن سورفاکتانت (پایداری استری) بدست آمد.

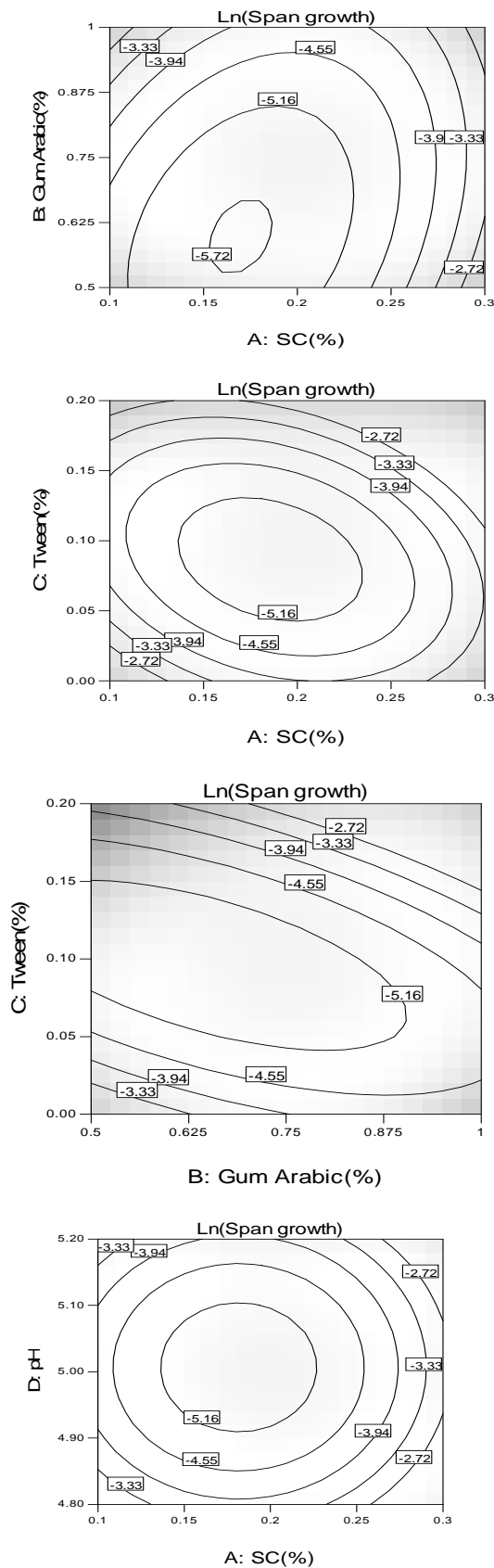


Fig 5 Contour plot showing the effect of component concentration and pH on Ln(span growth) after one month storage at 4 °C. a) GA and SC, b) T20 and SC, c) pH and SC, d) T20 and GA.

پایداری و ناپایداری ساختار پروتئین در اثر اتصال با سورفاکتانت به نوع و غلظت مولکول‌های سورفاکتانت، مولکول‌های پروتئین موجود و شرایطی محیطی بستگی دارد [۲۴]. در غلظت صمغ عربی ۰/۵٪، بویژه در غلظت‌های بالای سدیم کازئینات (۰/۳٪) و عدم حضور توپین ۲۰ تفاوت قابل توجهی در اندازه ذرات در طول زمان مشاهده شد. همچنین در غلظت‌های بالای صمغ عربی (۰/۱٪) رشد اندازه ذرات در طول زمان نگهداری قابل توجه بود. زیرا تجمع مولکول‌های صمغ عربی اضافی بین ذرات، منجر به فلوکه شدن ناشی از تشکیل پل شد. در pH پایین ۴/۸ و غلظت بالای سدیم کازئینات ۰/۳٪، محلول کلئیدی ناپایدار بود و اندازه ذرات افزایش قابل توجهی داشتند. به علت دارا بودن اندازه ذرات بزرگتر نمونه‌های حاوی غلظت بالای بیوپلیمرها این نمونه‌ها بیشترین افزایش اندازه ذرات را نشان دادند. در حالیکه اندازه ذرات نمونه‌هایی که حاوی ۰/۱٪ توپین ۲۰، ۰/۷۵٪ صمغ عربی و ۰/۲٪ سدیم کازئینات بودند، بعد از گذشت مدت زمان ۱ ماه تغییر قابل توجهی نکرد.

رشد توزیع اندازه ذرات در حضور غلظت ۰/۱٪ توپین ۲۰ بسیار جزئی بود و نمونه‌ها پایداری خوبی داشتند. یکی از دلایل ایجاد پایداری خوب توسط سورفاکتانت این است که از ابتدا نیز نانو ذرات تولیدی در حضور غلظت میانه توپین ۲۰ دارای اندازه ذرات بسیار کوچک و یکنواختی ذرات بالایی بودند. مطالعات بسیاری نشان دادند که سیستم‌های دارای اندازه ذرات کوچک و توزیع اندازه ذرات یکنواخت نسبت به سیستم‌های با اندازه ذرات بزرگتر و هتروژن پایداری بیشتری دارند [۲۵]. فرآیند استوالد رایپنینگ، فرآیندی است که در آن ذرات بزرگتر با صرف ذرات کوچکتر رشد می‌کنند. پیش شرط لازم برای رخ دادن استوالد رایپنینگ این است که سیستم باید پلی‌دیسپرس باشد یعنی توزیع اندازه ذرات غیر یکنواخت و ناهمگن باشند [۲۶]. پدیده استوالد رایپنینگ به طور قابل توجهی زمانی که هر ۳ جز با غلظت‌های سدیم کازئینات ۰/۲٪، صمغ عربی ۰/۵٪ و توپین ۲۰ ۰/۱٪ در سیستم حاضر بودند و pH ۵ بود به تاخیر افتاد. زیرا در این رنج غلظت، به علت اندازه ذرات همگن، سرعت زبر شدن با کاهش نیروی محرکه موثر بسیار به تاخیر افتاد. در واقع رشد اندک توزیع اندازه ذرات منجر به تمایل کمتر ذرات به تجمع و پدیده استوالد رایپنینگ می‌شود.

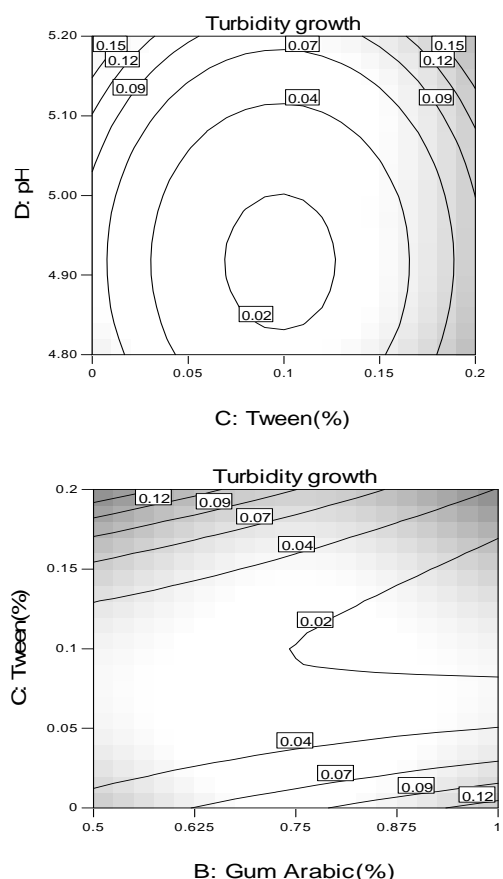


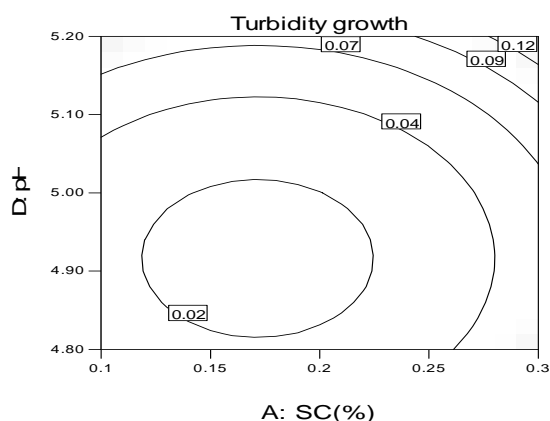
Fig 6 Contour plot showing the effect of component concentration and pH on Turbidity growth after one month storage at 4 °C. a) T20 and GA, b) pH and SC, c) pH and T20.

۶-۳- بهینه سازی

نتایج حاصل از بهینه سازی با استفاده از روش تابع مطلوبیت نشان داد که اثر پایدارکنندگی سینرژیستی بسیار خوب بین ۳ ترکیب سدیم کازئینات، صمغ عربی و توپین ۲۰ وجود دارد. شکل ۷ نمودارهای تابع مطلوبیت را نشان می دهد. میزان تابع مطلوبیت بهینه سازی ۰/۸۷ بود که نشان دهنده برآورده شدن مطلوب اهداف می باشد. با توجه به نمودارها شرایط بهینه بصورت سدیم کازئینات ۰/۱۵، صمغ عربی ۰/۵۴، توپین ۲۰ ۰/۰۹ و pH ۴/۹۷ بدست آمد، که منجر به کاهش اندازه ذرات تا ۶۸/۷۱ نانومتر، کاهش توزیع اندازه ذرات تا ۰/۹، کاهش کدورت تا ۰/۲۴ و کاهش رشد اندازه ذرات تا ۰/۳۴، کاهش رشد توزیع اندازه ذرات ۰/۰۳ و کاهش رشد کدورت ۰/۱۶ شد.

تحت شرایط یکسان نگهداری تعدادی از محلول های بیوپلیمری بعد از گذشت مدت زمان نه چندان زیادی به ۲ یا چند فاز جدا شدند. نمونه ها با مقادیر کدورت بالا که در قسمت قبلی اشاره شد، ته نشینی و رسوب آشکار بعد از ۱ ماه نگهداری را نشان دادند. در نتیجه این نمونه ها برای استفاده به عنوان سیستم های حامل پایدار در صنعت غذا مناسب نیستند. در نمونه هایی که دارای ۰/۱٪ توپین ۲۰ بودند رسوبی مشاهده نشد و کدورت محلول تغییری نکرد (شکل ۶). این نمونه ها با توجه به داده های اندازه نیز بسیار پایدار بودند، و جهت استفاده در نوشیدنی های شفاف اسیدی مناسب می باشند. نمونه هایی که حاوی ۰/۲٪ توپین ۲۰ بودند بعد از گذشت ۴۸ ساعت دچار رسوب شدید شدند. این نمونه ها بعد از گذشت ۱ هفته بطور کامل به ۲ لایه مجزا، جدا شده و لایه بالایی شفاف و لایه پایین کدر بود. علت کدر بودن لایه پایین، انباشته شدن تجمعات پروتئین و پلی ساکارید و ته نشینی آنها بود. علت این پدیده، ناپایداری سدیم کازئینات در برابر غلظت بالای توپین ۲۰ می باشد.

با توجه به نتایج بدست آمده، اگرچه بعضی از کمپلکس ها (سدیم کازئینات ۰/۳، صمغ عربی ۰/۷۵ و توپین ۲۰ ۰/۱) نور را با شدت بالا پراکنده کردند، یعنی کدورت اولیه بالایی داشتند، بعد از مدت زمان ۱ ماه نگهداری، کدورت این محلول ها تغییر قابل محسوسی نکرد. بنابراین این نمونه ها نیز می توانند به عنوان سیستم حامل مواد مغذی برای کاربرد در نکتار یا حتی آبمیوه های شفاف وقتی که در غلظت های پایین تر مورد استفاده قرار می گیرند، مناسب باشند.



کاربرد این نانوکمپلکس‌های تولیدی را جهت کیسوله کردن مواد فعال هیدروفوبی مورد بررسی قرار خواهیم داد.

۵- منابع

- [1] Patel A.R, Velikov K.P. (2011). Colloidal delivery systems in foods: A general comparison with oral drug delivery. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 1958-1964.
- [2] Weiss J, Takhistov P, McClements D.J. (2006). Functional materials in food nanotechnology. *Journal of Food Science*, 71(9), R107-R116.
- [3] Wei Z, Gao Y. (2016). Physicochemical properties of b-carotene bilayer emulsions coated by milk proteins and chitosaneEGCG conjugates. *Food Hydrocolloids*, 52, 590-599.
- [4] Liu L, Zhao Q, Liu T, Kong J, Long Z, Zhao M. (2012). Sodium caseinate/carboxymethylcellulose interactions at oil-water interface: Relationship to emulsion stability. *Food Chem*, 132 (4):1822-1829.
- [5] Coelho S, Moreno-Flores S, Toca-Herrera J.L. (2011). Nanostructure of polysaccharide complexes. *J Colloid Interface Sci*, 363 (2):450-455.
- [6] Choi K-O, Aditya N.P, Ko S. (2014). Effect of aqueous pH and electrolyte concentration on structure, stability and flow behavior of non-ionic surfactant based solid lipid nanoparticles. *Food Chem*, 147 (0):239-244.
- [7] Picone C. S. F, Cunha R. L. (2013). Formation of nano and microstructures by polysorbate-chitosan association. *Colloids Surf, A*, 418 (0):29-38.
- [8] Myers R.H. (2002). *D.C. Process and Product Optimization Using Designed Experiments*. Montgomery, Wiley, New York.
- [9] Ye A, Flanagan J, Singh H. (2006). Formation of stable nanoparticles via electrostatic complexation between sodium caseinate and gum Arabic. *Biopolymers*, 82:121-133.
- [10] Anarjan N, Tan C.P. (2013) Developing a three component stabilizer system for producing astaxanthin nanodispersions. *Food Hydrocoll*, 30 (1):437-447.

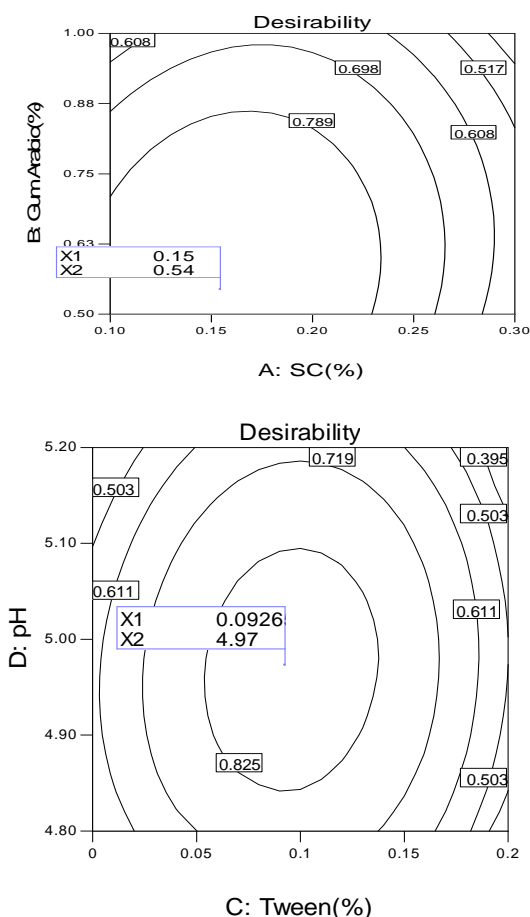


Fig 7 Desirability function plots indicating the region of optimal preparation variables.

۴- نتیجه گیری

همبستگی بالا بین متغیرهای مستقل و وابسته نشان داد که مدل چند جمله‌ای درجه دو برای بهینه سازی نانوکمپلکس‌ها با استفاده از سدیم کازئینات، صمغ عربی و توئین ۲۰ به عنوان پایدارکننده می‌تواند به کار برده شود. نتایج آنالیز واریانس و نمودارهای کاتوریلات نشان داد که هر ۴ فاکتور مورد بررسی (غلظت سدیم کازئینات، صمغ عربی و توئین ۲۰ و pH) تاثیر معنی‌دار بر پاسخ‌های مورد بررسی داشتند. نتایج نشان داد که مدت ماندگاری محلول‌های کلونیدی حاوی نانوذرات به طور قابل توجهی در حضور سورفاکتانت غیر یونی توئین ۲۰ افزایش یافت. شرایط بهینه فرآیند با استفاده از آنالیز سطح پاسخ تحت (غلظت سدیم کازئینات ۰/۱۵٪، غلظت صمغ عربی ۰/۵۴٪، غلظت توئین ۲۰ ۰/۰۹٪ و pH ۴/۹۷) تعیین شد. در این سطوح تعیین شده غلظت اجزا و pH، سیستم شفاف و بسیار پایدار بود و مناسب جهت افزودن به محصولات غذایی و نوشیدنی‌های اسیدی شفاف (و یا غیر شفاف) می‌باشد. در مطالعات بعدی

- delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1865–1880.
- [20] de Kruif C.G, Weinbreck F, de Vries R. (2004). Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 9(5), 340–349.
- [21] Tolstoguzov V. (2002). Thermodynamic aspects of biopolymer functionality in biological systems, foods, and beverages. *Critical Reviews in Biotechnology*, 22(2), 89.
- [22] Nayak A.K, Das B, Maji R. (2012). Calcium alginate/gum Arabic beads containing glibenclamide: Development and in vitro characterization. *Int J Biol Macromol*, 51 (5):1070-1078.
- [23] Liu W, Sun D, Li C, Liu Q, Xu J. (2006). Formation and stability of paraffin oil-in-water nano-emulsions prepared by the emulsion inversion point method. *J. Colloid Interface Sci.* 303 557–563.
- [24] Li Y, McClements DJ. (2013). Influence of non-ionic surfactant on electrostatic complexation of protein-coated oil droplets and ionic biopolymers (alginate and chitosan). *Food Hydrocolloids*, 33(2), 368-375.
- [25] Ribeiro H.S, Chu B.S, Ichikawab S, Nakajima M. (2008). Preparation of nanodispersions containing b-carotene by solvent displacement method. *Food Hydrocolloids*, 22, 12–17.
- [26] Verma S, Kumar S, Gokhale R, Burgess D.J. (2011). Physical stability of nanosuspensions: Investigation of the role of stabilizers on Ostwald ripening. *International Journal of Pharmaceutics*, 406, 145–152.
- [11] Ye A. (2008). Complexation between milk proteins and polysaccharides via electrostatic interaction: principles and applications – a review. *Int J Food Sci Technol*, 43 (3):406-415.
- [12] Ron N, Zimet P, Bargarum J, Livney Y. D. (2010) Beta-lactoglobulin–polysaccharide complexes as nanovehicles for hydrophobic nutraceuticals in non-fat foods and clear beverages. *Int Dairy J*, 20 (10):686-693.
- [13] Weinbreck F, de Vries R, Schrooyen P, de Kruif C.G. (2003). Complex Coacervation of Whey Proteins and Gum Arabic. *Biomacromolecules*, 4 (2):293-303.
- [14] Dickinson E. (1998). Stability and rheological implications of electrostatic milk protein–polysaccharide interactions. *Trends Food Sci Technol*, 9 (10):347-354.
- [15] Dickinson E, Ritzoulis C, Povey M. J. (1999). Stability of Emulsions Containing Both Sodium Caseinate and Tween 20. *J Colloid Interface Sci*; 212(2), 466-473.
- [16] Mirhosseini H, Tan C.P, Hamid N.S.A, Yusof S. (2008). Optimization of the contents of Arabic gum, xanthan gum and orange oil affecting turbidity, average particle size, polydispersity index and density in orange beverage emulsion. *Food Hydrocoll*, 22 (7):1212-1223.
- [17] Schmitt C, Sanchez C, Thomas F, Hardy J. (1999). Complex coacervation between β -lactoglobulin and acacia gum in aqueous medium. *Food Hydrocoll* 13 (6):483-496.
- [18] Ghorbani S, Ghorbani E, Mohammadifar M.A. (2014). Characterisation of gum tragacanth (*Astragalus gossypinus*)/sodium caseinate complex coacervation as a function of pH in an aqueous medium. *Food Hydrocoll*, 34 (0):161-168.
- [19] Matalanis A, Jones O. G, McClements D.J. (2011). Structured biopolymer-based

Modeling and optimization of qualitative characteristics and stability of colloidal nanocomplexes for application in clear acidic drinks

Sheikhzadeh, Sh. ¹, Alizadeh, M. ^{2*}, Rezazad, M. ³

1. M.Sc in Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.
2. Associate Prof., Dept. of Food Science and Technology, College of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.
3. Associate Prof., Dept. of Food Science and Technology, College of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

(Received: 2015/11/22 Accepted: 2016/05/28)

Nowadays, natural biopolymers such as proteins and polysaccharides in the preparation of biodegradable nanoparticles in food and pharmaceutical industries are of particular interest. The aim of this study was modeling and optimization of three component nanocomplex (protein, polysaccharide and small molecule emulsifier) production and study their stability using the Box-Behnken design. For each response, second order polynomial models were developed using multiple linear regression analysis. Analysis of variance confirmed that the models were highly significant ($p < 0.001$) for all response variables and also showed that all of the predictive models had high R-Squared and Adjust R-Squared, thus ensuring a satisfactory fitness of the regression models to the experimental data. Using desirability function, optimal processing conditions was achieved in the sodium caseinate concentration (0/15%), Arabic gum concentration (0/54%), Tween 20 concentration (0/09%) and pH (4/79). At this optimum zone, particle size (68/71), particle size distribution (0/9), and turbidity (0/24), particle size growth (0/034), particle size distribution growth (0/003) and turbidity growth (0/016). The multiobjective desirability was equal to 0.87 that, indicates the fulfillment of optimization goals. These nanodispersions may be useful as nutrients delivery systems for utilisation in functional food and drink products with low pH.

Keywords: Nanoparticle, Biopolymer, Turbidity, Stability, Response Surface Methodology.

* Corresponding Author E-Mail Address: m.alizadeh@urmia.ac.ir